

DNA

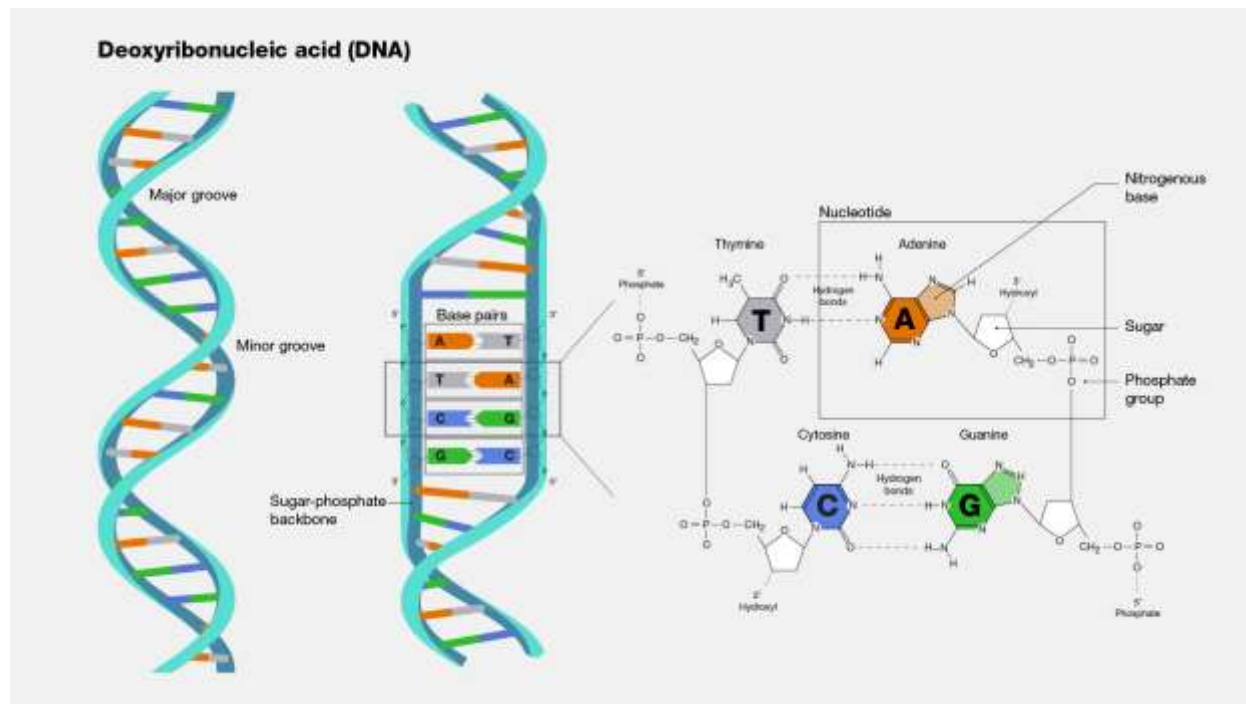
اسید دئوکسی ریبونوکلیک؛ (DNA)، یک زنجیره دورشته‌ای است که حاوی دستورالعمل‌های ژنتیکی و وراثت موجودات و سلول‌ها و ویروس‌ها برای انجام فرایندهای اساسی است. DNA و اسیدریبونوکلیک (RNA) اسیدهای نوکلئیک هستند. در کنار پروتئین‌ها، لیپیدها و کربوهیدرات‌های پیچیده (پلی ساکاریدها)، اسیدهای نوکلئیک یکی از چهار نوع عمده ماکرومولکول هستند که برای همه اشکال شناخته شده حیات ضروری هستند. دو رشته DNA به عنوان پلی‌نوکلئوتید شناخته می‌شوند زیرا از واحدهای مونومر ساده تری به نام نوکلئوتید تشکیل شده‌اند. هر نوکلئوتید از یکی از چهار نوکلئوباز حاوی نیتروژن (سیتوزین [C]، گوانین [G]، آدنین [A] یا تیمین [T])، قندی به نام دئوکسی ریبوز و یک گروه فسفات تشکیل شده است.

نوکلئوتیدها در یک زنجیره توسط پیوندهای کووالانسی (معروف به پیوند فسفودی‌استر) بین قند یک نوکلئوتید و فسفات نوکلئوتید بعدی به یکدیگر متصل می‌شوند و در نتیجه یک ستون فقرات قند-فسفات متناوب ایجاد می‌شود. بازهای نیتروژنی دو رشته پلی‌نوکلئوتیدی جداگانه، طبق قوانین جفت شدن (A با T و C با G)، با پیوندهای هیدروژنی به یکدیگر متصل می‌شوند تا DNA دو رشته‌ای بسازند. بازهای نیتروژنی مکمل به دو گروه پیریمیدین‌ها و پورین‌ها تقسیم می‌شوند. در DNA، پیریمیدین‌ها تیمین و سیتوزین هستند و پورین‌ها آدنین و گوانین هستند.

