زیست‌فناوری بهداشت

مقدمه

راهکارهای پزشکی و علمی سلامت انسان دو جنبه اصلی دارند: درمان و پیشگیری. بیماری‌های عفونی با استفاده از این دو جنبه مهار شده‌اند. برای پیشگیری از بیماری‌های عفونی، باید از راهکارهایی مانند کاهش آنها از طریق ایمن‌سازی، جداسازی، آلودگی‌زدایی و عدم شیوع در جمعیت استفاده کرد. در مورد بیماری‌های ژنتیکی خاص، پیشگیری از طریق غربالگری ژنتیکی، مشاوره قبل از تولد و ژن درمانی انجام می‌گیرد. در کشورهای در حال توسعه نظیر هند تکامل و توسعه موارد مرتبط با پیشگیری بیماری‌های انسان از طریق زیست فناوری جدید از اهمیت اجتماعی زیادی برخوردار است. روش‌ها و اکتشافات DNA نوترکیب با عملیات پزشکی بالینی با سرعت بسیار زیاد در هم آمیخته‌اند و این مسئله تأثیر مهمی در حوزه سلامت داشته است.

انسولین انسان، هورمون رشد، فعال‌کننده پلاسمینوژن بافتی، استرپتوکیناز و انواع اینترفرون، فراورده‌های تجاری این مسیر هستند. یکسری امکانات تشخیصی مبتنی بر مجموعه‌ای از تکنیک‌های ایمیونوشیمی[1] در تشخیص سرطان‌ها و سایر اختلالات ژنتیکی و همچنین بیماری‌های عفونی، در حال ورود به بازار است.

از مهم‌ترین کاربردهای پزشکی همسانه‌سازی، تشخیص بیماری‌های ژنتیکی در مراحل جنینی است. در آینده ممکن است برای معالجه برخی بیماری‌های ژنتیکی، قراردادن ژن‌های نرمال در سلول‌های فرد بیمار امکان‌پذیر شود. از ۵۰۰ بیماری ژنتیکی شناخته‌شده، کم‌خونی سلول داسی‌شکل، دیستروفی عضلانی و فیبروز کیستی سه بیماری هستند که از جهش‌های مغلوب ژن‌های منفرد ناشی می‌شوند. زیست‌فناوری برخی امکانات تشخیص و معالجهٔ بیماری‌ها را فراهم می‌کند.

۱-۹- تولید مولکول‌های بیولوژیکی نادر

مولکول‌های بیولوژیکی نادر که کاربرد بالینی دارند، شامل هورمون‌های پپتیدی و پروتئین‌هایی به عنوان فراورده‌های خونی موجود در افراد طبیعی هستند. زمانی‌که ژن‌های این فراورده‌ها همسانه‌سازی شود و تولید انبوه این پروتئین‌ها صورت گیرد، انتقال داخل وریدی باید کمبود پلی‌پپتید بیمار را تکمیل کند. مثال‌هایی از فراورده‌های مناسب در درمان جایگزین به این روش، هورمون‌هایی نظیر هورمون رشد و انسولین، فاکتورهای انعقاد خون (فاکتور VII ، IX ، VWF)، فاکتورهای مهم برای اریتروپوئیسس (اریتروپوئیتین)، هورمون‌های موثر در بازدارندگی یا درهم شکستگی انعقاد خون (مانند آنتی‌ترومبین III ، فعال‌کنندهٔ پلاسمینوژن بافت) و فاکتورهای هموارال دخیل در واکنش ایمنی (مانند اینترفرون‌های α، β، γ و اینترلوکین‌ها) است.

۱-۱-۹- مراحل تولید

مرحله اولیه تولید مولکول بیولوژیکی نادر برای کاربردهای بالینی، جداسازی ژن است. جداسازی ژنی که پروتئینی با کاربرد بالینی بالقوه را کد کند، به عهدهٔ مهندسی ژنتیک است، در حالی‌که پزشک ارزش بالقوه دستیابی به یک پروتئین نادر خالص و به‌کارگیری صحیح آن را تشخیص می‌دهد. به این منظور برای همسانه‌سازی یک ژن، ابتدا باید بافتی را که بیشترین بیان آن ژن را دارد، شناسایی کرد تا دارای بالاترین سطح mRNA باشد و احتمال همسانه‌سازی افزایش یابد. سلول‌های کشت‌شدهٔ حاصل از این بافت یا بافت بزرگی که آن ژن را بیان می‌کند مانند خون یا تومور به عنوان ماده شروع‌کننده استفاده می‌شود. RNA کل از این سلول‌ها استخراج می‌شود. چون اکثر RNA از نوع RNA ریبوزومی است، RNA کل به دست آمده را از یک ستون پلی داکسی تیمین (dT) عبور می‌دهند و RNA پلی آدنیله شده جدا می‌شود. mRNA یک پروتئین خاص را می‌توان در ادامه با جداسازی mRNA دارای یک اندازه خاص یا از طریق رسوبگذاری ایمنی[1] پلی‌ریبوزوم‌ها تفکیک کرد. این mRNA به cDNA تبدیل و در یک ناقل بیانی که امکان بیان و تنظیم مناسب در *E. coli*، مخمر یا سلول‌های پستانداران را فراهم خواهد کرد، همسانه‌سازی می‌شود. قطعه DNA همسانه‌سازی‌شده موردنظر را می‌توان با شناسایی سلول‌های تولیدکننده مولکول دارای فعالیت بیولوژیکی صحیح جدا کرد.

