

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

فصل هفتم زیست شناسی دوازدهم

فناوری های نوین زیستی

گفتار دوم : مهندسی بافت و مهندسی پروتئین

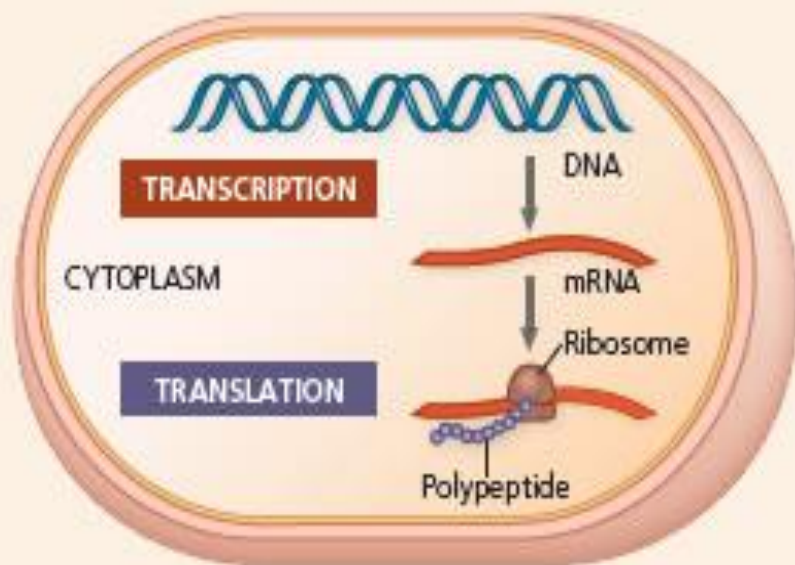
فناوری مهندسی بافت و پروتئین

روش‌های جدید امکان ایجاد تغییرات دلخواه در توالی آمینواسیدهای یک پروتئین را فراهم کرده است .

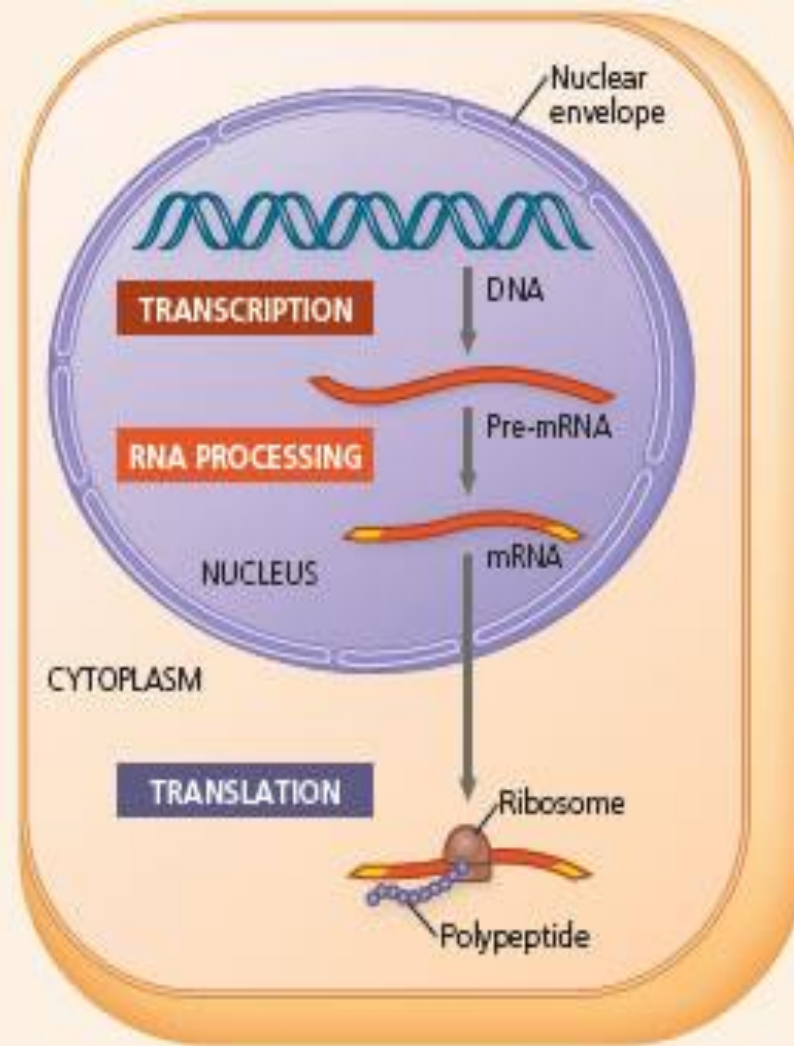
✓ می‌توان از آنها به منظور تغییر در ویژگی‌های یک پروتئین و بهبود عملکرد آن بهره‌مند شد. انجام چنین تغییراتی که به آن مهندسی پروتئین گفته می‌شود.

✓ این فرآیند نیازمند شناخت کامل ساختار و عملکرد آن پروتئین است.

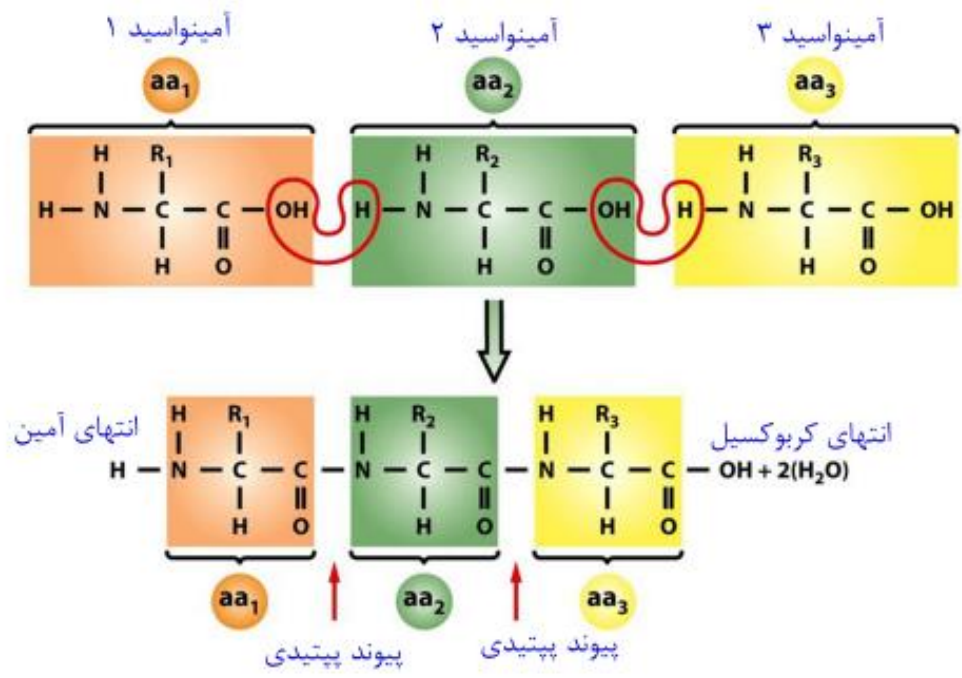
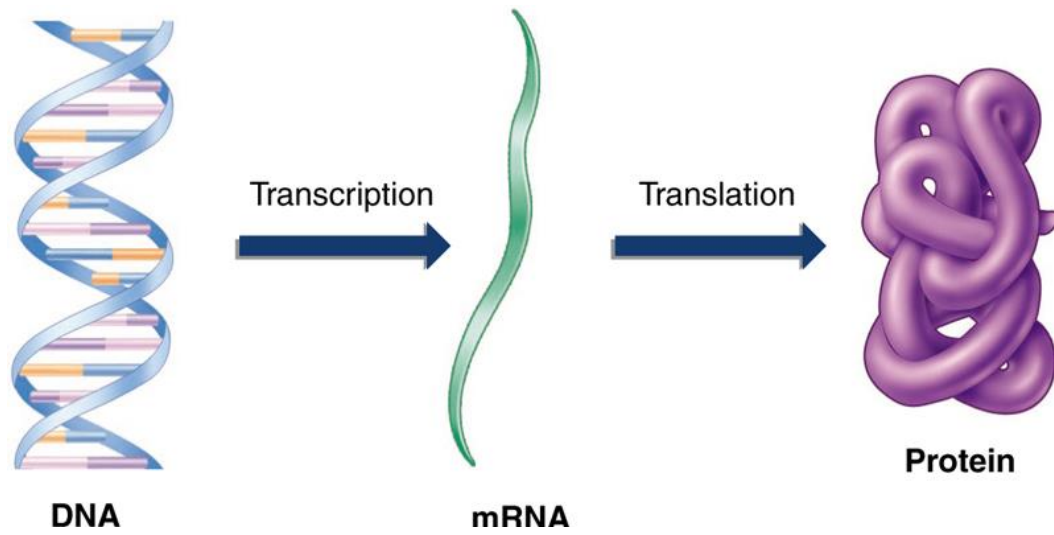
✓ این تغییرات می‌تواند جزئی یا کلی باشد

