

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

مهندسی ژنتیک در توکسوپلازماگونه‌ی:

از کلاسیک تا کریسپر

نویسندگان:


دکتر گیتا سعادت نیا

عضو هیات علمی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران

مرجان انشاییه

دانشجوی دکتری میکروبیولوژی

سرشناسه	: سعادت‌نیا، گیتا، ۱۳۵۸ (Saadatnia, Geita)
عنوان و نام پدیدآور	: مهندسی ژنتیک در توکسوپلازما گوندی: از کلاسیک تا کریسپر / نویسندگان گیتا سعادت‌نیا، مرجان انشاییه.
مشخصات نشر	: تهران، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، ۱۳۹۸
مشخصات ظاهری	: ۲۰۰ ص.: مصور، جدول، نمودار.
شابک	: 978-622-99578-7-5
وضعیت فهرست نویسی	: فیبا
موضوع	: توکسوپلازما گوندی
موضوع	: <i>Toxoplasma gondii</i>
موضوع	: ژنتیک - مهندسی
موضوع	: Genetic engineering
موضوع	: کریسپر. (ژنتیک)
موضوع	: CRISPR (Genetics)
شناسه افزوده	: انشاییه، مرجان، ۱۳۶۵
شناسه افزوده	: سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران
رده بندی کنگره	: QL۳۶۸
رده بندی دیویی	: ۵۷۹/۴
شماره کتاب‌شناسی ملی	: ۵۸۳۳۷۹۷


 سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران

مهندسی ژنتیک در توکسوپلازما گوندی: از کلاسیک تا کریسپر

مولف: دکتر گیتا سعادت‌نیا و مرجان انشاییه

ناشر: سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران

نوبت چاپ: اول

تاریخ چاپ: ۱۳۹۸

شمارگان: ۱۰۰۰ جلد

چاپ و صحافی: پرچین

طراح روی جلد: سمیه عربلو

ویراستار: لیلا اجاقلو

قیمت: ۶۵۰۰۰۰ ریال

نشانی: تهران، احمدآباد مستوفی، بعد از میدان پارسا، خیابان انقلاب، خیابان شهید احسانی‌راد، صندوق پستی:

۳۷۵۷۵ - ۱۱۵

تمام حقوق مادی این اثر اعم از چاپ، تکثیر، نسخه‌برداری، ترجمه و مانند این‌ها برای سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران محفوظ است.

مقدمه

الهی چه عزتی فراتر از این که بنده تو باشم؟ و چه فخری بالاتر از این که تو خدای من باشی؟ ادای شکر تو را هیچ زبان نیست و حقیقت وجودت بر هیچ کس عیان نیست، معبود بی‌همتایی، از من بنده‌ای بساز که خودت دوست داری.

خواجه عبدالله انصاری

کتاب حاضر مجموعه‌ای نسبتاً جامع در خصوص مهندسی ژنتیک در توکسوپلازماگونه‌ی، از روش کلاسیک تا روش پیشرفته کریسپر است؛ در فصل انتهایی نیز گزیده‌ای از روش‌های آزمایشگاهی مربوط به کار کردن با این انگل مطرح شده است. امید است این نوشتار برای مخاطبان مفید بوده و گامی در جهت ارتقای سطح علمی آنها باشد.

در فصل اول این کتاب، به بررسی انواع روش‌های دستکاری ژنتیکی توکسوپلازماگونه‌ی از گذشته تاکنون پرداخته می‌شود. در این فصل روش‌های متفاوت عنوان شده و توضیحی اجمالی پیرامون هر یک داده می‌شود. در فصل دوم در خصوص کاربرد ژنتیک کلاسیک در توکسوپلازماگونه‌ی و همچنین مطالبی پیرامون بیولوژی این انگل، مراحل زندگی آن و آمیزش بین سویه‌های مختلف مطرح می‌شود. در فصل سوم، پیرامون ایجاد انگل‌های ترانس ژنیک، ترانسفورماسیون‌های پایدار، نو ترکیبی همولوگ و مطالب مرتبط با این مضامین بحث شده است. در فصل چهارم به دلیل اهمیت و همچنین جدید بودن سیستم کریسپر، به معرفی کامل آن و انواع کاربردها و همچنین چگونگی عملکرد آن پرداخته می‌شود. نهایتاً در فصل پنجم، در خصوص پاره‌ای از روش‌های آزمایشگاهی مورد نیاز به‌هنگام کار، به صورت مدون بحث شده است.