راهکار دیگر در شرایطی که اطلاعات ساختاری اولیه پروتئین (توالی اسید آمینه) در دسترس باشد، انجام‌پذیر است. از این اطلاعات برای سنتز الیگونوکلئوتیدهای کاوشگر برای جداسازی ژن آن پروتئین استفاده می‌شود. درصورتی‌که پروتئین وزن مولکولی کمی داشته باشد، کل ژن را می‌توان سنتز کرد و به این ترتیب الیگونوکلئوتیدهای سنتزشده در شرایط مصنوعی در نهایت در مهندسی ژنتیک کاربرد خواهند داشت.

یک روش جداسازی که به اطلاعات ساختاری ژنی یا پروتئین نیاز ندارد، سیستم همسانه‌سازی λ. gt11

است. در این سیستم از یک ناقل بیانی و یک آنتی‌بادی برای پروتئینی که ژن آن قرار است همسانه‌سازی شود، استفاده می‌شود. از طریق جداسازی کل mRNA دارای پلیA، تبدیل آن به cDNA و سپس با افزودن لینکرهای EcoRI و اتصال آن به DNA فاژ λ. gt11 هضم و یک کتابخانه λ.gt11 ساخته می‌شود. بعد از بسته‌بندی مصنوعی DNA فاژ نوترکیب، سلول‌های یک نژاد *E. coli* خاص آلوده شده و پلاک‌های فاژ با یک آنتی‌بادی نشاندار علیه پروتئینی که ژن آن جداسازی و همسانه‌سازی شده است، کاوش می‌شوند. اگر بخشی از ژن در ناقل فاژ همسانه‌سازی شود، یک پروتئین امتزاج یافته بتاگالاکتوزیداز حاصل از یک ژن *lacz* در DNA لامبدای λ. gt11 بیان می‌شود. اگر پروتئین هیبرید تولید شده از کلون cDNA/ فاژ حامل اپی‌توپی باشد که آنتی‌بادی آن را شناسایی کند، پلاک حاصل از آلودگی با آن نوترکیب خاص، به آنتی‌بادی اتصال خواهد یافت. این نوترکیب فاژی، تخلیص و تکثیر شده و بخشی از cDNA آن برای دستیابی به کپی ژنومی یا جداسازی cDNA با طول کامل استفاده می‌شود.

اکثر ژن‌های جدا شده با هدف خالص‌سازی یک فراورده بیولوژیکی نادر در *E. coli* بیان شده‌اند. برای بیان یک ژن همسانه‌سازی‌شده یوکاریوتی در یک سیستم پروکاریوت، ناقل بیان باید حامل سیگنال‌های شروع رونویسی و ترجمه پروکاریوتی مناسب باشد. هر چه جایگاه اتصال RNA پلیمراز بهتر باشد، پروموتر قوی‌تر خواهد بود و احتمال بیان فراورده ژنی بیشتر خواهد شد.

۲-۱-۹- مولکول‌های بیولوژیکی

انسولین از مولکول‌های بیولوژیکی موجود برای استفاده‌های بالینی بیماران دیابتی است. انسولین انسان از این نظر که هیچ اسیدآمینه متفاوتی ندارد و در نتیجه خاصیت آنتی‌ژنی کمتری دارد، بر انسولین‌های خوک و گاو که قبلا استفاده می‌شد، مزیت دارد. هورمون رشد به رشد بافت‌ها کمک می‌کند. سوماتوستاتین مانع رشد می‌شود و هورمون را آزاد می‌کند. اینترفرون‌ها به عنوان عوامل ضدویروس و ضد تومور عمل می‌کنند. ریلکسین[1] زایمان را تسهیل می‌کند. رنین تولید اریتروسیت را افزایش می‌دهد. فاکتور هشت آنتی‌هموفیلی، هموفیلی را کنترل می‌کند. فاکتور نه آنتی‌هموفیلی، علیه بیماری کریسمس مفید است. آنتی‌ترومبین سه برای رفع انعقاد خون استفاده می‌شود، اینترلوکین‌ها پاسخ‌های ایمنی را تقویت می‌کنند. فعال‌کننده پلاسمینوژن به متلاشی‌شدن لخته‌های ماهیچه قلب کمک می‌کند. سوپراکسیداز دیسموتاز به جلوگیری از تخریب سلولی ناشی از رادیکال آزاد کم خونی کمک می‌کند. فاکتور نکروزیس تومور به‌عنوان یک عامل ضد تومور عمل می‌کند.