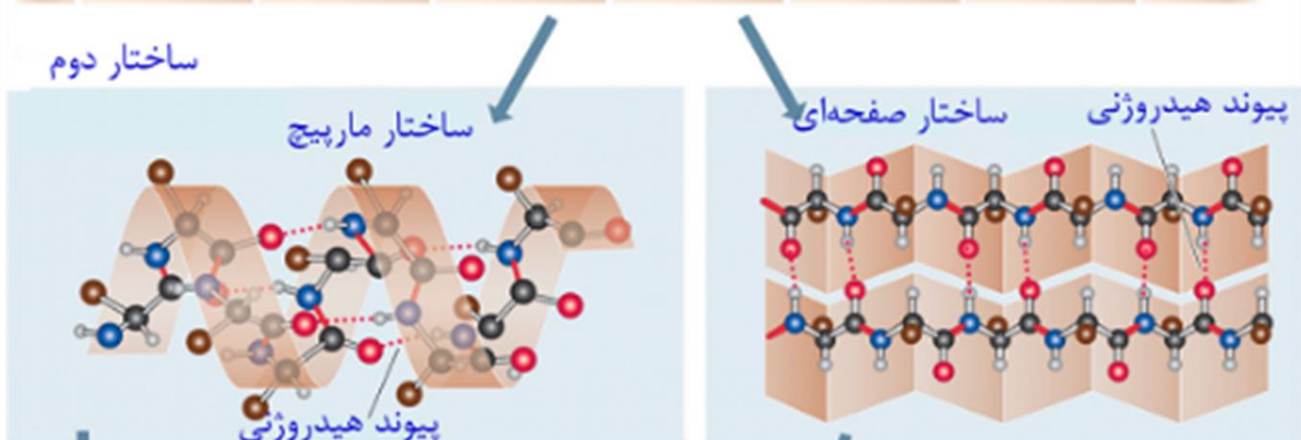
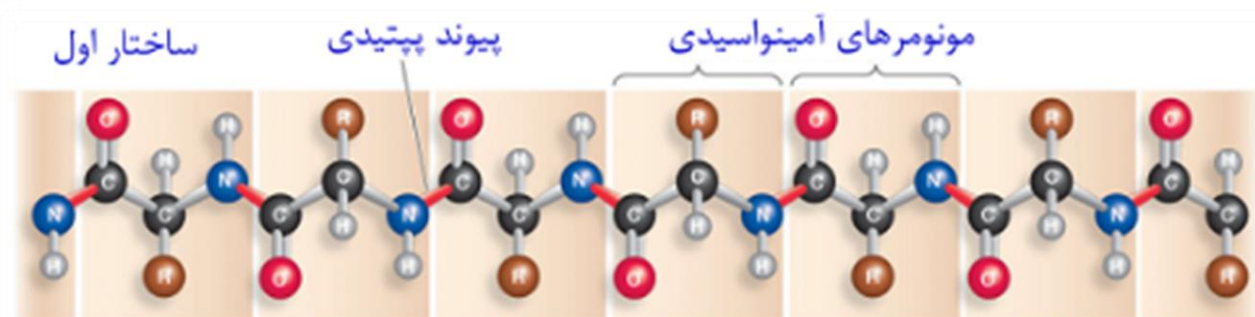


Bacterial cell



Eukaryotic cell





تغییر جزئی

شامل تغییر در رمز یک یا چند آمینواسید در مقایسه با پروتئین طبیعی است.

* عملکرد کلی پروتئین تغییر نمی کند.

* بعد از بیان ژن صورت می گیرد. (تغییرات پس از ترجمه)

تغییرات عمده

گسترده تر است، بعد از بیان ژن صورت می گیرد و ممکن است شامل موارد زیر باشد.

- ۱- برداشتن قسمتی از ژن یک پروتئین (طول mRNA و پلی پپتید تغییر می کند)
- ۲- ترکیب بخش‌هایی ژن‌های مربوط طول به پروتئین‌های متفاوت

.

تغییر در ساختار اول پروتئین ها تغییر در ساختار سوم (فضایی) پروتئین ها تغییر در عملکرد پروتئین ها	شبهات های تغییر جزئی و کلی
پروتئین های تغییر یافته ای با اهداف مختلف، مثلاً درمانی و تحقیقاتی	اهداف کلی مهندسی پروتئین
افزایش پایداری پروتئین در مقابل گرما افزایش پایداری پروتئین در مقابل تغییر PH افزایش حداکثری سرعت واکنش افزایش تمایل آنزیم برای اتصال به پیش ماده	تغییرات و اصلاحات مفید در فرایند مهندسی پروتئین ها

اهمیت افزایش پایداری آنها را در مقابل گرما

1 در دمای بالاتر سرعت واکنش بیشتر

2 خطر آلودگی میکروبی در محیط واکنش کمتر

3 نیازی به خنک کردن محیط واکنش به خصوص در مورد واکنش‌های گرمازا نیست.

افزایش پایداری پروتئین ها

۱- آمیلازها

۲- اینتر فرون

۳- پلاسمین

افزایش پایداری پروتئین ها (آمیلازها)

- * این آنزیم ها که از آنزیم های پر کاربرد در صنعت هستند
- * مولکول های نشاسته را به قطعات کوچک تری تجزیه می کنند.
- * آمیلازها در بخش های مختلف صنعتی مانند صنایع غذایی، نساجی و تولید شوینده ها کاربرد دارند.
- * بسیاری از مراحل تولید صنعتی در دماهای بالا انجام می شود.
- * بنابراین، استفاده از آمیلاز پایدار در برابر گرما ضرورت دارد.

امروزه به کمک روش های زیست فناوری، طراحی و تولید آمیلازهای مقاوم به گرما ممکن شده است. استفاده از این مولکول ها باعث:

۱- کاهش زمان واکنش ۲- صرفه جویی اقتصادی ۳- افزایش بهره وری صنعتی

* مشاهده شده است که در طبیعت نیز آمیلاز مقاوم به گرما وجود دارد.

مثلاً باکتری های گرمادوست در چشمه های آب گرم دارای آمیلازهایی هستند که پایداری بیشتری در مقابل گرما دارند.

Bacillus licheniformis = باسیلوس لیکنی فورمیس در چشمه های آب گرم اردبیل

* برای ایجاد پایداری دمایی در آنزیم **آلفا-آمیلاز**

* با استفاده از آنالیزهای ساختاری تصمیم اسید آمینه‌ی ایزولوسین حذف شود و به جای آن اسید آمینه‌ی والین قرار داده شد.

* این تغییرات با استفاده از الگو برداری از **باکتری باسیلوس لیکنی فورمیس** و مخمر **آسپرژیلوس اوریزا** ایجاد شده است.

افزایش پایداری پروتئین ها (اینترفرون)

اینترفرون از پروتئین های دستگاه ایمنی است.

اینترفرون نوع یک از یاخته آلوده به ویروس ترشح می شود و علاوه بر یاخته آلوده، بریاخته های سالم مجاور هم اثر می کند و آنها را در برابر ویروس مقاوم می کند.

وقتی این پروتئین با روش مهندسی ژنتیک ساخته می شود،

فعالیتی بسیار کمتر از اینترفرون طبیعی دارد.

علت این کاهش فعالیت،

تشکیل پیوندهای نادرست در هنگام ساخته شدن آن در باکتری است.

پیوندهای نادرست باعث تغییر در شکل مولکول و در نتیجه کاهش فعالیت آن می شوند.

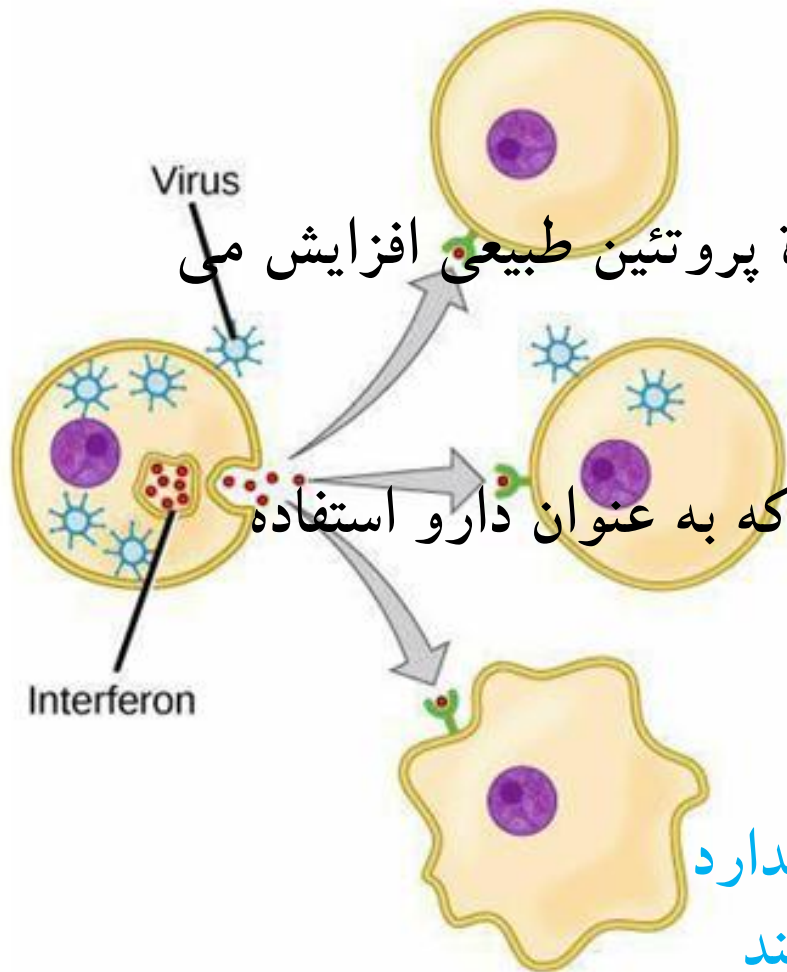
به کمک فرایند مهندسی پروتئین و تغییر جزئی در **رسم** آمینو اسید، توالی آمینواسیدهای اینترفرون را طوری تغییر می یابند که به جای یکی از آمینواسیدهای آن آمینواسید دیگری قرار می گیرد.

