



سارا کبیرن‌تاج

s.nataj@takato.ir

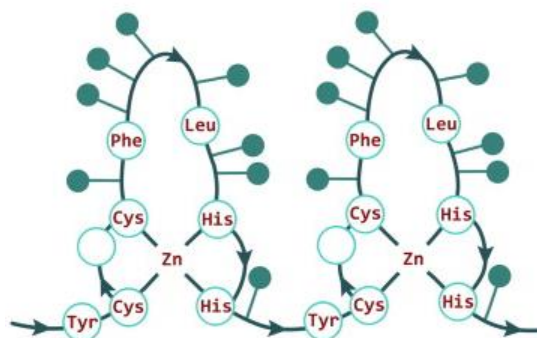
کارشناس تحقیقات بیوتکنولوژی مرکز تحقیقات کاربردی و تولید بذر، شرکت توسعه کشت دانه‌های روغنی

مهندسی ژنوم (بخش دوم)

Genome engineering (Part ۲)

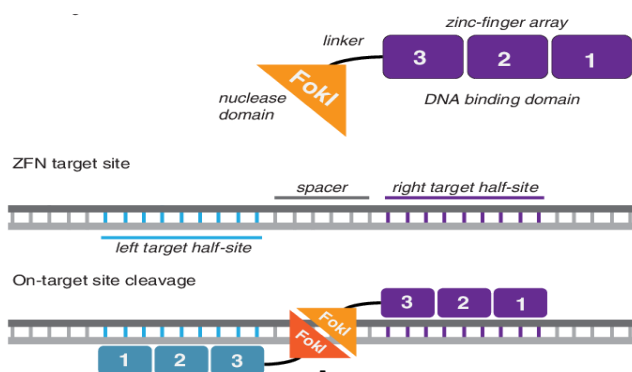
نوکلئاز انگشت روی^۱

نوکلئاز انگشت روی، اولین نوکلئاز هدفمند جهت دستیابی به ویرایش گسترده در ژنوم بود. این نوکلئاز حاصل اتصال دو دامین اصلی شامل پروتئین انگشت روی Cys₂-His₂ (دامین متصل شونده به DNA) (شکل ۱) و آنزیم اندونوکلئاز محدود کننده FokI (دامین برش دهنده DNA) می‌باشد. دامین متصل شونده به DNA معمولاً دارای سه یا چهار موتیف انگشت روی بوده بطوریکه هر موتیف سه باز را پوشش می‌دهد و وظیفه شناسایی محل برش را بر عهده دارند.



شکل ۱- ساختار انگشت روی

در واقع آنزیم اندونوکلئاز FokI به صورت غیر اختصاصی عمل می‌کند و شناسایی محل برش بر عهده دامین متصل شونده به DNA است. این سیستم به صورت دایمر (حضور بازوی چپ و راست) عمل می‌کند بطوریکه هر آنزیم به یک رشته از DNA متصل می‌شود و در نهایت با شناسایی و اتصال دو آنزیم به دو رشته مقابل هم، برش در منطقه هدف صورت می‌گیرد (شکل ۲).