هر دو رشته DNA دو رشته‌ای اطلاعات بیولوژیکی یکسانی را ذخیره می‌کنند. بخش بزرگی از DNA (بیش از ۹۸٪ برای انسان) غیرکدکننده است، به این معنی که این بخش‌ها به عنوان الگوی توالی پروتئین عمل نمی‌کنند.

رشته‌های RNA با استفاده از رشته‌های DNA به عنوان الگو در فرآیندی به نام رونویسی ایجاد می‌شوند که در آن بازهای DNA با بازهای مربوطه خود مبادله می‌شوند، به جز در مورد تیمین (T)، که RNA جایگزین

اوراسیل (U) می‌شود. تحت کد ژنتیکی، این رشته‌های RNA توالی اسیدهای آمینه را در پروتئین‌ها در فرآیندی به نام ترجمه مشخص می‌کنند.



شکل ۱: شکلی از ساختار فضایی DNA و اجزای پلیمری آن

در سلول‌های یوکاریوتی، DNA به ساختارهای طولانی به نام کروموزوم سازماندهی می‌شود. قبل از تقسیم سلولی معمولی، این کروموزوم‌ها در فرآیند تکثیر DNA تکثیر می‌شوند و مجموعه کاملی از کروموزوم‌ها را برای هر سلول دختر فراهم می‌کنند. ارگانیسم‌های یوکاریوتی (حیوانات، گیاهان، قارچ‌ها و پروتست‌ها) بیشتر DNA خود را در داخل هسته سلول به عنوان DNA هسته‌ای و برخی را در میتوکندری به عنوان DNA میتوکندری یا در کلروپلاست‌ها به عنوان DNA کلروپلاست ذخیره می‌کنند. در مقابل، پروکاریوت‌ها (باکتری‌ها و آرکی‌باکتری‌ها) DNA خود را فقط در سیتوپلاسم، در کروموزوم‌های دایره‌ای ذخیره می‌کنند. کروموزوم‌های یوکاریوتی، پروتئین‌های کروماتین، مانند هیستون‌ها، DNA را فشرده و سازماندهی می‌کنند.

این ساختارهای فشرده کنش متقابل بین DNA و سایر پروتئین‌ها را هدایت می‌کنند و به کنترل قسمت‌هایی از DNA کمک می‌کنند که رونویسی شوند.

همانندسازی DNA

در زیست‌شناسی مولکولی، همانندسازی DNA فرآیند بیولوژیکی تولید دو کپی مشابه از DNA از یک مولکول DNA اصلی است. تکثیر DNA در همه موجودات زنده که به عنوان ضروری‌ترین بخش برای وراثت بیولوژیکی عمل می‌کند، رخ می‌دهد. این برای تقسیم سلولی در طول رشد و ترمیم بافت‌های آسیب‌دیده ضروری است، در حالی که تضمین می‌کند که هر یک از سلول‌های جدید نسخه‌ای از DNA خود را دریافت کنند. سلول دارای خاصیت متمایز تقسیم است که تکثیر DNA را ضروری می‌کند.

DNA از یک مارپیچ دوتایی از دو رشته مکمل تشکیل شده است. مارپیچ دوتایی ظاهر یک DNA دو رشته‌ای را توصیف می‌کند که بنابراین از دو رشته خطی تشکیل شده است که در مقابل یکدیگر قرار دارند و با هم می‌پیچند تا تشکیل شوند. در حین تکثیر، این رشته‌ها از هم جدا می‌شوند. سپس هر رشته از مولکول DNA اصلی به عنوان الگویی برای تولید همتای خود عمل می‌کند، فرآیندی که به آن همانندسازی نیمه محافظه کار می‌گویند. در نتیجه همانندسازی نیمه محافظه کارانه، مارپیچ جدید از یک رشته DNA اصلی و همچنین یک رشته تازه سنتز شده تشکیل خواهد شد. مکانیسم‌های تصحیح سلولی و بررسی خطا، وفاداری تقریباً کامل را برای همانندسازی DNA تضمین می‌کنند. در یک سلول، تکثیر DNA در مکان‌های خاص یا مبدا همانندسازی در ژنوم که حاوی مواد ژنتیکی یک موجود زنده است، آغاز می‌شود. باز کردن DNA در مبدأ و سنتز رشته‌های جدید، که توسط آنزیمی به نام هلیکاز تطبیق داده می‌شود، منجر به رشد دو طرفه چنگال‌های همانندسازی از مبدا می‌شود. تعدادی از پروتئین‌ها با چنگال همانندسازی همراه هستند تا به شروع و ادامه

سنتز DNA کمک کنند. مهمتر از همه، DNA پلیمراز است که رشته‌های جدید را با افزودن نوکلئوتیدهایی که مکمل هر رشته (الگو) هستند، سنتز می‌کند. همانندسازی DNA در مرحله S اینترفاز اتفاق می‌افتد.