این تغییر،

۱- فعالیت ضد ویروسی اینترفرون ساخته شده را به اندازه پروتئین طبیعی افزایش می دهد.

۲- همچنین آن را پایدارتر می کند.

افزایش پایداری در نگهداری طولانی مدت پروتئین هایی که به عنوان دارو استفاده می شوند، اهمیت زیادی دارد.



اینترفرون نوع ۱ هیچگاه مستقیماً بر روی ویروسها اثر ندارد بلکه روی یاخته های سالم و آلوده به ویروس اثر می کند

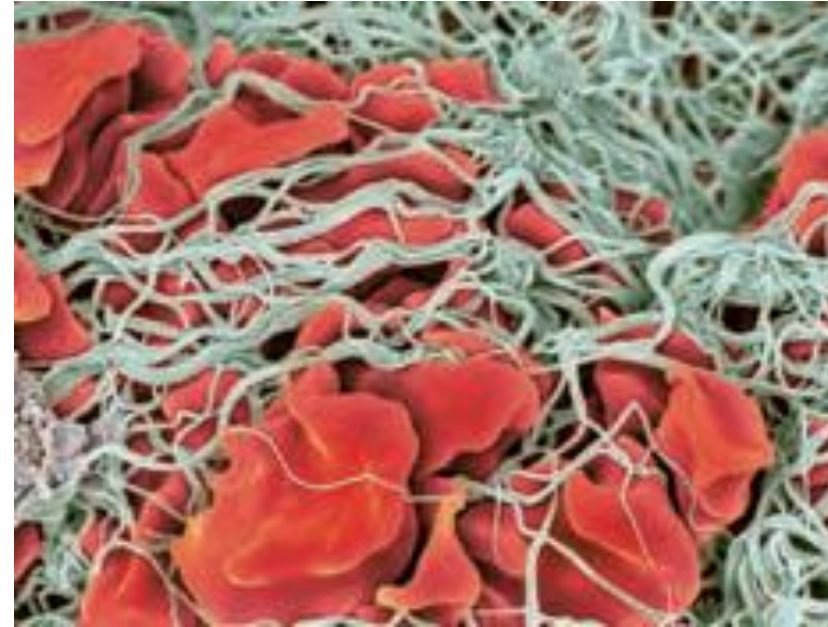
اینتر فرون نوع	۱	۲
سلول مولد	سلول آلوده به ویروس	لنفوسیت T کشنده و سلول کشنده ی طبیعی
زمان ترشح	بعد از آلوده شدن یاخته به ویروس	بعد از سرطانی شدن یاخته
سلول هدف	یاخته های آلوده و سلول های سالم اطراف	درشت خوار ها
عملکرد	افزایش مقاومت در برابر ویروس	فعال کردن درشت خوار ها برای افزایش توان فاگوسیتوز سلول های سرطانی

افزایش پایداری پروتئین ها (پلاسمین)

تشکیل لخته (مزایا - معایب)

در خون ریزی های شدید، گِردِده ها در تولید لخته خون، نقش اصلی دارند. آنها با ترشح مواد و با کمک پروتئین های خون مثل فیبرینوژن، لخته را ایجاد می کنند.

تشکیل لخته در محل زخم، جلوی خونریزی را می گیرد .
رشته های پروتئینی فیبرین که یاخته های خونی و گِردِده ها را دربر گرفته و لخته را تشکیل داده اند.



بافت‌ها و گِردِده‌های آسیب دیده



ترشح آنزیم پروترومبیناز



پروترومبین

ترومبین



فیبرینوژن

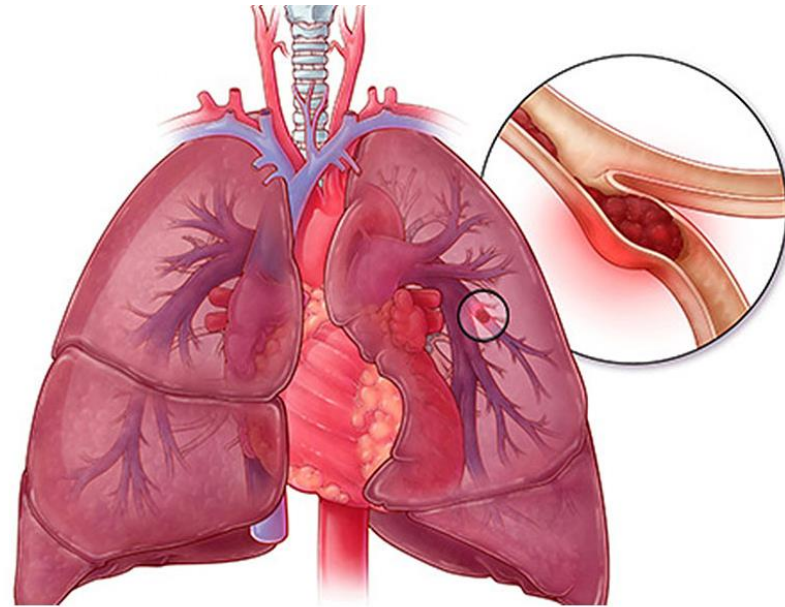


فیبرین به همراه گویچه‌های

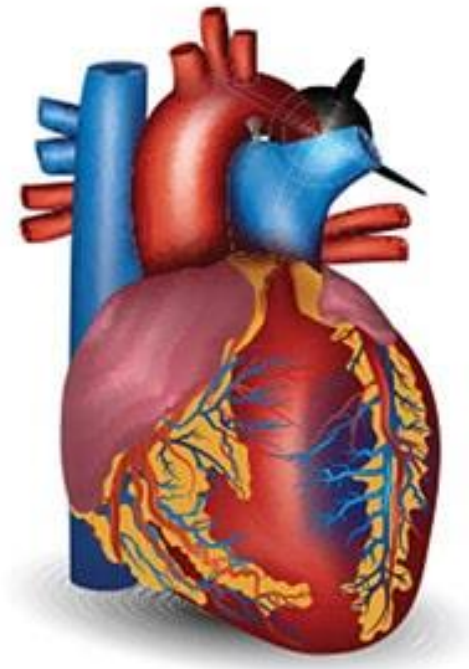
قرمز لخته را می‌سازند

تشکیل لخته، یک فرایند زیستی مهم است که از ادامه خونریزی جلوگیری می کند،

اما تشکیل لخته در سرخرگ های شش، مغز و ماهیچه قلب به ترتیب منجر به بسته شدن رگ های شش، سکته مغزی و قلبی می شود که بسیار خطرناک است و می تواند باعث مرگ شود.

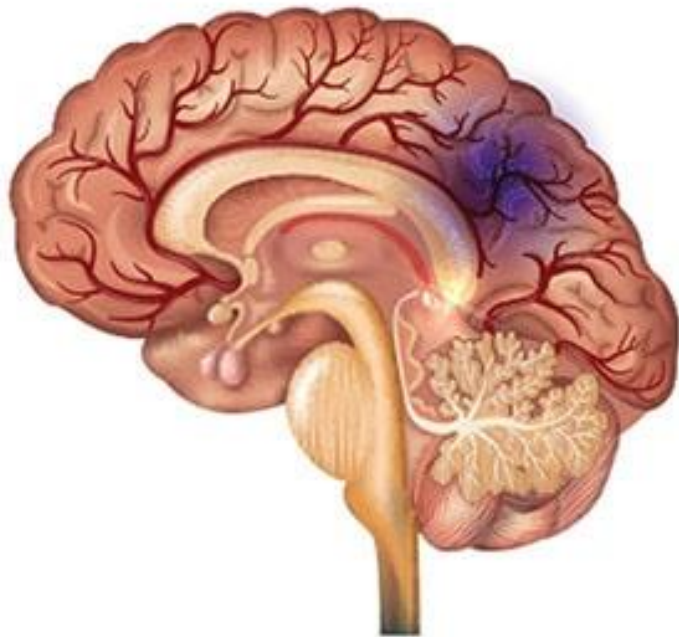


حمله قلبی



لخته‌های خونی مانع از رسیدن خون به ماهیچه‌ی قلب می‌شوند

سکته مغزی



لخته‌های خونی مانع از رسیدن خون به مغز می‌شوند

افزایش پایداری پلاسمین

* هپارین که توسط بازوفیل ها ترشح می شود مانع از تشکیل لخته می شود

لخته ها به طور طبیعی در بدن توسط آنزیم پلاسمین (در کبد ساخته می شود) تجزیه می شوند.

پلاسمین کاربرد درمانی دارد، اما مدت اثر آن در پلاسمای خیلی کوتاه است.