۲-۹- آنتی‌بیوتیک‌ها، واکسن‌ها و هورمون‌های استروئیدی

معرفی پنی‌سیلین و برخی آنتی‌بیوتیک‌های جدید، بسیاری از بیماری‌های عفونی را رفع کرده و میلیون‌ها زندگی را نجات داده است.

۱-۲-۹- آنتی‌بیوتیک‌ها

آنتی‌بیوتیک‌ها ترکیبات ضد میکروبی حاصل از میکروارگانیسم‌ها هستند و برای درمان و گاهی برای پیشگیری از بیماری‌های عفونی استفاده می‌شوند. امروزه حدود ۱۰۰ آنتی‌بیوتیک برای استفادهٔ انسان وجود دارد که تعداد کمی از حدود ۵۰۰۰ ترکیب میکروبی را که بر ضد میکروب‌های دیگر عمل می‌کنند، شامل می‌شود. تعداد زیادی از آنتی‌بیوتیک‌هایی که در پزشکی استفاده نمی‌شوند، به‌دلیل عوارض جانبی مضر، پرهزینه بودن تولید انبوه یا عدم اختصاصیت، پذیرفته نشده‌اند. چهار گروه اصلی آنتی‌بیوتیک‌ها شامل پنی‌سیلین، تتراسایکلین، سفالوسپورین و اریترومایسین هستند که به‌صورت عمده فروشی در سال ارزشی حدود ۴ میلیارد دلار آمریکا دارند و همگی مثال‌های خوبی از هنر زیست‌فناوری هستند.

به‌کمک مهندسی ژنتیک می‌توان آنتی‌بیوتیک‌های تغییریافته تولید کرد. چنانچه سلول‌های تولیدکنندهٔ آنتی‌بیوتیک برای تولید متیل‌ترانسفراز القا شود تا واحدهای متیل را به مولکول‌های آنتی‌بیوتیک اضافه کند، آنتی‌بیوتیک جدیدی با ویژگی‌های مختلف و حتی مفیدتر تولید خواهد شد. مهندسی ژنتیک تلاش می‌کند که با انتقال ژن‌های خاص به میکروب‌ها، نژادهایی به‌وجود بیاورد که بتوانند مقادیر زیاد یا انواع جدیدی از آنتی‌بیوتیک را تولید کنند. همچنین از تکنیک‌های امتزاج سلولی برای تولید نژادهای بهتر به‌منظور تولید آنتی‌بیوتیک‌های جدید استفاده می‌شود.

۲-۲-۹- واکسن‌ها

واکسن‌ها نمونه‌های بیولوژیک مورد استفاده در پیشگیری از بیماری‌ها هستند. کاراترین روش پیشگیری از بیماری‌های عفونی، ایمنی‌زایی فعال از طریق برنامه‌های واکسیناسیون است. اصل کلی حفاظت ایمونولوژیکی از طریق واکسیناسیون، بر اساس آنتی‌ژن تغییریافته‌ای است که ویژگی بیماری‌زایی خود را از دست داده، و همچنان توان خود را در القا آنتی‌بادی‌هایی که آنتی‌ژن را خنثی‌کنند، حفظ کرده است. در ۱۹۶۷، بیش از ده میلیون نفر به آبله مبتلا شدند و بیماری در بیش از ۳۰ کشور شایع شد. امروزه این بیماری با برنامه‌های وسیع واکسیناسیون ریشه‌کن شده است.

بسیاری از واکسن‌های دیگر نیز برای مبارزه با آلودگی‌های ویروسی مانند فلج اطفال، تب زرد، هاری، سرخجه (سرخک آلمانی) و هپاتیت B با موفقیت استفاده شده‌اند.

راهکار DNA نوترکیب برای تهیهٔ واکسن‌ها، همانند جداسازی مولکول‌های بیولوژیکی نادر است. در ابتدا توالی DNA عامل بیماری‌زایی مثلا عامل تولید سم را شناسایی می‌کنند. با حذف این توالی‌های خاص، میکروارگانیسم درحالی‌که تمام خصوصیات دیگر خود را حفظ کرده است، به نژادی ضعیف تغییرشکل می‌دهد و می‌توان از آن به عنوان یک عامل ایمنی‌زایی استفاده کرد. این راهکار در تولید واکسن علیه تب تیفوئید و اسهال ناشی از نژادهای اینتروتوکسیژنیک *E. coli* به‌کار می‌رود.

راهکار دیگر، شناسایی آنتی‌ژن‌های سطحی یک عامل عفونی است. ژن‌هایی که پروتئین آنتی ژن حفاظتی را کد می‌کنند، شناسایی و همسانه‌سازی شده و تشدید بیان می‌شوند. سپس براساس پروتکل استاندارد واکسیناسیون، پروتئین تخلیص شده به فرد تلقیح می‌شود و فرد به پروتئین نوترکیب پاسخ ایمنی نشان می‌دهد. در صورت موفقیت، فرد واکسینه شده قادر به مبارزه موثر با حمله بعدی عامل عفونی خواهد بود. درصورتی‌که بتوان ناحیه آنتی‌ژن سطحی اصلی ایمنی را که شاخص حفاظتی آنتی‌ژن است تعیین کرد، این روش بهبود می‌یابد. می‌توان با سنتز پپتیدهای کوچک و همیوغی با یک مولکول حامل از آن به‌عنوان منبع آنتی‌ژن در القا واکنش ایمنی حفاظتی استفاده کرد.