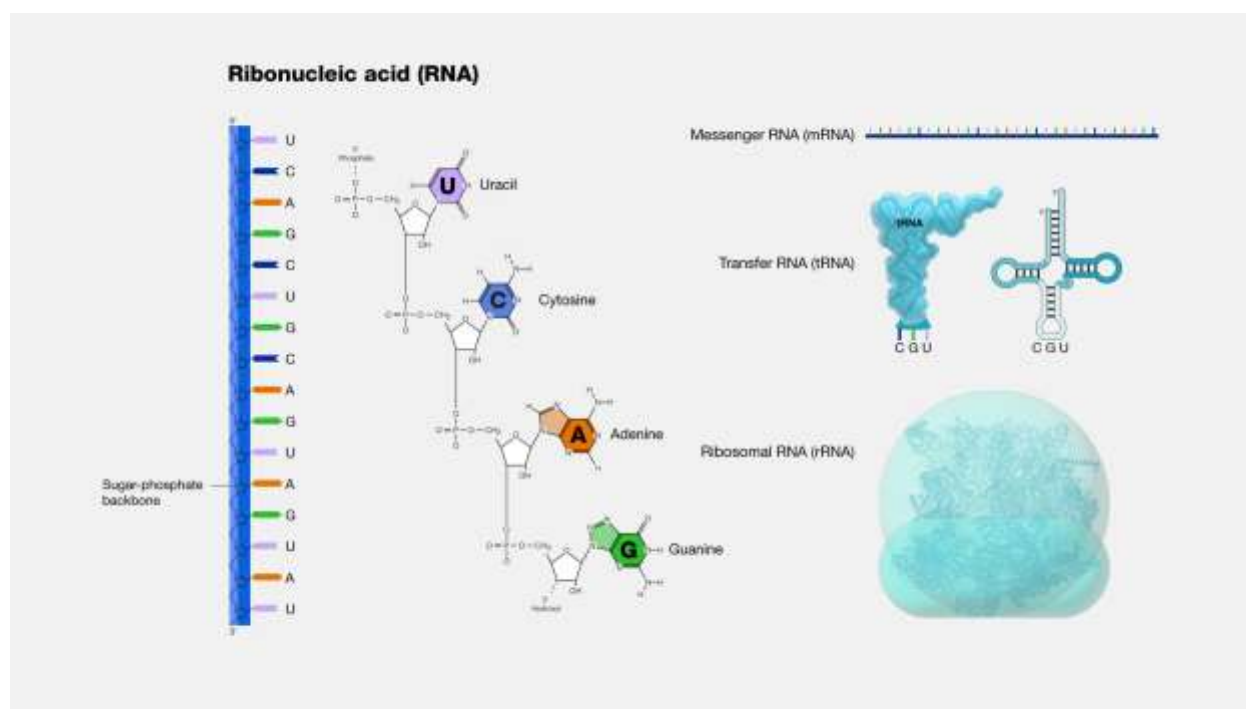
همانندسازی DNA همچنین می‌تواند در شرایط آزمایشگاهی (به صورت مصنوعی، خارج از سلول) انجام شود. DNA پلیمرازهای جدا شده از سلول‌ها و آغازگرهای DNA مصنوعی را می‌توان برای شروع سنتز DNA در توالی‌های شناخته شده در یک مولکول DNA الگو استفاده کرد.