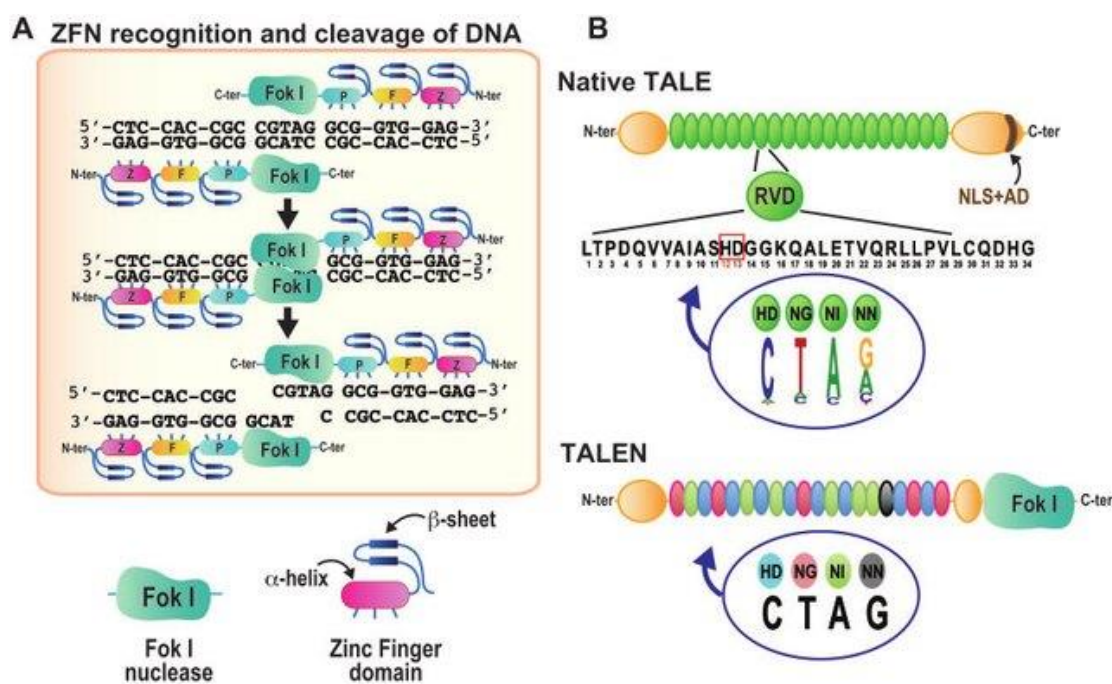


شکل ۲- نوکلئاز انگشت روی و نحوه اتصال به DNA

^۱ Zinc-Finger Nuclease (ZFN)

نوکلئاز TALE^۲

نوکلئاز TALE نیز مانند ZFN دارای دو دمین عملکردی است که شامل دمین TALE متصل شونده به DNA و دمین برش دهنده DNA (آنزیم FokI) بوده و به صورت دایمر عمل می‌کند. دمین متصل شونده به DNA دارای ۳۳ تا ۳۴ آمینواسید حفاظت شده است که در میان آنها تنها آمینواسیدهای شماره ۱۲ و ۱۳ غیر حفاظت شده هستند که این مناطق می‌بایست با DNA هدف همولوژی داشته باشند. محققین اخیرا تلاش کرده‌اند با ایجاد موتاسیون‌های هدفمند در آنزیم FokI، باعث افزایش عملکرد اختصاصی این آنزیم و در نتیجه کاهش خطای سیستم‌های ویرایشی شوند. با وجود اینکه طراحی TALEN‌ها در راستای توالی هدف، کاری پرهزینه و زمان بر است ولیکن با توجه به کارایی بالای آن، همچنان به عنوان ایزاری قدرتمند و دقیق جهت ویرایش ژنوم به کار گرفته می‌شود و علاوه بر آن گزارش‌ها نشان می‌دهند که TALEN‌ها نسبت به ZFN سمیت کمتری در سلول‌ها ایجاد می‌کنند (Mussolino et al, ۲۰۱۴).



شکل ۳- A: نحوه شناسایی و برش DNA توسط نوکلئاز انگشت روی. B: ساختار TALE و TALEN

منبع

Gaj, T., Sirk, S. J., Shui, S. and Liu, J. ۲۰۱۶. Genome-Editing Technologies : Principles and Applications. Mussolino, C., Alzubi, J., Fine, E.J., Morbitzer, R., Cradick, T.J., Lahaye, T., Bao, G., Cathomen, T. ۲۰۱۴. TALENs facilitate targeted genome editing in human cells with high specificity and low cytotoxicity. Nucleic Acids Res ۴۲: ۶۷۶۲-۶۷۷۳

^۲ Transcription Activator-Like Effector Nucleases (TALEN)