از آن جایی که هیچ نگاهشده‌ای خالی از ایراد و کاستی نیست، لذا از اساتید محترم و دانشجویان گرامی تقاضا داریم با بزرگواری ما را از نظرات و انتقادات سازنده خود، در جهت بهبود سطح کیفی کتاب محروم نسازند. در پایان، از همکاری تک تک دوستان و سروران گرامی صمیمانه تشکر و قدردانی می‌کنیم.

من الله توفیق

نویسندگان

gitasaadat@gmail.com, marjanenshaeieh@gmail.com

فهرست مطالب

فصل اول

۱۳ روند دستکاری ژنتیکی توکسوپلازما گوندی.....

۱-۱ مقدمه ۱۴

۲-۱ نیاز به روش‌های درمانی بهتر در برخورد با توکسوپلازما سموز ۱۵

۳-۱ مارکرهای انتخابی برای توکسوپلازما گوندی..... ۱۶

۴-۱ ابزارهای ژنتیکی پیشرو در توکسوپلازما گوندی..... ۱۷

۵-۱ موتاسیون شیمیایی..... ۱۹

۶-۱ مهندسی ژنتیک معکوس در توکسوپلازما گوندی..... ۲۰

۷-۱ روش‌های آنالیز ژن‌های ضروری..... ۲۲

۱-۷-۱ نوترکیبی اختصاصی جایگاه..... ۲۲

۲-۷-۱ سیستم القایی تراسیکلین..... ۲۳

۳-۷-۱ سیستم خاموش‌سازی ژن، با استفاده از U1 snRNP..... ۲۶

۴-۷-۱ تنظیم پایداری پروتئین..... ۲۶

۵-۷-۱ ژنتیک شیمیایی..... ۲۷

۸-۱ ویرایش ژنوم با استفاده از کریسپر در توکسوپلازما گوندی..... ۲۸

۹-۱ سیستم کریسپر: ابزاری قدرتمند در شناسایی بیولوژی انگل‌ها..... ۳۰

فصل دوم

کاربرد ژنتیک کلاسیک در توکسوپلازما گوندی..... ۳۹

۱-۲ مقدمه ۴۰

- ۲-۲ بیولوژی توکسوپلازما..... ۴۱
- ۱-۲-۲ چرخه سلولی..... ۴۱
- ۲-۲-۲ فاز جنسی..... ۴۱
- ۳-۲-۲ ساختار جمعیتی و تیپ‌های اصلی سویه‌ها..... ۴۴
- ۳-۲ پایه‌گذاری ژنتیک انتقالی..... ۴۵
- ۱-۳-۲ تقاطع‌ها و میوزهای درون‌گونه‌ای..... ۴۵
- ۴-۲ توسعه نقشه‌برداری ژنتیکی..... ۴۸
- ۱-۴-۲ پیشرفت در ابزارهای ژنتیک مولکولی..... ۴۸
- ۲-۴-۲ توسعه نقشه‌های مرتبط جهت آنالیزهای ژنتیکی..... ۴۹
- ۳-۴-۲ محدودیت‌های نقشه‌های ژنتیکی موجود..... ۵۲
- ۵-۲ نقشه‌برداری خصوصیات فنوتیپی با استفاده از ژنتیک کلاسیک..... ۵۴
- ۱-۵-۲ نقشه‌برداری مقاومت دارویی..... ۵۴
- ۲-۵-۲ نقشه‌برداری خصوصیات کمی..... ۵۶
- ۳-۵-۲ یافته‌های ژنتیکی برای تعیین ژن‌های بیماری‌زا..... ۵۷
- ۱-۳-۵-۲ نقشه‌برداری تفاوت‌ها در آمیزش $I \times III$ ۵۸
- ۲-۳-۵-۲ نقشه‌برداری تفاوت‌ها در آمیزش $II \times III$ ۶۴
- ۳-۳-۵-۲ نقشه‌برداری تفاوت‌ها در آمیزش $I \times II$ ۶۸
- ۴-۵-۲ خلاصه تفاوت‌های موجود بین انشعابات مختلف..... ۷۱
- ۵-۵-۲ ارتباط مدل موشی با سایر سویه‌ها..... ۷۲