RNA

مانند DNA، RNA به صورت زنجیره‌ای از نوکلئوتیدها مونتاژ می‌شود، اما برخلاف DNA، RNA در طبیعت به عنوان یک رشته منفرد تا شده روی خودش یافت می‌شود نه یک رشته دوتایی جفت شده. موجودات سلولی از RNA پیام‌رسان (mRNA) برای انتقال اطلاعات ژنتیکی (با استفاده از بازهای نیتروژنی گوانین، اوراسیل، آدنین و سیتوزین که با حروف G، U، A و C نشان داده می‌شوند) استفاده می‌کنند که سنتز پروتئین‌های خاص را هدایت می‌کند. بسیاری از ویروس‌ها اطلاعات ژنتیکی خود را با استفاده از ژنوم RNA رمزگذاری می‌کنند. برخی از مولکول‌های RNA با کاتالیز کردن واکنش‌های بیولوژیکی، کنترل بیان ژن، یا حس کردن و برقراری ارتباط پاسخ‌ها به سیگنال‌های سلولی، نقش فعالی را در سلول‌ها ایفا می‌کنند. یکی از این فرآیندهای فعال سنتز پروتئین است، یک عملکرد جهانی که در آن مولکول‌های RNA سنتز پروتئین‌ها را روی ریبوزوم‌ها هدایت می‌کنند. این فرآیند از مولکول‌های انتقال RNA (tRNA) برای رساندن اسیدهای آمینه به ریبوزوم استفاده می‌کند، جایی که RNA ریبوزومی (rRNA) سپس اسیدهای آمینه را به یکدیگر پیوند می‌دهد تا پروتئین‌های کدگذاری شده را تشکیل دهند.

رونویسی

کد ژنتیکی اغلب به عنوان "طرح نقشه" شناخته می‌شود زیرا حاوی دستورالعمل‌هایی است که یک سلول برای حفظ خود نیاز دارد. با این حال، اکنون می‌دانیم که در این دستورالعمل‌ها چیزهای زیادی در کد نوکلئوتیدی وجود دارد که هنوز ناشناخته مانده است. برای مثال، شواهد زیادی نشان می‌دهد که این کدهای ژنتیکی مبنای تولید مولکول‌های مختلف از جمله RNA و پروتئین است. تحقیقات همچنین نشان داده است که دستورالعمل‌های ذخیره شده در DNA در دو مرحله "خوانده" می‌شوند: رونویسی و ترجمه.

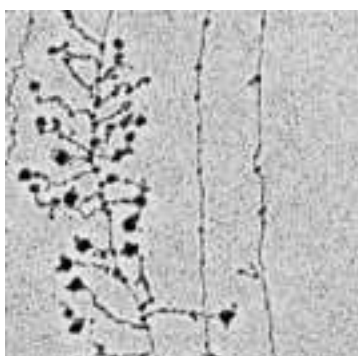


شکل ۲: شکلی از ساختار RNA و ساختار سه بعدی سه RNA اصلی

در رونویسی، بخشی از الگوی DNA دو رشته‌ای باعث ایجاد یک مولکول RNA تک رشته‌ای می‌شود. در برخی موارد، مولکول RNA خود یک "محصول نهایی" است که عملکرد مهمی را در سلول انجام می‌دهد. با این حال، اغلب، رونویسی یک مولکول RNA با یک مرحله ترجمه دنبال می‌شود که در نهایت منجر به تولید یک مولکول پروتئین می‌شود. فرآیند رونویسی را می‌توان با میکروسکوپ الکترونی مشاهده کرد. در واقع، برای

اولین بار با استفاده از این روش در سال ۱۹۷۰ مشاهده شد. در این میکروگراف‌های الکترونی اولیه، مولکول‌های DNA به صورت "تنه" ظاهر می‌شوند و بسیاری از "شاخه‌های RNA" از آنها خارج می‌شوند.

DNA یک ساختار دو رشته‌ای دارد، اما تنها یک رشته در هر زمان به عنوان الگوی رونویسی عمل می‌کند. به این رشته الگو (Template)، رشته غیر کدکننده (noncoding strand) می‌گویند. رشته غیرالگو (nontemplate strand) به عنوان رشته کدکننده نامیده می‌شود زیرا توالی آن با مولکول RNA جدید



شکل ۳ : شکلی از رونویسی که توسط میکروسکوپ الکترونی گرفته شده است.

یکسان خواهد بود. در بیشتر موجودات، رشته‌ای از DNA که به عنوان الگوی یک ژن عمل می‌کند، ممکن است رشته غیرالگو برای ژن‌های دیگر در همان کروموزوم باشد.

فرآیند رونویسی زمانی آغاز می‌شود که آنزیمی به نام RNA پلیمراز (RNA pol) به رشته DNA الگو می‌چسبد و شروع به تولید RNA مکمل می‌کند. پلیمرازها آنزیم‌های بزرگی هستند که از تقریباً ۱۲ زیرواحد تشکیل شده‌اند و هنگامی که روی DNA فعال هستند، معمولاً با عوامل دیگر کمپلکس می‌شوند. در بسیاری از موارد، این عوامل نشان می‌دهد که کدام ژن باید رونویسی شود. سه نوع مختلف RNA پلیمراز در سلول‌های یوکاریوتی وجود دارد، در حالی که باکتری‌ها فقط یک نوع دارند.