جانشینی یک آمینواسید پلاسمین با آمینواسید دیگری در توالی، باعث می شود که

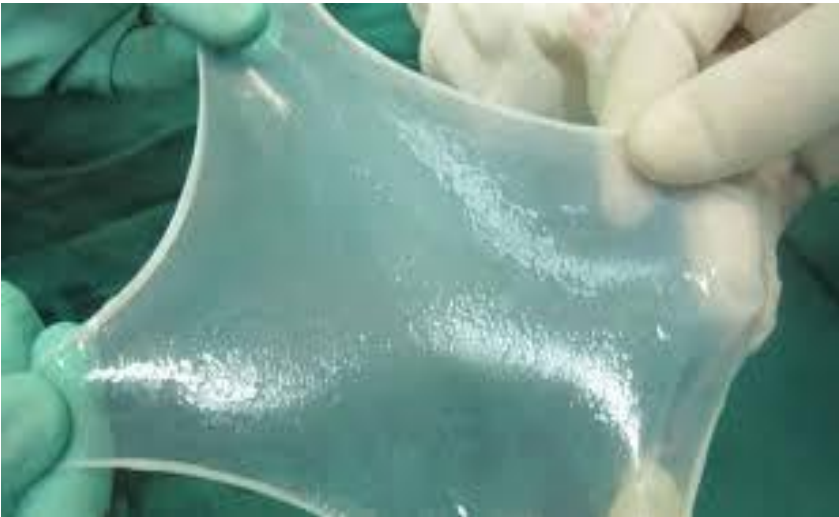
مدت زمان فعالیت پلاسمایی و اثرات درمانی آن بیشتر شود.

افزایش پایداری پروتئین‌ها	
✓مولکول‌های نشاسته را به قطعات کوچک‌تری تجزیه می‌کنند. (۲ تا ۹ قندی‌ها) ✓کاربرد مصنوعی : صنایع غذایی، نساجی و تولید شوینده‌ها ✓تولید با مهندسی ژنتیک ✓تغییر با مهندسی پروتئین (برای افزایش پایداری در برابر حرارت) ✓ کاهش زمان واکنش + ✓صرفه جویی اقتصادی + ✓افزایش بهره‌وری	آمیلاز ها
* اینترفرون از پروتئین‌های دستگاه ایمنی است * فعالیت ضد ویروسی - مقاومت در برابر ورود ویروس و تکثیر آن * کاربرد مصنوعی : داروی ضد ویروسی * تولید با روش مهندسی ژنتیک * تغییر با مهندسی پروتئین (برای افزایش عملکرد و افزایش پایداری) * جانشینی فقط یک آمینواسید * افزایش عملکرد پروتئین تا حد طبیعی!!!! + پایداری‌تر شدن پروتئین	اینترفرون
عملکرد طبیعی: تجزیه لخته ی خون کاربرد مصنوعی : جنبه درمانی دارد (حرف لخته های تشکیل شده در رگ ها) تولید پروتئین با روش مهندسی ژنتیک افزایش مدت زمان فعالیت پلاسمایی + افزایش اثرات درمانی * جانشینی فقط یک آمینواسید	پلاسمین

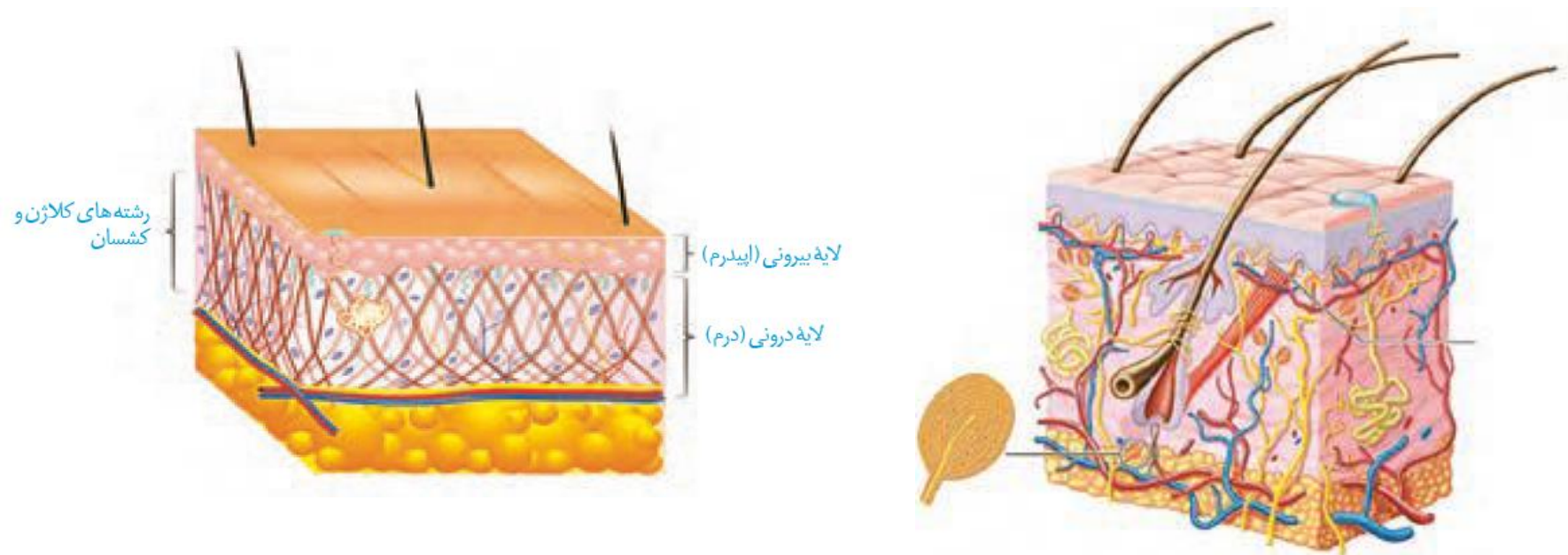
مهندسی بافت

از دست رفتن بافت به دلیل آسیب یا بیماری، زندگی را دشوار و هزینه بالای اقتصادی و اجتماعی را بر فرد بیمار و خانواده او تحمیل می کند.

فرض می کنیم که به علت سوختگی وسیع نیاز به پیوند پوست وجود داشته باشد. چنانچه اهدا کننده پوست مناسب وجود نداشته باشد و یا به علت وسعت سوختگی، برداشت پوست از بدن بیمار ممکن نباشد، **بهترین راه، کشت بافت و پیوند پوست است.**



در **پوست** یاخته هایی وجود دارد که توانایی تکثیر **زیاد و تمایز** به انواع یاخته های پوست را دارند. امروزه در مهندسی بافت از این یاخته ها، به طور موفقیت آمیزی استفاده می شود.



* در پوست انسان زیر محل زخم نوعی عامل رشد تولید می شود که با افزایش سرعت تقسیم یاخته ها، سرعت بهبود زخم را افزایش می دهد.

متخصصان مهندسی بافت، در زمینه تولید و پیوند اعضا نیز فعالیت می کنند.

Tissue engineering

برای نمونه،

جراحان بازسازی کننده چهره می توانند به کمک روش های مهندسی از بافت غضروف برای

بازسازی **لاله گوش و بینی** استفاده کنند.



شکل ۷- مهندسی بافت غضروف گوش انسان: عکس گوش طبیعی (چپ) تصویر رقمی (دیجیتالی) (وسط) و غضروف گوش ساخته شده با روش مهندسی بافت بعد از دو هفته (راست)

در این روش، یاخته های غضروفی را در محیط کشت روی داربست مناسب تکثیر و غضروف جدید را برای بازسازی اندام آسیب دیده تولید می کنند



FIGURE 5.35 Tissue Engineering. Scientists have grown external ears from human tissue on the backs of immunodeficient mice. The ear can be removed and transplanted to a human patient. In the future, such artificial organs might be used to improve the facial appearance of patients with missing parts.

یاخته های بنیادی و مهندسی بافت

یاخته های تمایز یافته ای مانند یاخته های ماهیچه ای در محیط کشت به مقدار کم تکثیر می شوند و یا اصلاً تکثیر نمی شوند.

به همین دلیل، در چنین مواردی از منابع یاخته ای که سریع تکثیر می شوند. مثل:

یاخته های بنیادی جنینی یا یاخته های بنیادی بالغ

یاخته های بنیادی : جانوران عموماً دو دسته یاخته های بنیادی دارند.