راهکار دیگر در شناسایی یک آنتی‌ژن پروتئینی، استفاده از آنتی‌بادی‌های مونوکلونال است. این راهکار در تولید واکسن ضد مالاریا نتایج شایان توجهی داشته است. عامل مسبب، یک گونه پارازیت *پلاسمودیوم* است. اسپوروزوئیت[1] مرحله‌ای از چرخه زندگی *پلاسمودیوم* است که هنگامی که پشهٔ آنوفل ماده برای تغذیه تخم‌های خود از خون تغذیه می‌کند، آلودگی وارد جریان خون می‌شود. در این مرحله یک آنتی‌ژن سطحی که واکنش ایمنی ایجاد می‌کند، بیان می‌شود. ژن این آنتی‌ژن با استفاده از آنتی‌بادی‌های مونوکلونال برای غربال DNA نوترکیب کتابخانهٔ بیانی *E. coli* همسانه‌سازی شد. این کتابخانه DNA پلاسمیدی حاملcDNA *پلاسمودیوم* جداسازی‌شده به کمک mRNA اسپوروزوئیت است که با یک پروموتر *E. coli* امتزاج یافته است. زمانی‌که ژن امتزاج‌یافتهٔ کدکننده cDNA آنتی‌ژن سطحی اسپوروزوئیت جداسازی شد، پلاسمید تحت تأثیر جهش‌زایی Tn5 قرار گرفت و اپی‌توپ غالب آنتی‌ژن مشخص شد. توالی نوکلئوتیدی این cDNA نوترکیب، امکان سنتز پپتیدهایی را فراهم کرد که مشابه اپی‌توپ غالب در القای پاسخ ایمنی عمل می‌کنند.

راهکار دیگر ایجاد واکسن، استفاده از ژنوم نوترکیب ویروس وکسینا[2] است. در این روش، DNA اپی‌توپ‌های آنتی‌ژن سطحی ویروس‌هایی مانند هپاتیت نوع B یا آنفلوانزای نوع A یا پارازیت‌هایی نظیر *پلاسمودیوم* در ژنوم ویروس وکسینا همسانه‌سازی و این ژن‌های همسانه‌شده تحت پروموتر ویروس وکسینا بیان می‌شوند. تلقیح فرد با ویروس وکسینای نوترکیب موجب آلودگی موضعی، تکثیر ویروس و بیان فراورده‌های ژنی حاصل از ژنوم نوترکیب می‌شود. در این فرایند، میزبان مبتلا تحت تأثیر آنتی‌ژن‌های نوترکیب وکسینا قرار می‌گیرد و نسبت به آنها واکنش ایمنی حفاظتی نشان می‌دهد. این فرایند نوعی واکسن چند ظرفیتی ایجاد می‌کند. تلقیح با واکسن نوترکیب حاصل از این اپی‌توپ‌های همسانه شده، ایمنی میزبان به وکسینا، هپاتیتB، آنفلوانزا و *پلاسمودیوم* را ایجاد خواهد کرد. در جدول ۱-۹ فهرستی از واکسن‌هایی که به کمک روش‌های DNA نوترکیب تولید می‌شوند، آورده شده است.

جدول ۱-۹- واکسن‌هایی که بر اساس روش‌های DNA نوترکیب تولید می‌شوند.

	Organism	Cloned gene
(a)	**Virus**	
	Hepatitis B	Hepatitis B surface antigen (Hbs Ag)
	Influenza	Hemaglutin in/Neuraminidase
	Herpes	Various coat subunits
	Foot and Mouth	VPI capsid protein
	HIV (HTL VIII, LA V)	Surface antigen
(b)	**Parasites**	
	Plasmodium (Malaria)	Sporozoite surface antigen
	Trypanasoma (Sleeping	Merozoite surface antigen
	Sickness)	Surface antigen
	(Chagas Disease)	
	Schistosoma (Bilharzia)	Surface antigen
	Trichinella (Trichinosis)	Surface antigen
	Filaria	Surface antigen

۳-۲-۹- هورمون‌های استروئیدی

هورمون‌ها پیام‌آوران شیمیایی بدن هستند. این مولکول‌های آلی پیچیده، اجزای شیمیایی متغیری دارند و از غدد درون‌ریز ترشح می‌شوند. هورمون‌ها تمام انواع اطلاعات حاصل گروهی از سلول‌ها را به بافت دور دیگری انتقال می‌دهند. تولید هورمون‌های استروئیدی با ترکیبی از فرایندهای شیمیایی و میکروبیولوژیکی تولید می‌شوند. تغییر میکروبیولوژیکی مولکول‌ها در یک واکنش شیمیایی وقتی مهم است که تغییر شیمیایی موجب تشکیل دو یا چند ایزومر شود و تنها یکی از ایزومرها فعال باشد، یا اینکه ممکن است واکنش شیمیایی حاوی مخلوطی از ترکیبات به عنوان فراورده باشد، درحالی‌که فراورده میکروبی، نوعی ترکیب خالص است. مثال‌های تغییر شکل آنزیمی یا میکروبی شامل تبدیل سادهٔ گلوکز به سوربیتول یا اسید گلوکونیک تا تبدیل‌های اختصاصی مولکول‌های استروئیدی و پروستاگلاندین است.