پروتئین

پروتئین‌ها بیومولکول‌ها و در شت مولکول‌های بزرگی هستند که یک یا چند زنجیره طولانی از باقی مانده‌های اسید آمینه را تشکیل می‌دهند. پروتئین‌ها مجموعه وسیعی از عملکردها را در ارگانیسم‌ها انجام می‌دهند، از جمله کاتالیزور واکنش‌های متابولیکی، تکثیر DNA، پاسخ به محرک‌ها، ایجاد ساختار برای سلول‌ها و موجودات، و انتقال مولکول‌ها از یک مکان به مکان دیگر.

پروتئین‌ها عمدتاً در توالی اسیدهای آمینه با یکدیگر متفاوت هستند، که توسط توالی نوکلئوتیدی ژن‌های آنها دیکته می‌شود و معمولاً منجر به تا شدن پروتئین به یک ساختار سه بعدی خاص می‌شود که فعالیت آن را تعیین می‌کند. یک زنجیره خطی از اسید آمینه، پلی پپتید نامیده می‌شود. یک پروتئین حاوی حداقل یک پلی پپتید طولانی است. پلی پپتیدهای کوتاه، حاوی کمتر از ۲۰ تا ۳۰ آمینواسید، به ندرت به عنوان پروتئین در نظر گرفته می‌شوند و معمولاً پپتید نامیده می‌شوند.

بقایای اسید آمینه منفرد توسط پیوندهای پپتیدی و بقایای اسید آمینه مجاور به یکدیگر متصل می‌شوند. توالی بقایای اسید آمینه در یک پروتئین با توالی یک ژن که در کد ژنتیکی کدگذاری شده است، تعریف می‌شود. به طور کلی، کد ژنتیکی ۲۰ اسید آمینه استاندارد را مشخص می‌کند. اما در برخی ارگانیسم‌ها کد ژنتیکی می‌تواند شامل سلنوسیستئین و پیرولیزین باشد. مدت کوتاهی پس از سنتز یا حتی در حین سنتز، آمینواسیدهای یک پروتئین اغلب با اصلاحات پس از ترجمه از نظر شیمیایی اصلاح می‌شوند که خواص فیزیکی و شیمیایی، چین‌خوردگی، پایداری، فعالیت و در نهایت عملکرد پروتئین‌ها را تغییر می‌دهد. برخی از پروتئین‌ها دارای گروه‌های غیر پپتیدی متصل هستند که می‌توان آنها را گروه‌های مصنوعی یا کوفاکتور نامید. پروتئین‌ها همچنین می‌توانند برای دستیابی به یک عملکرد خاص با هم کار کنند و اغلب با هم ترکیب می‌شوند تا کمپلکس‌های پروتئینی پایدار را تشکیل دهند. پس از تشکیل، پروتئین‌ها فقط برای یک دوره معین وجود دارند و سپس توسط سلول از طریق فرآیند گردش پروتئین تجزیه و بازیافت می‌شوند.

مانند سایر ماکرومولکول‌های بیولوژیکی مانند پلی‌ساکاریدها و اسیدهای نوکلئیک، پروتئین‌ها بخش‌های ضروری ارگانیسم‌ها هستند و تقریباً در هر فرآیند درون سلولی شرکت می‌کنند. بسیاری از پروتئین‌ها آنزیم‌هایی هستند که واکنش‌های بیوشیمیایی را کاتالیز می‌کنند و برای متابولیسم حیاتی هستند.

پروتئین‌ها را می‌توان از سایر اجزای سلولی با استفاده از تکنیک‌های مختلفی مانند اولتراسانتریفیوژ، الکتروفورز و کروماتوگرافی خالص کرد. ظهور مهندسی ژنتیک تعدادی از روش‌ها را برای تسهیل خالص‌سازی ممکن کرده است. روش‌هایی که معمولاً برای مطالعه ساختار و عملکرد پروتئین مورد استفاده قرار می‌گیرند شامل ایمونوهیستوشیمی، جهش‌زایی مکان‌دار، کریستالوگرافی اشعه ایکس، رزونانس مغناطیسی هسته‌ای و طیف‌سنجی جرمی است.

پلاسمید

پلاسمید یک مولکول DNA خارج کروموزومی کوچک درون سلولی است که از نظر فیزیکی از DNA کروموزومی جدا شده و می‌تواند به طور مستقل تکثیر شود. آنها معمولاً به صورت مولکول‌های کوچک دایره‌ای و دو رشته‌ای DNA در باکتری‌ها یافت می‌شوند. با این حال، پلاسمیدها گاهی اوقات در یوکاریوت‌ها وجود دارند.