۷۳	۶-۲ چالش‌ها و مسائل آینده.....
۷۳	۱-۶-۲ رفع محدودیت‌های موجود.....
۷۴	۲-۶-۲ گسترش آنالیز فنوتیپی.....
	فصل سوم
۸۱	ایجاد انگل‌های ترانس ژنیک.....
۸۲	۱-۳ مقدمه.....
۸۳	۲-۳ چگونگی ایجاد انگل‌های ترانس ژنیک.....
۸۳	۱-۲-۳ ترانس فکشن گذرا.....
۸۷	۲-۲-۳ ترانسفورماسیون پایدار و مارکرهای انتخابی مثبت و منفی.....
۸۹	۳-۲-۳ نو ترکیبی همولوگ و الحاق تصادفی.....
۹۲	۳-۳ استفاده از انگل‌های ترانس ژنیک در مطالعه عملکرد ژن‌های انگل.....
۹۲	۱-۳-۳ نشانه‌گذاری اجزای زیر سلولی.....
۹۴	۲-۳-۳ آنالیز ژنتیکی ژن‌های ضروری.....
۹۶	۱-۲-۳-۳ نو ترکیبی اختصاصی جایگاه (SSR).....
۹۷	۲-۲-۳-۳ سیستم القایی تتراسیکلین.....
۱۰۰	۳-۳-۳ موتاژنز الحاقی و به دام‌اندازی پروموتور به‌عنوان ابزاری در آنالیز ژنتیک عملکردی.....
۱۰۲	۴-۳-۳ آنالیز ژنتیکی با استفاده از موتاژنز شیمیایی و کلون‌سازی تکمیلی.....
۱۰۳	۴-۳ چشم‌اندازها و نتایجی پیرامون دستکاری ژنتیکی توکسویلا سماگوندی.....
	فصل چهارم
۱۰۸	ویرایش ژنوم با سیستم کریسپر و جنبه‌های مختلف کاربرد آن.....

- ۱-۴ مقدمه..... ۱۰۹
- ۲-۴ نقش سیستم کریسپر در ایجاد ایمنی..... ۱۱۱
- ۳-۴ منشاء کریسپر: از سیستم ایمنی باکتریایی تا ویرایشگر ژنوم..... ۱۱۴
- ۴-۴ مکانیسم عملکرد کریسپر..... ۱۱۸
- ۵-۴ کاربرد کریسپر در ویرایش ژنوم..... ۱۲۳
- ۶-۴ زمینه‌های مختلف کاربرد کریسپر..... ۱۲۴
- ۱-۶-۴ استفاده از کریسپر در روش CARTER..... ۱۲۴
- ۲-۶-۴ استفاده از کریسپر در روش SLENDR..... ۱۲۵
- ۳-۶-۴ سیستم‌های کریسپری هدف گیرنده RNA..... ۱۲۶
- ۴-۶-۴ استفاده از کریسپر در طراحی مدارهای ژنی در سلول‌های زنده..... ۱۲۷
- ۵-۶-۴ استفاده از کریسپر در درمان بیماری‌های انسانی..... ۱۲۸
- ۶-۶-۴ اصلاح محصولات کشاورزی با کمک کریسپر و ایجاد پلی‌پلوئیدی در گیاهان با استفاده از کریسپر..... ۱۳۰
- ۷-۶-۴ اصلاح محصولات دامی با کمک کریسپر..... ۱۳۲
- ۸-۶-۴ استفاده از کریسپر برای طراحی SHERLOCK..... ۱۳۳
- ۷-۴ انواع مختلف Cas9..... ۱۳۴
- ۸-۴ کنترل سیستم کریسپر..... ۱۳۶
- ۱-۸-۴ استفاده از ضدکریسپرها به‌عنوان کلید روشن و خاموش کردن کریسپر..... ۱۳۶
- ۲-۸-۴ استفاده از نور UV برای کنترل سیستم ویرایش ژنومی کریسپر..... ۱۳۷
- ۳-۸-۴ استفاده از gRNA تغییر یافته..... ۱۳۷