بسیاری از هورمون‌ها استروئیدی هستند. از سال ۱۹۳۰، کورتیزون و هیدروکورتیزون به هورمون‌های آدرنال معروف بودند، اما در ۱۹۵۰ مشخص شد که این هورمون‌ها از التهاب روماتیسمی مفاصل جلوگیری می‌کنند. منابع موجود (غدد آدرنال حیوانات ذبح‌شده) پاسخگوی افزایش تقاضا برای این هورمون‌ها نیست. تبدیل شیمیایی منابع نسبتا ارزان استرول یعنی اسیدهای صفراوی، لانوسترول از پشم، ارگوسترول از مخمر یا گلیکوزیدهای استرول گیاهی مختلف، دشوار، پیچیده و از این‌رو گرانقیمت بود. همچنین تعداد مراحل واکنش موجب افزایش هزینه هورمون‌های نیمه‌مصنوعی شده بود (۲۰۰ دلار به‌ازای هر گرم).

از این‌رو شناخت اینکه انزیم‌های میکروبی بدون هیچ واکنش جانبی مهمی می‌توانند واسطهٔ افزودن یا حذف گروه‌های خاصی باشند، پیشرفت مهمی در تولید هورمون‌های استروئیدی بود. کورتیزون تجاری در ۱۹۵۲ تولید شد. شیمیدان‌ها کشف کردند که سی‌وهفت واکنش شیمیایی مجزا در تولید کورتیزون دخالت دارند. در همین زمان مشخص شد که کپک نان *Rhizopus arrhizus* پروژسترون را به ترکیبی تبدیل می‌کند که کورتیزون از آن خیلی آسان‌تر تولید می‌شود. قیمت کورتیزون به ۶ دلار آمریکا به‌ازای هر گرم کاهش یافت و تا ۱۹۸۰ اصلاحات بعدی این قیمت را به ۰/۴۶ دلار کاهش داد. در حال حاضر بسیاری از دست‌ورزی‌هایی که در گروه وسیعی از میکروارگانیسم‌ها انجام می‌گیرد، در رابطه با قابلیت آنزیم در تغییر ساختار استرول است. میکروارگانیسم‌ها برای تغییر کارایی سیستم‌های آنزیمی خود دست‌ورزی ژنتیکی می‌شوند.

۳-۹- آزمون‌های تشخیصی

ابزارهای تشخیص از اجزای مهم عملیات پزشکی هستند. تشخیص سریع و دقیق، اولین و مهم‌ترین مرحله در مبارزه با بیماری است. گاهی علائم بیمار بسیار واضحند و نشان از یک بیماری خاص دارند و پزشکان مشکل چندانی در تشخیص صحیح ندارند. اما در موارد دیگر مجموعه‌ای از علائم خاص، ممکن است دلایل مختلفی داشته باشند و شناسایی بیماری به تجزیه‌وتحلیل سایر آزمون‌ها بستگی دارد. پزشکی مدرن به آزمون‌های آزمایشگاهی در تشخیص بسیاری از بیماری‌ها وابسته است. روش‌های زیست‌فناوری امکان آزمون‌های تشخیصی بسیار تخصصی را میسر می‌سازند.

در حوزهٔ بیماری‌های عفونی، تشخیص در بسیاری از موارد به جداسازی و شناسایی یک عامل بیماری‌زای ویژه، باکتری، ویروس یا انگل وابسته است. یکی از ویژگی‌های مورد استفاده در شناسایی ویروس‌ها، باکتری‌ها یا عوامل دیگر، ساختار سطحی آنهاست. در تشخیص سرولوژیکی چنین موجوداتی از آنتی‌سرم‌های تهیه‌شده علیه اجزای سطحی استفاده می‌شود. در مورد بیماری‌های باکتریایی، روش شناسایی به بررسی تعداد زیادی از ویژگی‌ها همچون شکل ظاهری کلونی، آزمون‌های بیوشیمیایی نظیر تخمیر قند، اسیدهای آمینه و تولید آنزیم، شناسایی سرولوژیکی و غیره نیاز دارد.

عدم شناسایی میکروارگانیسم ممکن است پیامدهای جدی متعددی نظیر مدیریت و کنترل نادرست داروهای ضد باکتریایی را به‌همراه داشته باشد. طراحی آزمون تشخیص برای شناسایی میکروارگانیسم‌ها از طریق تکنیک‌های زیست‌فناوری، تشخیص سریع و اختصاصی را میسر می‌سازد.