در طبیعت، پلاسمیدها اغلب حامل ژن‌هایی هستند که برای بقای ارگانیسم مفید بوده و مزیت‌های انتخابی مانند مقاومت آنتی‌بیوتیکی را به همراه دارند. در حالی که کروموزوم‌ها بزرگ هستند و حاوی تمام اطلاعات ژنتیکی ضروری برای زندگی در شرایط عادی هستند، پلاسمیدها معمولاً بسیار کوچک هستند و فقط حاوی ژن‌های اضافی هستند که ممکن است در موقعیت‌ها یا شرایط خاص مفید باشند. پلاسمیدهای مصنوعی به طور گسترده به عنوان ناقل در شبیه‌سازی مولکولی استفاده می‌شوند و برای پیشبرد تکثیر توالی‌های DNA نوترکیب در ارگانیسم‌های میزبان استفاده می‌شوند.

در آزمایشگاه، پلاسمیدها ممکن است از طریق تبدیل به سلول وارد شوند. پلاسمیدهای مصنوعی برای تهیه از طریق اینترنت در دسترس هستند. پلاسمیدها مانند واحدهایی از DNA در نظر گرفته می‌شوند که قادر به تکثیر مستقل در یک میزبان مناسب هستند. با این حال، پلاسمیدها، مانند ویروس‌ها، به طور کلی به عنوان حیات طبقه بندی نمی‌شوند. پلاسمیدها از یک باکتری به باکتری دیگر (حتی از یک گونه دیگر) بیشتر از طریق کونژوگاسیون منتقل می‌شوند. این انتقال ماده ژنتیکی از میزبان به میزبان یکی از مکانیسم‌های انتقال افقی ژن است. اندازه پلاسمیدها از ۱ تا بیش از ۴۰۰ کیلوباز در ثانیه متفاوت است و تعداد پلاسمیدهای یکسان در یک سلول می‌تواند در برخی شرایط از یک تا هزاران متغیر باشد.

تولید پروتئین با پلاسمید

برای سنتز یک پروتئین خاص، ابتدا DNA باید به RNA پیام رسان (mRNA) رونویسی شود. سپس mRNA را می‌توان در ریبوزوم به زنجیره‌های پلی‌پپتیدی که ساختار اولیه پروتئین‌ها را تشکیل می‌دهند ترجمه کرد. سپس اکثر پروتئین‌ها از طریق مجموعه‌ای از تغییرات پس از ترجمه از جمله تا شدن پروتئین، تشکیل پل‌های دی‌سولفیدی، گلیکوزیلاسیون و استیلاسیون برای ایجاد پروتئین‌های کاربردی و پایدار اصلاح می‌شوند. بیان پروتئین به مرحله دوم این فرآیند اشاره دارد: سنتز پروتئین‌ها از mRNA و افزودن تغییرات پس از ترجمه. محققان از تکنیک‌های مختلفی برای کنترل بیان پروتئین برای کاربردهای تجربی، بیوتکنولوژیکی و پزشکی استفاده می‌کنند. پژوهش‌ها می‌توانند پروتئین‌ها را در داخل بدن با برچسب‌گذاری پروتئین‌های فلورسنت برای مطالعه محل یا خالص‌سازی پروتئین‌ها برای مطالعه ساختار، برهم‌کنش‌ها و عملکرد آنها تجسم کنند.

همچنین می‌توان پروتئین‌ها را برای استفاده در تحقیقات زیست‌شناسی مولکولی مانند پلیمرها و سایر آنزیم‌ها خالص‌سازی کرد و برای دستکاری DNA استفاده کرد، یا در پزشکی (مانند انسولین) خالص‌سازی کرد.

پروتئین‌ها، برخلاف DNA که می‌توانند نسبتاً آسان سنتز شوند، باید با استفاده از مخلوط‌های پیچیده مشتق شده از سلول‌ها یا با استفاده از سلول‌های زنده تولید شوند. انواع مختلفی از سیستم‌های بیانی برای تولید و خالص سازی پروتئین استفاده می‌شود. این شامل پستانداران، حشرات، باکتری‌ها، گیاهان، مخمرها و سیستم‌های بیان بدون سلول است.

به طور کلی استراتژی کلی برای بیان پروتئین شامل انتقال سلول‌ها با الگوی DNA انتخابی شما و اجازه دادن به این سلول‌ها برای رونویسی، ترجمه و اصلاح پروتئین مورد نظر شما است. سپس پروتئین‌های اصلاح شده را می‌توان با استفاده از برچسب‌های پروتئینی از سلول‌های لیز شده استخراج کرد و با استفاده از روش‌های مختلف جداسازی پروتئین که اغلب با استفاده از ستون کروماتوگرافی است جدا کرد.

تصمیم‌گیری برای استفاده از سیستم بیانی به چندین عامل بستگی دارد:

- پروتئینی که سعی در بیان آن دارید.