جنینی و بالغ

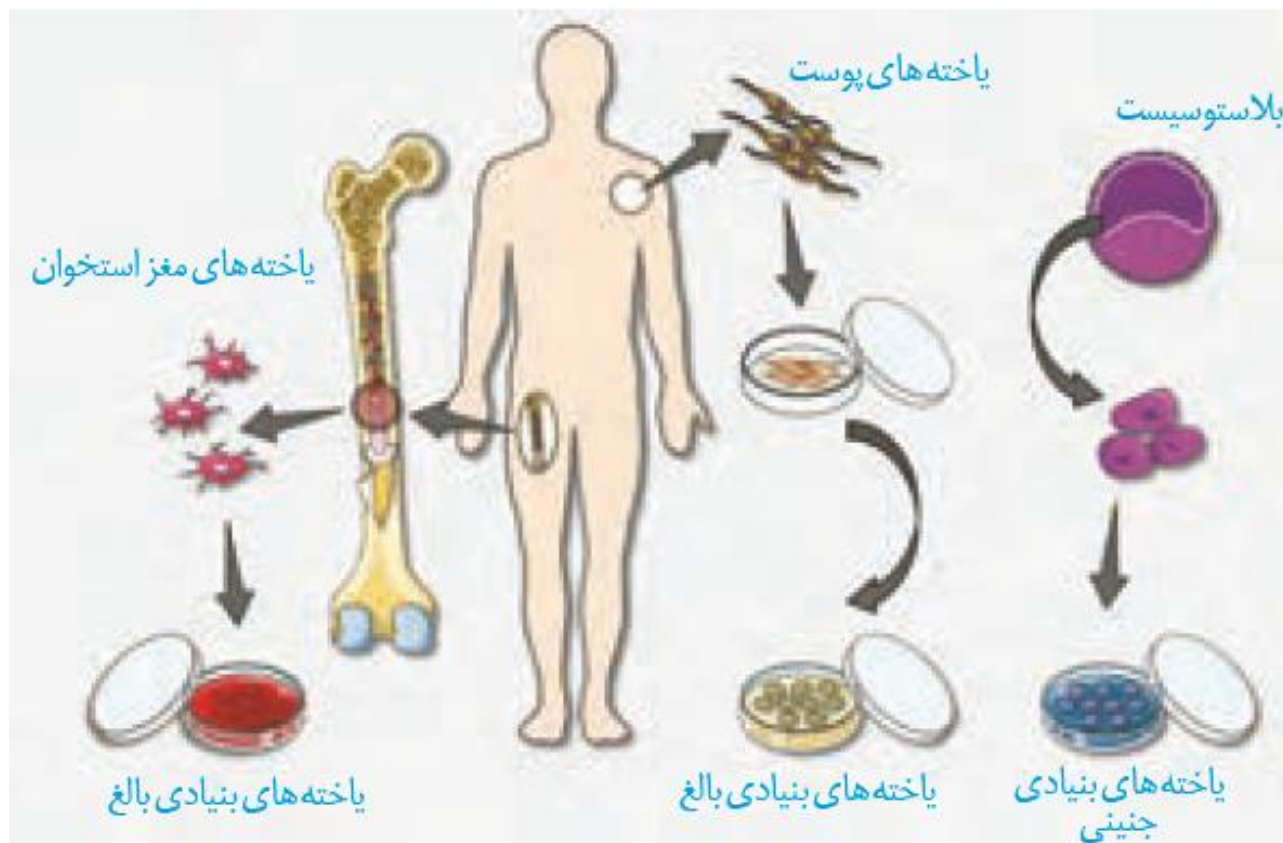
یاخته های بنیادی جنینی می توانند به تمامی یاخته های مورد نیاز بدن تبدیل شوند. (همه توان)

انواع بالغ تا حدّی تمایز یافته اند و توانایی محدودی در تولید یاخته های دیگر دارند. (چند توان)

یاخته های بنیادی مغز استخوان و پوست از این نوع اند.

خون موجود در رگهای بند ناف، منبعی سرشار از یاخته های بنیادی جنینی است.

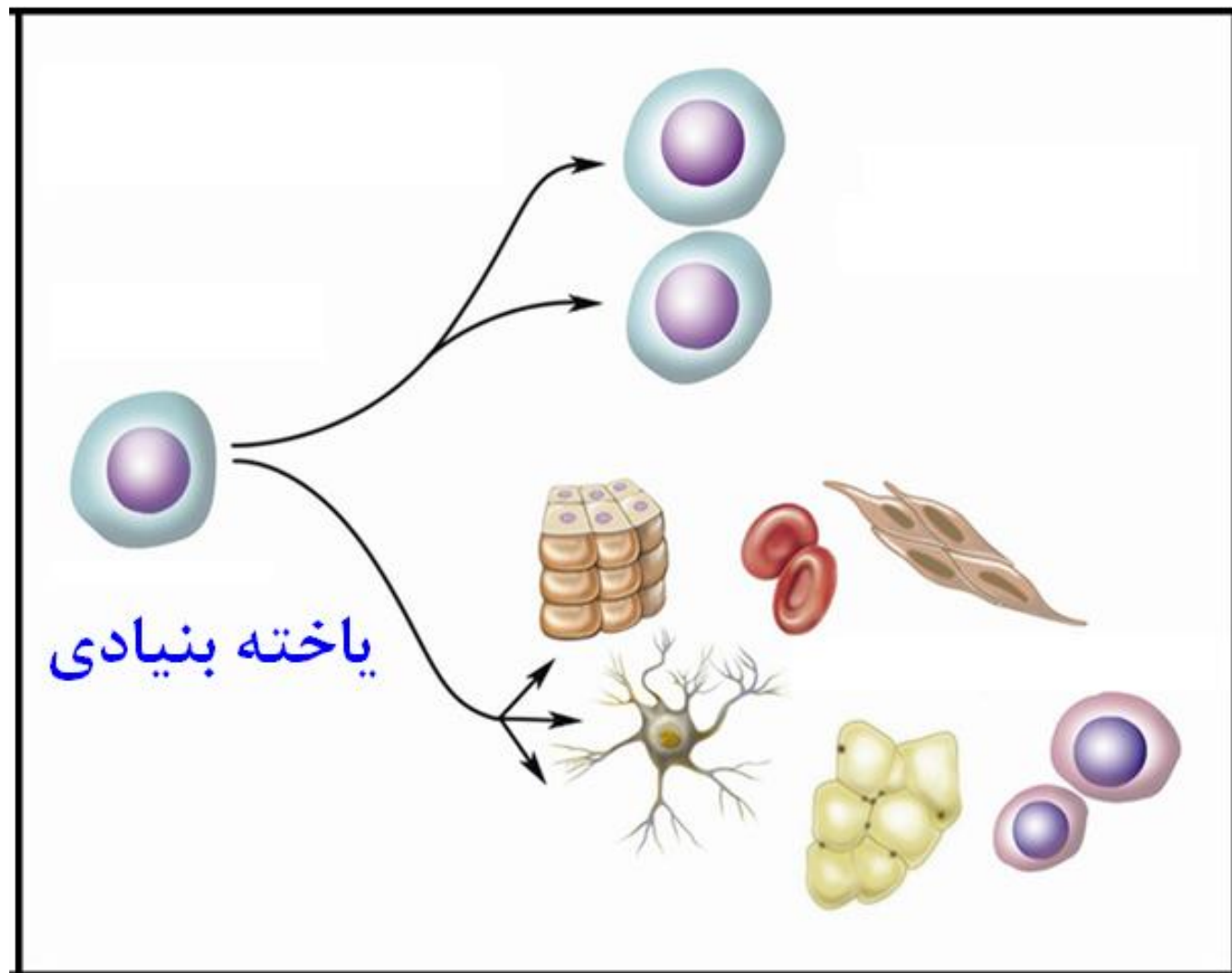
در حال حاضر، یاخته های بنیادی در پژوهش های پزشکی و زیست شناسی، اهمیت زیادی دارند و پیش بینی می شود در آینده در درمان بسیاری از بیماری های علا ج ناپذیر مثل صدمات نخاعی، پارکینسون، دیابت و بیماری های قلبی، مؤثر واقع شوند.