استفاده از تکنیک هیبریدوما که در تولید آنتی‌بادی‌های مونوکلونال، علیه شاخص‌های آنتی‌ژنی خاص سطح سلول انجام می‌گیرد، روش موثری را برای شناسایی دقیق میکروارگانیسم‌های متعدد فراهم می‌کند. آنتی‌بادی‌های مونوکلونال در شناسایی آلودگی‌های انگلی متعدد نظیر شیستوزومیاز[1]، مالاریا و تریپانوزومیاز[2] موثرند و برای شناسایی برخی آلودگی‌های ویروسی نظیر فلج اطفال[3] نیز می‌توان از آنها استفاده کرد.

با توجه به تکنیک‌های شناسایی جدید، از بین بیماری‌های باکتریایی، اسهال‌های عفونی که اغلب به‌وسیلهٔ *E. coli* انتروتوکسیژنیک ایجاد می‌شوند، به‌طور گسترده‌تری بررسی شده‌اند. در کشورهای در حال توسعه، این باکتری علت اصلی بیماری اسهال در افراد بالغ و کودکان به‌شمار می‌رود و بیماری‌زایی آن بیشتر به‌دلیل وجود دو انتروتوکسین (LT و ST) است که در رودهٔ کوچک فعالند و تغییر در متابولیسم هیدروسالین و متعاقب آن اسهال را موجب می‌شوند.

تکنیک‌های زیست‌فناوری در ایجاد آزمون‌های آشکارسازی *E. coli* انتروتوکسیژنیک نقش داشته‌اند. این آزمون‌ها از روش ساده‌ای بهره می‌برند که به‌طور معمول در آزمایشگاه‌های کلینیکی کاربرد دارد. ژن‌هایی که انتروتوکسین‌های[1] LT و ST را کد می‌کنند، جداسازی و با استفاده از تکنیک‌های DNA نوترکیب شناسایی می‌شوند. زمانی‌که این توالی‌ها به‌طور مصنوعی با P^{32} نشاندار شوند، به‌عنوان کاوشگر توالی‌های DNA همولوگ کاربرد خواهند داشت. این روش ژنی که انتروتوکسین‌ها را کد می‌کند، آشکار می‌کند.

توالی‌های DNA اختصاصی موجود که به‌عنوان کاوشگر عمل کنند، درصورتی‌که بتوانند توالی‌های DNA تکراری اختصاصی یک موجود را تشخیص دهند، حساسیت بیشتری خواهند داشت. قطعات کوتاهی از DNA به‌نام کاوشگرها برای اتصال بسیار اختصاصی به برخی قطعات دیگر DNA طراحی می‌شوند و می‌توانند به‌عنوان مثال برای کشف اینکه آیا خون بیمار، حامل DNA یک باکتری خاص باشد یا نه، و بنابراین به‌عنوان یک کلید تشخیص به کار روند. طراحی کاوشگر برای جستجوی تقریبا هر نوع از DNA موردنظر محققان یا پزشکان امکان‌پذیر است. کاوشگرها هم در شناسایی انواع آلودگی‌های میکروبی و هم در شناسایی نقص‌های ژنتیکی یا آلودگی خون فرد اهداکننده، بررسی مناسب بودن اندام‌ها برای فرد دیگر و کمک به تامین‌کننده‌های بذر برای آزمون کیفیت بذور نقش دارند.

این تکنیک بر این اساس است که دو رشتهٔ DNA مکمل به‌هم می‌چسبند. در هنگام بررسی اینکه نمونه‌ای حامل یک نوع DNA ویژه (مثلاً از یک میکروب) هست یا نه، متخصص زیست‌فناوری از یک کاوشگر DNA در نمونه استفاده می‌کند. کاوشگر مکمل بخشی از DNA مورد جست‌وجو است. اگر کاوشگر مکمل خود را بیابد، متصل می‌شوند و اگر DNA هدف موجود نباشد، نتیجهٔ آزمون منفی خواهد بود.

آزمایش‌های متعددی نظیر VDRL[2] (آزمایشگاه تحقیقات بیماری‌های مقاربتی)، RPR[3] (رژین پلاسمای سریع)، ART[4] (آزمون رژین اتومات) و STS[5] (آزمون استاندارد سفلیس) برای تشخیص سفلیس وجود دارد. این آزمایش‌ها برای رسوب آنتی‌بادی در میزبان وابسته‌اند.