- چه مقدار پروتئین نیاز دارید.

- برنامه‌های شما برای مسیرهای پایین دستی.

سیستم‌های بیان پستانداران

سلول‌های پستانداران یک سیستم ایده‌آل برای بیان پروتئین‌های پستانداران هستند که برای عملکرد مناسب پروتئین نیاز به تغییرات متعدد پس از ترجمه دارند. اکثر ساختارهای DNA طراحی شده برای بیان پستانداران از پروموتورهای ویروسی SV40، CMV و RSV برای بیان قوی پس از انتقال استفاده می‌کنند. سیستم‌های

پستانداران می‌توانند پروتئین‌ها را هم به صورت گذرا و هم از طریق رده‌های سلولی پایدار بیان کنند. هر دو روش در صورت موفقیت آمیز بودن ترانسفکشن، بازده پروتئین بالایی تولید می‌کنند.

برخی از سیستم‌های پستانداران همچنین اجازه می‌دهند تا زمانی که یک پروتئین از طریق استفاده از پروموتورهای سازنده و القایی بیان می‌شود، کنترل شود. اگر یک محصول پروتئینی مورد نظر در غلظت‌های بالا برای سلول‌ها سمی باشد، پروموتورهای القایی بسیار مفید هستند. علیرغم مزایایی که دارند، سیستم‌های بیان پستانداران به شرایط کشت سلولی در مقایسه با سایر سیستم‌ها نیاز دارند.

سیستم‌های بیان حشرات

از سلول‌های حشره نیز می‌توان برای تولید پروتئین‌های یوکاریوتی پیچیده با تغییرات صحیح پس از ترجمه استفاده کرد. دو نوع سیستم بیان حشرات وجود دارد. سلول‌های حشره آلوده و غیرلیتیک باکولووایروس. سیستم‌های بیان باکولووایروس برای بیان پروتئین نو ترکیب بسیار قدرتمند هستند. این سیستم‌ها بیان بالایی از پروتئین‌های بسیار پیچیده و گلیکوزیله را امکان پذیر می‌کنند که نمی‌توانند در سلول‌های E.coli یا مخمر تولید شوند.

تنها مشکل سیستم‌های باکولووایروس این است که سلول میزبان آلوده در نهایت لیز می‌شود. لیز سلولی تولید پروتئین را متوقف می‌کند، اما سیستم‌های بیان سلول‌های حشره غیر لیتیک (سلول‌های Sf9 ، Sf21 ، Hi-5) وجود دارند که امکان بیان مداوم ژن‌های ادغام شده در ژنوم سلول حشره را فراهم می‌کند.

سیستم‌های بیان باکتری

وقتی کسی بخواهد مقادیر زیادی پروتئین را به سرعت و ارزان تولید کند، یک سلول میزبان باکتری تقریباً همیشه پاسخگو است. *E. coli* قطعاً یکی از محبوب‌ترین میزبان‌ها برای بیان پروتئین با چندین سویه است که برای بیان پروتئین تخصصی هستند.

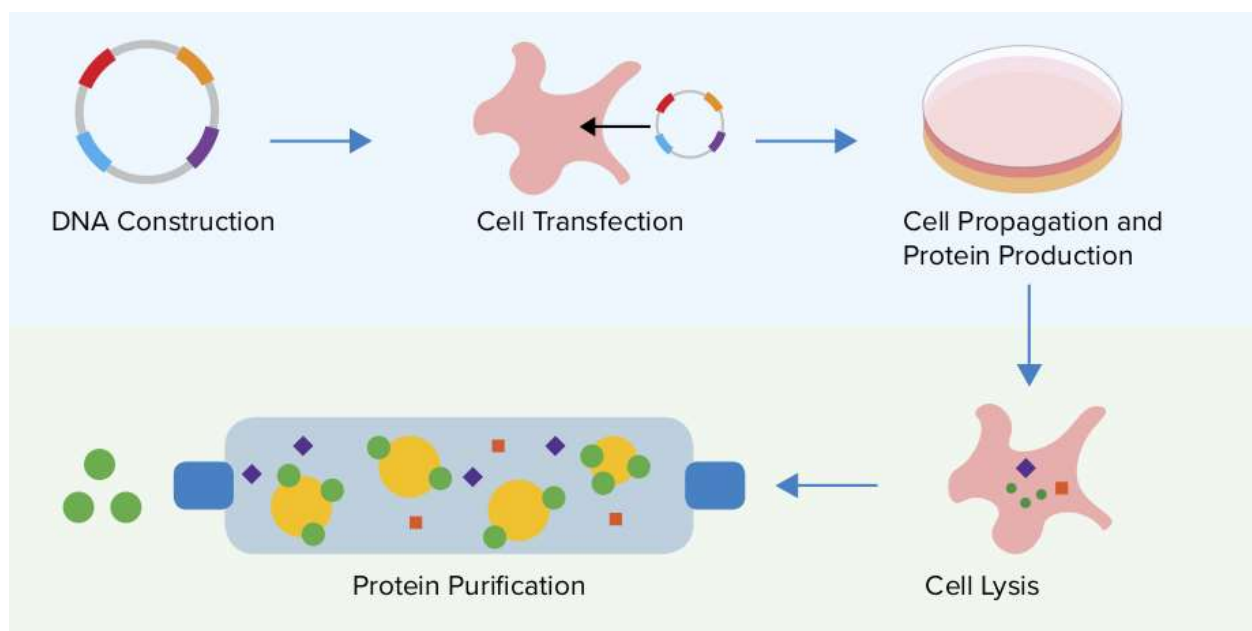
بیان پروتئین در باکتری‌ها بسیار ساده است DNA کد کننده پروتئین مورد نظر شما در یک ناقل بیان پلاسمید وارد می شود که سپس به یک سلول باکتری تبدیل می شود. سلول های تبدیل شده تکثیر می شوند، القا می شوند تا پروتئین مورد نظر شما را تولید کنند و سپس لیز می شوند. سپس پروتئین را می توان از بقایای سلولی پاکسازی کرد.