*** یاخته های بنیادی جنینی، همان توده یاخته ای درونی هستند**

*** یاخته های بنیادی بالغ در بافت ها یافت می شوند.**

*** یاخته های بنیادی می توانند تکثیر و به انواع متفاوت یاخته تبدیل شوند.**

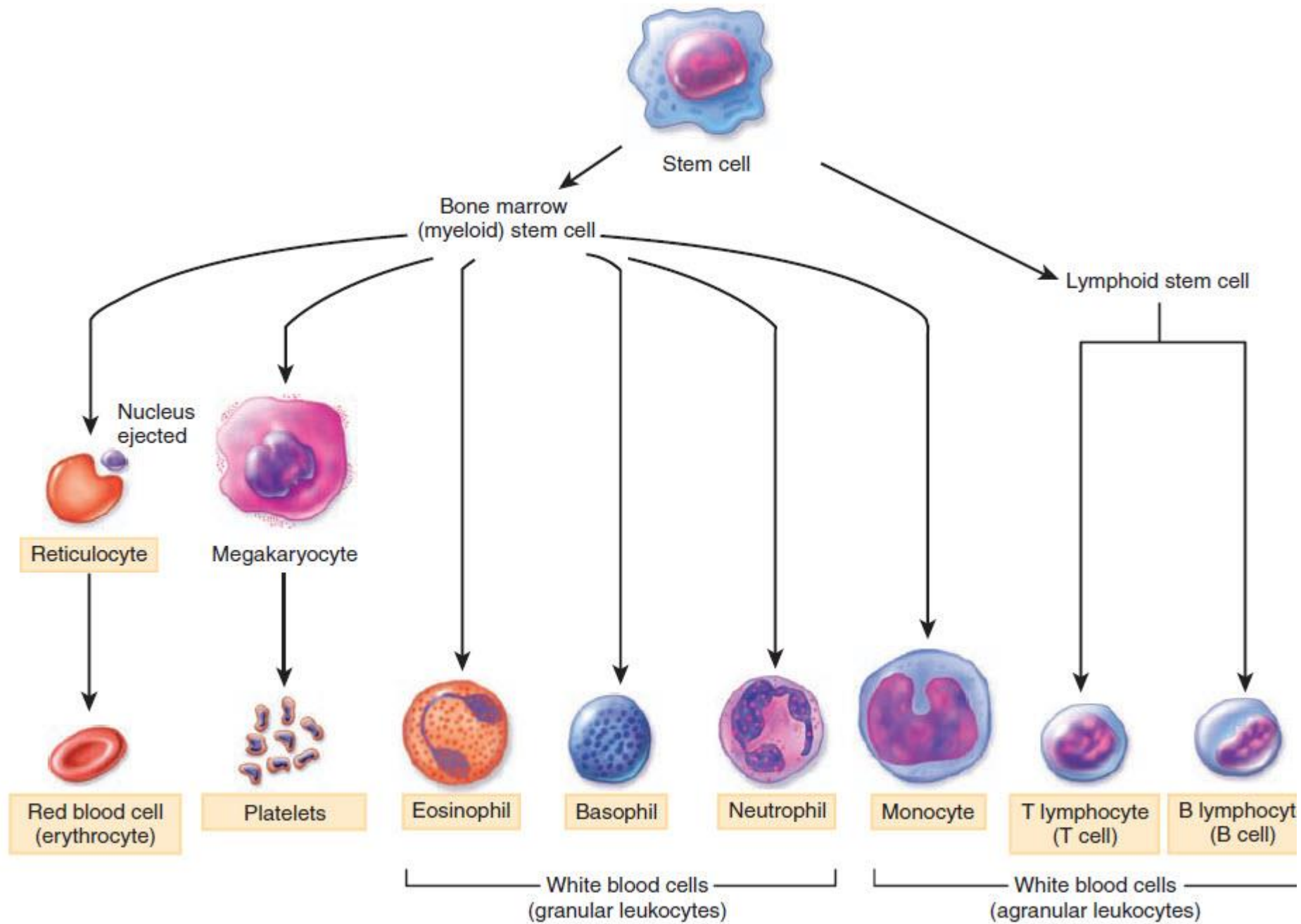


شکل ۸- یاخته‌های بنیادی توانایی تکثیر و به وجود آوردن یاخته‌های مشابه خود؛ و نیز توانایی تبدیل شدن به سایر یاخته‌ها را دارند.

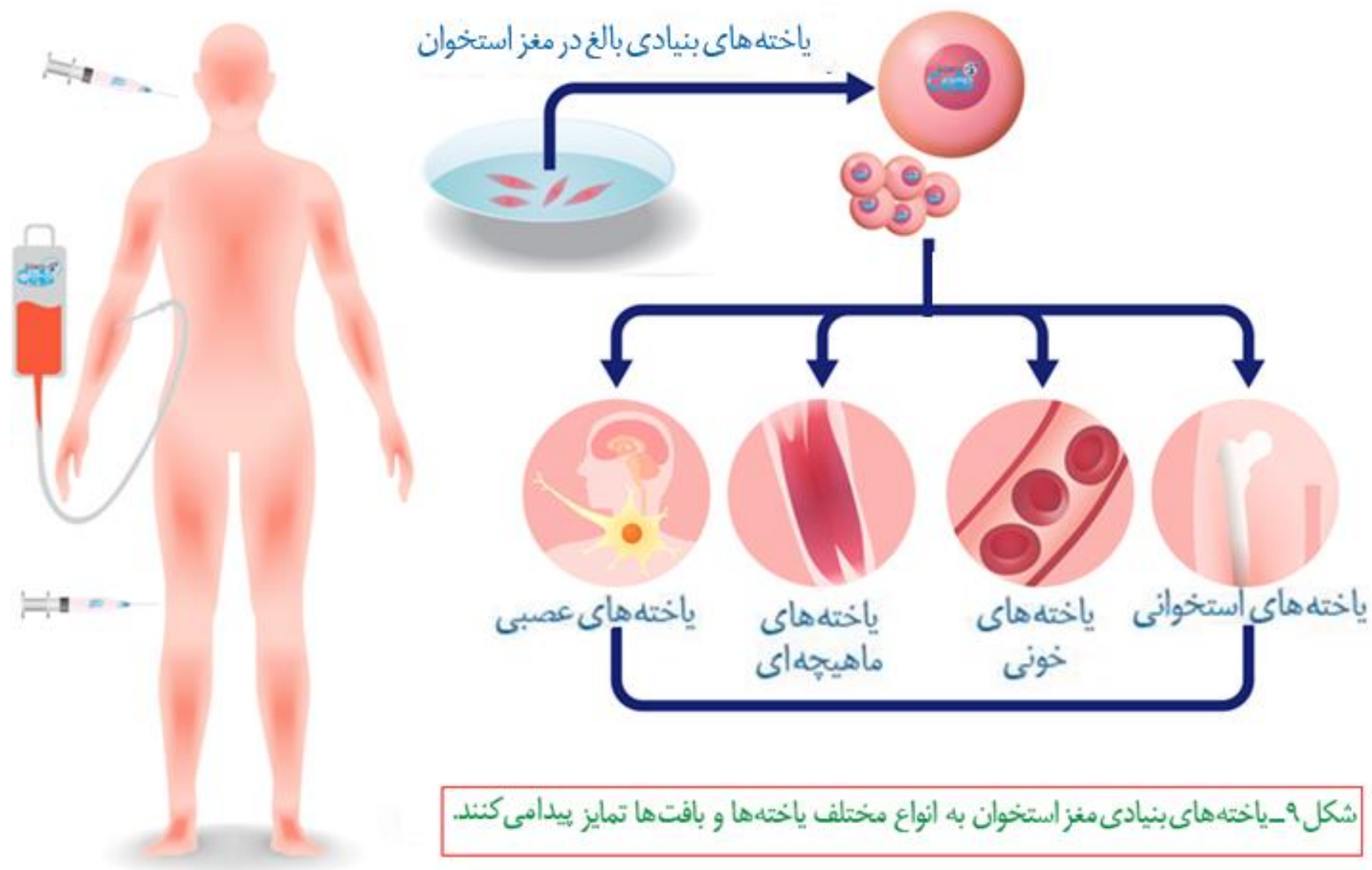
یاخته های بنیادی بالغ

در بافت های مختلف بدن یاخته های بنیادی وجود دارد که در محیط کشت تکثیر می شوند.

به عنوان مثال **یاخته های بنیادی کبد** می توانند تکثیر شوند و به **یاخته کبدی** یا **یاخته مجرای صفراوی** تمایز پیدا کنند.



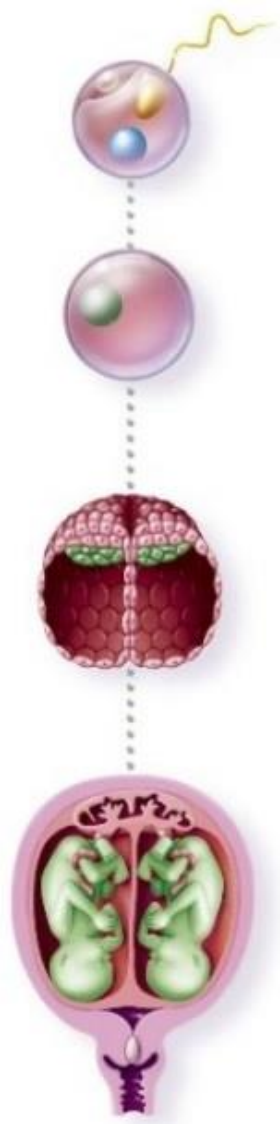
- * به جز یاخته های بنیادی میلوئیدی و لنفوئیدی **انواع دیگری** از یاخته های بنیادی در مغز استخوان وجود دارند که می توانند:
 - به **رگ های خونی ، ماهیچه اسکلتی و قلبی** تمایز پیدا کنند.
- * این یاخته ها از فرد بالغ برداشته و کشت داده می شوند



یاخته های بنیادی جنینی

چنین یاخته هایی نه تنها قادر به تشکیل همه بافت های بدن جنین هستند، بلکه اگر در مراحل اولیه جنینی جداسازی شوند، می توانند یک جنین کامل را تشکیل دهند.