با استفاده از روش‌های DNA نوترکیب، می‌توان به‌آسانی آنتی‌بادی اختصاصی *T. Pallidum* را برای استفاده در آزمون آزمایشگاهی تشخیصی جدا کرد. ابتدا DNA *T. Pallidum* جداسازی و از آن برای ساخت یک کتابخانهٔ ژنومی λ gt11 استفاده می‌شود. بعد از بسته‌بندی کتابخانه فاژ *T. Pallidum* نوترکیب و آلوده‌سازی نژاد باکتریایی مناسب، پلاک‌های فاژ با استفاده از سرم‌های یک بیمار سفلیسی ارزیابی می‌شوند. وقتی آنتی‌ژن‌های مونوکلونال *T. Pallidum* از سرم پلی‌کلونال بیمار جدا شوند، فاژهای نوترکیب برداشته و رشد داده می‌شوند. توالی‌های DNA *T. Pallidum* تشدید بیان می‌شوند. با توجه به اینکه هیبرید، حامل بخشی از پروتئین بتاگالاکتوزیداز است، تخلیص پروتئین نوترکیب راحت انجام می‌گیرد. یک ستون جذبی دارای آنتی‌بادی آنتی بتاگالاکتوزیداز برای جداسازی پروتئین‌های آنتی‌ژن *T. Pallidum* بتا گالاکتوزیداز نوترکیب استفاده می‌شود. جداسازی به پروتئین‌های آنتی‌ژن سطحی *T. Pallidum* اختصاصی منجر می‌شود که برای تلقیح حیوانات و همچنین جداسازی آنتی‌بادی‌های مونوکلونال یا پلی‌کلونال کاربرد دارد. پس از آن می‌توان از آنتی‌بادی در یک آزمون آزمایشگاهی تشخیصی ویژه برای آشکارسازی وجود *T. Pallidum* استفاده کرد.

اخیر شواهد در زمینهٔ سرطان‌شناسی نشان می‌دهند که اکثراً و نه همهٔ تومورهای انسانی با تغییر بیان انکوژن‌ها مرتبطند. شاخص‌های پیش‌بینی‌شده موجود برای بیماران سرطانی به تشخیص مرحله بالینی سرطان وابسته است که برای پیش‌بینی مشکلات آینده در خلال دوره بیماری مفید است. تشخیص تومور بر اساس شدت بیان یک انکوژن تغییریافته یا نشانگرهای سیتوژنتیکی است که ممکن است ابزار دقیق‌تری برای پیش‌بینی و راهکار مولکولی منطقی‌تری برای مداخله باشد.

آزمون الایزا سریع‌ترین و کاراترین روش کاربردی برای هدف تشخیصی و نوعی آزمون سرولوژیکی حساس در آشکارسازی و کمی‌سنجی ویروس‌ها، پروتئین‌ها و مولکول‌های کوچک (مانند هورمون‌ها) موجود بر روی یک پلیت میکرولیتری است. در معمول‌ترین حالت مورد استفاده آزمون الایزا، از تکنیک ساندویچی آنتی‌بادی مضاعف استفاده می‌شود. با استفاده از نشانگر DNA تکنیک حساس‌تری به‌نام ایمیونو PCR [1] در تشخیص‌های بالینی به‌کار برده می‌شود.

۱-۳-۹- تشخیص قبل از زایمان

تعداد بیماری‌های شناخته‌شدهٔ ژنتیکی انسان حدود ۲۵۰۰ مورد است. در اکثر این بیماری‌ها، تنها علائم بیماری مشخص هستند و برای بیماری‌های ژنتیکی نظیر فنیل کتونوری، هموفیلی و دیابت تنها یک معالجهٔ تسکینی به‌کار می‌رود. در برخی موارد دیگر حامل بیماری هرگز یک زندگی طبیعی ندارد و تشخیص و سقط جنین تنها راه است. حدود ۴۰ بیماری مغلوب مختلف را می‌توان قبل از زایمان تشخیص داد.

برای تشخیص بیماری وراثتی قبل از زایمان در حالتی که کاوشگر موجود باشد، در خلال آمنیوسنتز معمول سه ماهه اول بارداری سلول‌ها از مایع آمنیوتیک به‌دست می‌آیند و در آزمایشگاه کشت می‌شوند. DNA این سلول‌ها جدا و با آنزیم‌های برشی هضم می‌شود و سپس بر روی ژل آگارز تفکیک و طی سادرن بلات به نیتروسلولز انتقال می‌یابد. ساترن بلات با استفاده از DNA والدین حاصل از لنفوسیت‌های پیرامونی کاوش می‌شود. درصورتی‌که برای بررسی از سلول‌های حاصل از تکه‌برداری کوریون[1] به‌جای مایع آمنیوتیک کشت‌شده استفاده شود، این روش را می‌توان در اوایل بارداری انجام داد.

۲-۳-۹- تالاسمی بتا

ناهنجاری‌های وراثتی سنتز هموگلوبین (تالاسمی) در سطح DNA بسیار بررسی شده‌اند. تالاسمی به شرایطی اطلاق می‌شود که سنتز یکی از پلی‌پپتیدهای گلوبین بسیار کم شده یا گاهی کاملا متوقف می‌شود. از نظر تئوری نقص در سنتز پروتئین را می‌توان به انحراف در هر یک از مراحل رونویسی، پردازش RNA، پایداری RNA یا ترجمه نسبت داد. چنین انحرافاتی ممکن است به‌دلیل جهش‌های نقطه‌ای که به تغییر قالب منجر می‌شوند، یا به‌دلیل جهش‌های بی‌معنی یا کمبودهای تمام یا بخشی از خود ژن باشد. این نقایص در بتا تالاسمی مشاهده شده‌اند.