- ۹-۴ مسائل و سوالات پیرامون کاربرد عملی کریسپر..... ۱۳۸
- ۱۰-۴ استفاده از سیستم کریسپر در مهندسی ژنتیک توکسوپلازماگوندی..... ۱۴۰
- ۱۰-۴-۱ تخریب مؤثر ژن در سویه‌های مختلف توکسوپلازماگوندی با استفاده از کریسپر..... ۱۴۰
- ۱۰-۴-۲ حذف ژنی بدون انجام انتخاب در توکسوپلازماگوندی با استفاده از کریسپر..... ۱۴۳
- ۱۰-۴-۳ اثبات اهمیت پروتئین‌های ROP5 و ROP18 در بیماری‌زایی سویه‌های توکسوپلازماگوندی با استفاده از کریسپر..... ۱۴۴

فصل پنجم

- گزیده‌های از پروتکل کشت انگل، دستکاری ژنتیکی و تشخیص فنوتیپی..... ۱۴۹
- ۱-۵ تکثیر تاکای زوئیت‌های توکسوپلازماگوندی در کشت بافت..... ۱۵۰
- ۲-۵ نگهداری از سلول‌های HFF..... ۱۵۱
- ۳-۵ نگهداری تاکای زوئیت‌ها..... ۱۵۲
- ۴-۵ نگهداری فریزری سلول میزبان و انگل..... ۱۵۳
- ۵-۵ تشخیص و برداشت مایکوپلازما..... ۱۵۵
- ۶-۵ پاساژ دادن کیست تاکای زوئیت / برادی زوئیت توکسوپلازما در حیوانات..... ۱۵۷
- ۷-۵ پروتوکل ترانسفکشن و ترانسفورمیشن پایدار..... ۱۵۸
- ۷-۵-۱ ترانسفکشن گذرا..... ۱۵۸
- ۷-۵-۲ انتخاب ترانسفورمانت‌های پایدار..... ۱۶۰
- ۸-۵ الحاق با واسطه آنزیم‌های محدودالتر (REMI)..... ۱۶۱
- ۸-۵-۱ کلون‌سازی لاین‌های ترانس ژنیک به واسطه محدودیت رقت در پلیت ۹۶ خانه‌ای..... ۱۶۲
- ۹-۵ اندازه‌گیری بقا و رشد انگل..... ۱۶۳

- ۱۶۳..... ۱-۹-۵ ارزیابی پلاک
- ۱۶۴..... ۲-۹-۵ ارزیابی فلورسنس
- ۱۶۵..... ۳-۹-۵ ارزیابی بتاگالاکتوزیداز (LacZ)
- ۱۶۶..... ۴-۹-۵ ارزیابی الحاقی یوراسیل
- ۱۶۷..... ۱۰-۵ سلول‌های زنده و میکروسکوپی ایمونوفلورسنس غیرمستقیم
- ۱۶۹..... ۱۱-۵ سایتومتري انگل‌ها و سلول‌های عفونی
- ۱۷۰..... ۱۲-۵ تخریب ژن‌های غیرضروری
- ۱۷۳..... ۱۳-۵ تخریب ژن‌های ضروری
- ۱۷۳..... ۱-۱۳-۵ سیستم القایی تتراسیکلین
- ۱۷۴..... ۲-۱۳-۵ تنظیم پایداری پروتئین
- ۱۷۵..... ۱۴-۵ موتاژنز الحاقی و برجسب نجات
- ۱۷۶..... ۱۵-۵ موتاسیون شیمیایی
- ۱۷۷..... ۱۶-۵ تکمیل کلون‌سازی با استفاده از کتابخانه ژنومی توکسوپلازما
- ۱۷۹..... ۱۷-۵ بازسازی کاسمیدها از کتابخانه ژنومی توکسوپلازما
- ۱۸۱..... ۱۸-۵ توصیه‌های ایمنی، هنگام کار با توکسوپلازماگوندی
- ۱۸۶..... واژه‌نامه
- ۱۹۶..... اختصارات