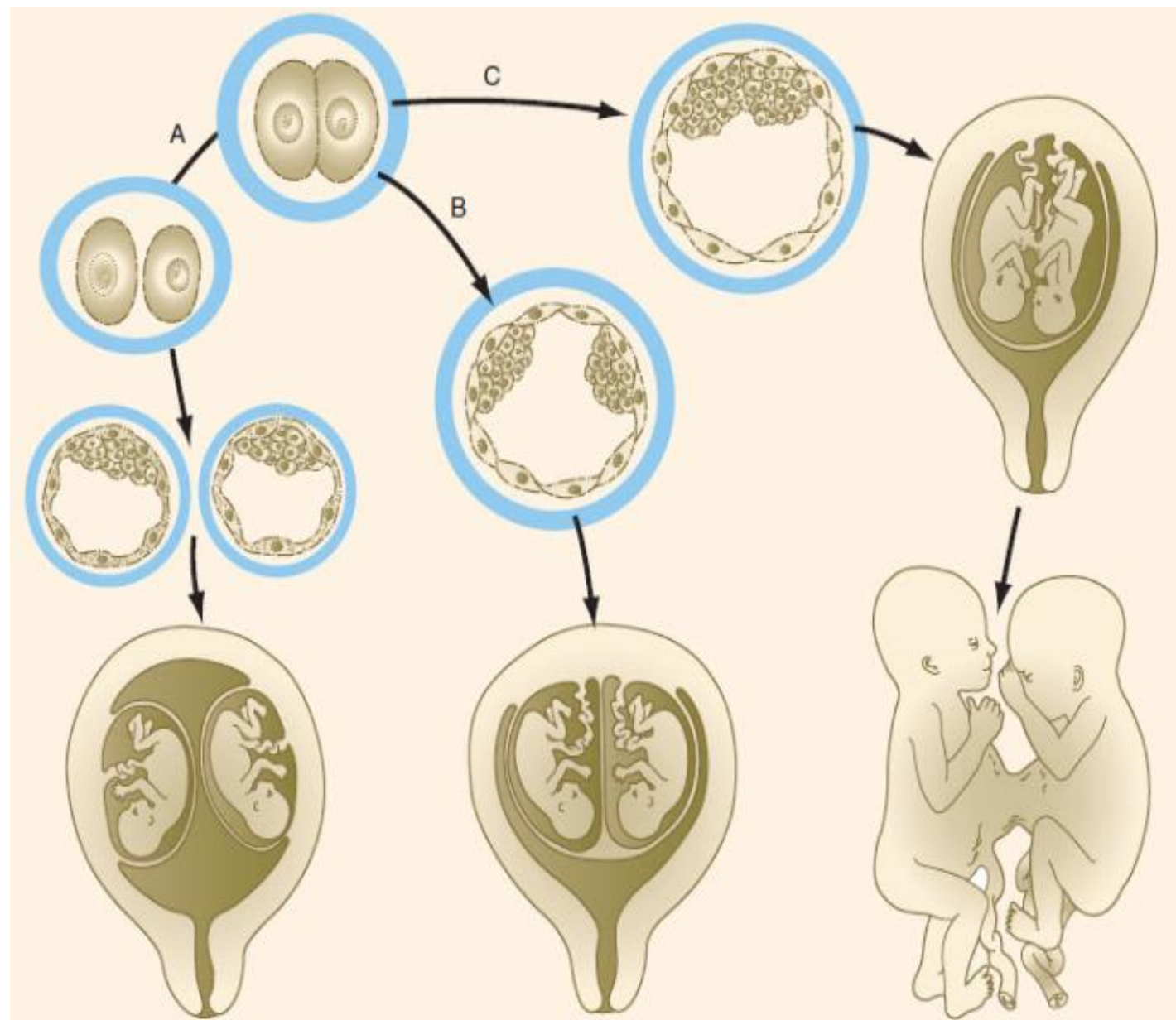
این یاخته ها بعد از جداسازی کشت داده و برای تشکیل بسیاری از انواع یاخته ها تحریک می شوند

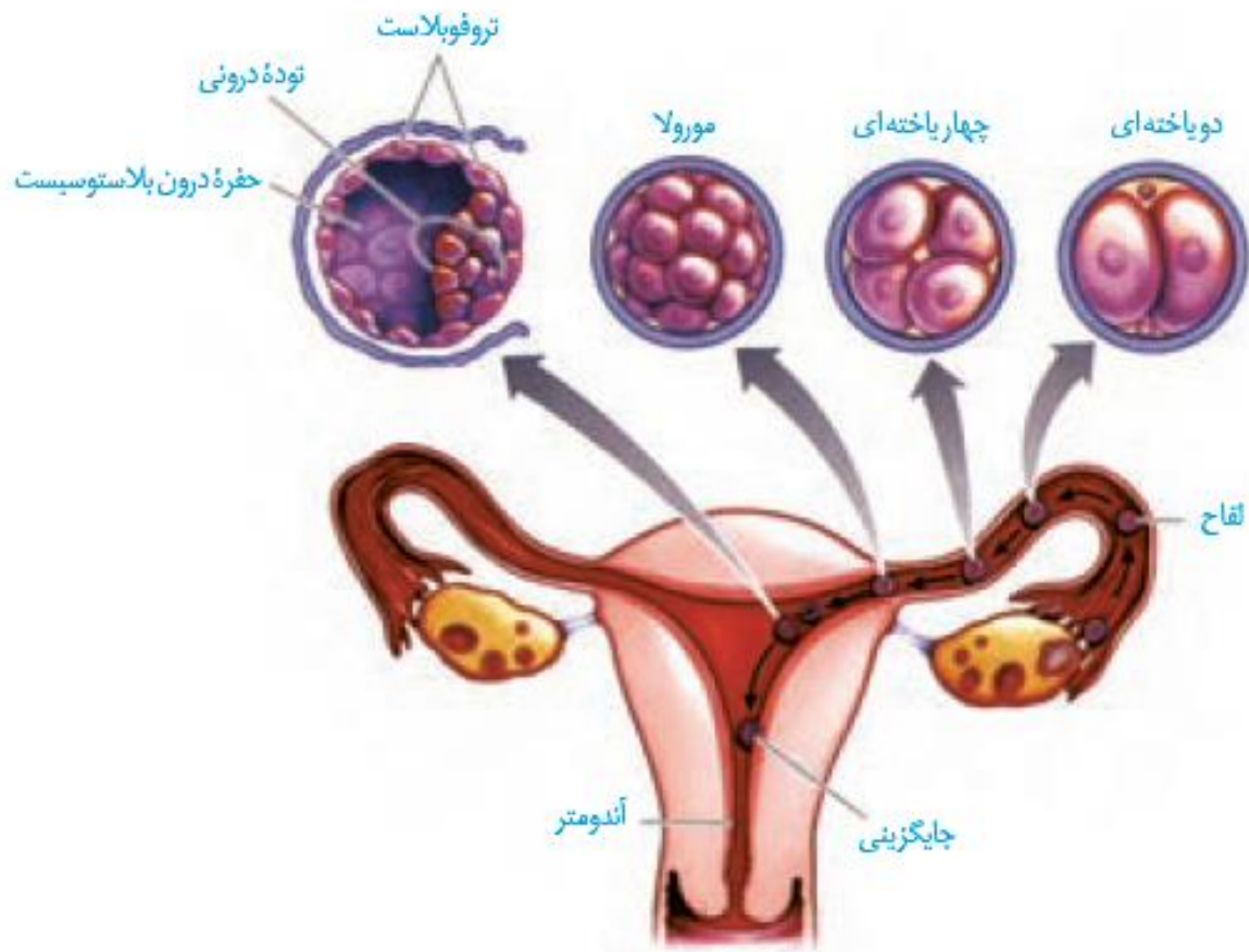


دو قلوی یک تخمی



دو قلوی دو تخمی





یاخته های درون بلاستوسیست توده یاخته ای درونی را تشکیل می دهند.

*** این یاخته ها حالت بنیادی دارند**

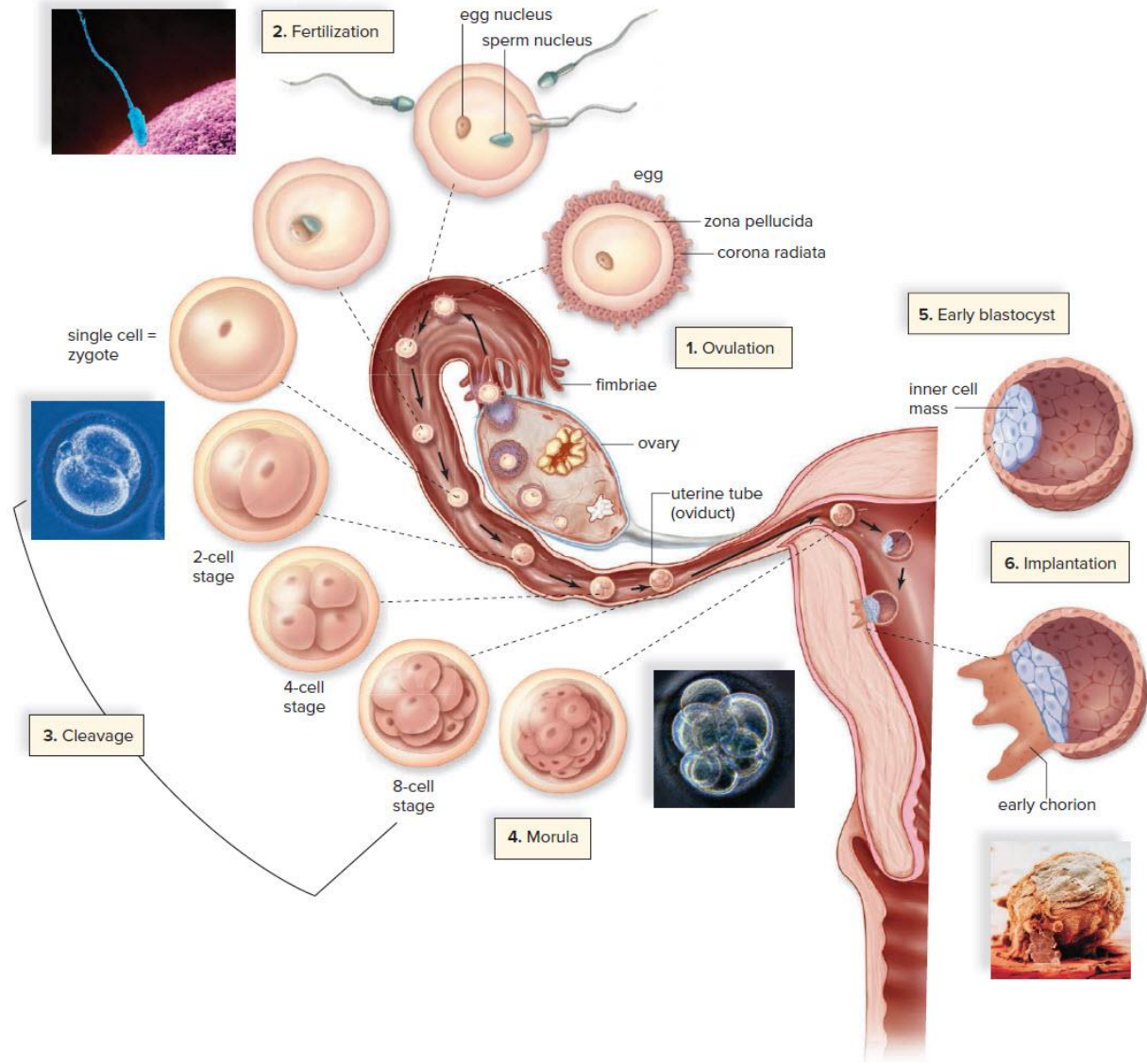
*** منشأ بافت های مختلف تشکیل دهنده جنین هستند.**