سیستم های بیان مخمر

مخمر یک سیستم بیان عالی برای تولید مقادیر زیادی از پروتئین های یوکاریوتی نوترکیب است. اگرچه بسیاری از گونه های مخمر را می توان برای بیان پروتئین استفاده کرد، اما *S. cerevisiae* به دلیل استفاده از آن به عنوان ارگانیسم مدل در ژنتیک و بیوشیمی، قابل اطمینان ترین و پرمصرف ترین گونه است. هنگام استفاده از *S. cerevisiae*، محققان اغلب پروتئین های نوترکیب را تحت کنترل پروموتور القایی گالاکتوز (GAL) قرار می دهند. سایر پروموتورهای رایج مورد استفاده به ترتیب شامل پروموتورهای القایی فسفات و مس PHO5 و CUP1 هستند. سلول های مخمر در محیط های کاملاً مشخص رشد می کنند و می توانند به راحتی با تخمیر سازگار شوند و امکان تولید پروتئین در مقیاس بزرگ و پایدار را فراهم کنند. به طور کلی سیستم های بیان مخمر نسبت به سلول های پستانداران آسان تر و ارزان تر هستند و برخلاف سیستم های باکتریایی اغلب قادر به اصلاح پروتئین های پیچیده هستند. با این حال، سلول های مخمر سرعت رشد کمتری نسبت به سلول های باکتریایی دارند و شرایط رشد اغلب نیاز به بهینه سازی دارد.

سیستم های بیانی بدون سلول

در سیستم‌های بیان بدون سلول، پروتئین‌ها در شرایط آزمایشگاهی با استفاده از اجزای خالص شده ماشین‌های رونویسی و ترجمه مونتاژ می‌شوند. اینها شامل ریبوزوم‌ها، mRNA پلیمراز، tRNAها، ریبونوکلوئوتیدها و اسیدهای آمینه است. سیستم‌های بیان بدون سلول برای مونتاژ سریع بیش از یک پروتئین در یک واکنش ایده‌آل هستند. مزیت عمده این سیستم‌ها توانایی آن‌ها در ترکیب پروتئین‌ها با اسیدهای آمینه نشان‌دار یا اصلاح شده است. با این حال، سیستم‌های بیان بدون سلول گران هستند و استفاده از آنها از نظر فنی بسیار چالش برانگیز است.



شکل ۴: یک نمای کلی از انتقال وکتور به سلول و تولید پروتئین و تخلیص آن

References

Plomin, Robert, and John Crabbe. "DNA." *Psychological bulletin* 126.6 (2000): 806.

Li, Pan TX, Jeffrey Viereg, and Ignacio Tinoco Jr. "How RNA unfolds and refolds." *Annu. Rev. Biochem.* 77 (2008): 77-100.

Latchman, David S. "Transcription factors: an overview." *The international journal of biochemistry & cell biology* 29.12 (1997): 1305-1312.

Maneesriwongul, Wantana, and Jane K. Dixon. "Instrument translation process: a methods review." *Journal of advanced nursing* 48.2 (2004): 175-186.

Thomas, Christopher M. "Paradigms of plasmid organization." *Molecular microbiology* 37.3 (2000): 485-491.

Harbers, Matthias. "The current status of cDNA cloning." *Genomics* 91.3 (2008): 232-242.