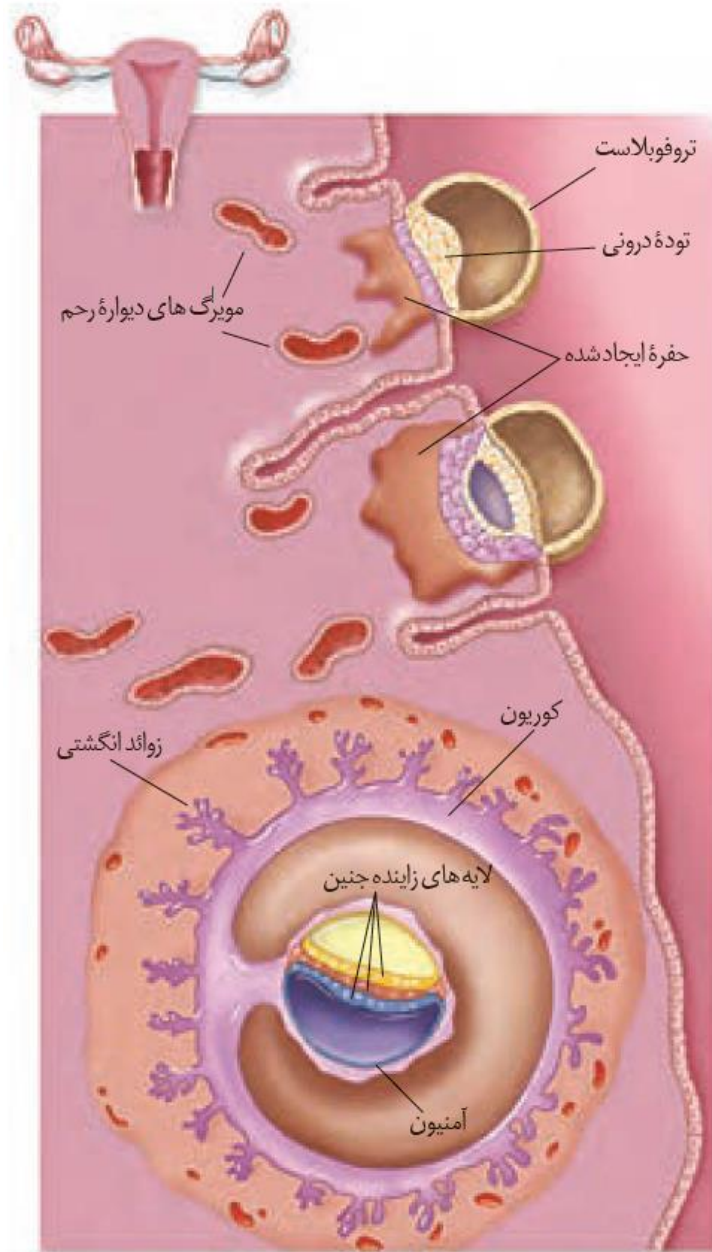
*** یاخته های بنیادی، یاخته هایی تخصص نیافته اند که توانایی تبدیل شدن به**

یاخته های متفاوتی را دارند.

*** از توده درونی لایه های زاینده جنینی شکل می گیرند که هر کدام منشأ بافت ها**

و اندام های مختلف اند.





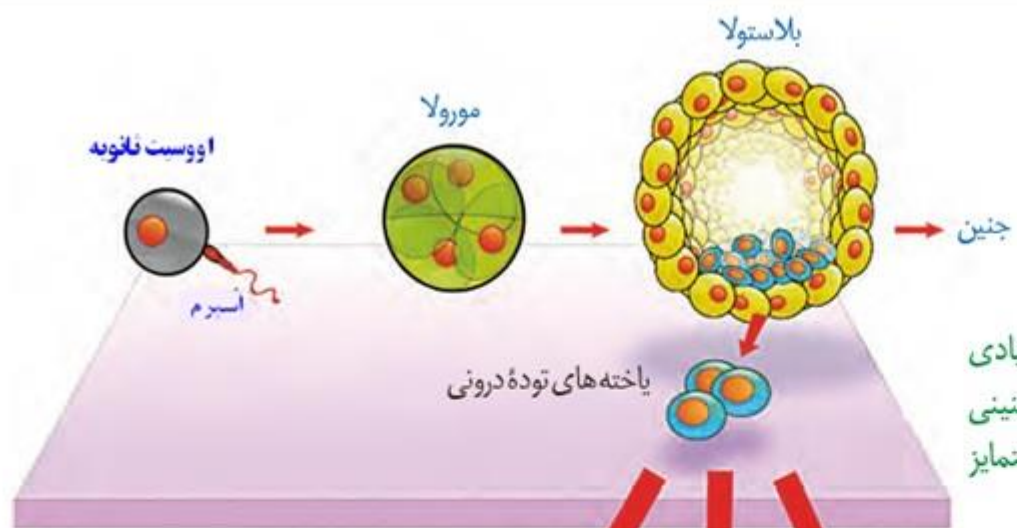
* بعد از جایگزینی، پرده های محافظت کننده در اطراف جنین تشکیل می شوند که مهم ترین آنها درون شامه جنین (آمניون) و برون شامه جنین (کوریون) هستند.

* آمניون در حفاظت و تغذیه جنین نقش دارد.

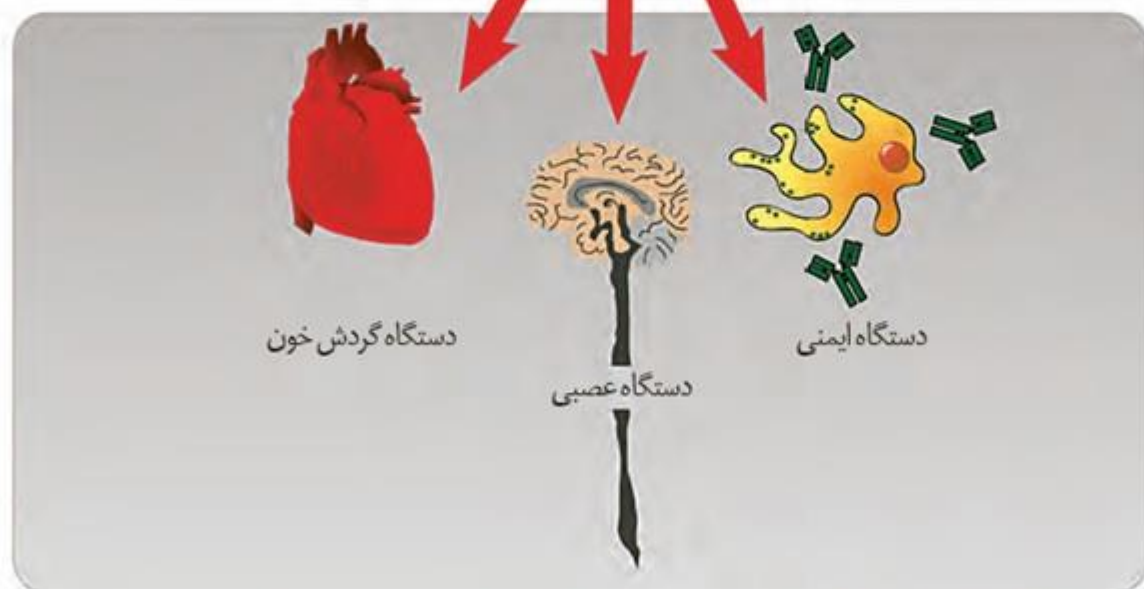
* کوریون در تشکیل جفت و بند ناف دخالت می کند.

* جفت رابط بین بند ناف و دیواره رحم است.

شکل ۱۴- جایگزینی جنین در رحم



شکل ۱۰- الف) یاخته‌های بنیادی
مورولا به همه انواع یاخته‌های جنینی
و خارج جنینی (جفت و پرده‌ها) متمایز
می‌شوند.



ب) یاخته‌های بنیادی توده یاخته‌ای درونی به انواع یاخته‌های بدن جنین متمایز می‌شوند.

اما تمایز چنین یاخته هایی هنوز نمی تواند به گونه ای تنظیم شود که بتوانند همه انواع یاخته هایی را که در بدن جنین تولید می کنند در شرایط آزمایشگاهی نیز به وجود بیاورند.

یاخته های بنیادی مورولا :

به همه انواع یاخته های جنینی و خارج جنینی (جفت و پرده ها) متمایز می شوند.

یاخته های بنیادی توده یاخته ای درونی

به انواع یاخته های بدن جنین متمایز می شوند.

از توجه شما عزیزان
سپاسگزارم