بتا تالاسمی که در آن سنتز بتاگلوبین کاملاً متوقف می‌شود، به‌دلیل جهش نقطه‌ای در اسیدآمینه ۱۷ یا ۳۹ پدید می‌آید. در هر دو مورد، جهش سبب ایجاد یک کدون خاتمهٔ ترجمه می‌شود. انواع دیگری از بتا تالاسمی وجود دارد که مربوط به حذف یا اضافه در توالی کدکنندهٔ بتا گلوبین است. این مسئله به تغییر در قالب خواندن منجر می‌شود.

۳-۳-۹- کم‌خونی سلول داسی‌شکل

کم‌خونی سلول داسی‌شکل از جهشی حاصل می‌شود که در آن تریپلت GTG (اسید گلوتامیک) در موقعیت ۶ زنجیرهٔ بتاگلوبین هموگلوبین، به GTG (والین) تغییر می‌کند. در نتیجه، هموگلوبین داسی‌شکل در سلول‌های قرمز خون کریستالی می‌شود، انعطاف‌پذیری سلول‌ها کاهش می‌یابد و به‌وسیلهٔ طحال از بین می‌رود و کم‌خونی ایجاد می‌شود. جهش A به T در توالی بازی ژن بتاگلوبین موجب حذف جایگاه برش آنزیم *Dde I* می‌شود. بنابراین جهش هموگلوبین داسی‌شکل را می‌توان از طریق هضم DNA سلول داسی‌شکل و طبیعی با *Dde I* و هیبریداسیون سادرن بلات تشخیص داد. DNA طبیعی دو قطعه *Dde I* ۲۰۱ و ۱۷۵ جفت بازی ایجاد می‌کند درحالیکه DNA سلول داسی‌شکل فقط یک قطعه ۳۷۶ جفت بازی به‌وجود می‌آورد.

۴-۳-۹- ایدز

ایدز (سندروم نقص ایمنی اکتسابی) توجه بسیاری از پزشکان و عموم مردم را به‌خود معطوف کرده است. در سال ۱۹۸۱ که دکتر لوک مونتانیه[۱] ویروس ایدز را کشف کرد، مبتلایان بیشتر به چند گروه خاص به‌ویژه مردان همجنس‌باز، مصرف‌کنندگان مواد مخدر تزریقی، هموفیلی‌ها و اهالی هائیتی محدود می‌شد. تأثیرات ایدز متنوع است، اما عمومی‌ترین آنها کاهش شدید توانایی بیمار در مبارزه با آلودگی‌هایی است که به مرگ تدریجی می‌انجامد. اثرات تضعیف‌کنندهٔ ایدز غالبا به یک نوع نادر سرطان به نام سارکومای کاپوسی[۲] و پنومونیای بسیار شدید منجر می‌شود. با غلبهٔ بیماری، احتمال بهبود بیماری بسیار کاهش می‌یابد.

عامل ایدز ویروس نقص ایمنی[۳] (HIV) است که به LAV یا HTLV III نیز معروف است. دو ویروس HIV-1 و HIV-2 با ویروس‌های سیمیان (SIV) بیشتر از خود اشتراک دارند. از بین این دو ویروس، HIV-2 بیماری‌زایی کمتری دارد و عامل ۱۰ درصد موارد ایدز (یا کمتر) است، درحالی‌که HIV-1، علت ۹۰ درصد موارد ایدز به شمار می‌آید. در فرد آلوده، ویروس در خون و سایر مایعات بدن مانند منی، ترشحات واژینال، و... موجود است، اما در بزاق دهان وجود ندارد. این بیماری از طریق سرنگ‌های آلوده، تزریق خون آلوده و... انتقال می‌یابد. ویروس پس از ورود به بدن، در سیستم ایمنی بدن عمل کرده و سلول خونی سفید به‌نام CD_4 را تخریب می‌کند. به این ترتیب فرد توان مبارزه با آلودگی را از دست می‌دهد.

پزشکان و محققان همچنان نیازمند روش‌های مؤثر برای معالجه یا پیشگیری از ایدز هستند، اما دو راهکار زیست‌فناوری توجه زیادی را به خود معطوف کرده است. اکثر هموفیلی‌ها به دلیل دریافت فراورده‌های پروتئینی خونی آلوده، مستعد ایدز هستند. برای رفع این مشکل تولید پروتئین‌های آنتی‌هموفیلی مهندسی‌شده به‌کمک همسانه‌سازی ژن‌های فاکتورهای هشت و نه و همچنین تولید پروتئین با استفاده از باکتری‌ها در مقیاس کوچک، انجام گرفته است. علاوه‌براین، واکسن‌های مهندسی شدهٔ ژنتیکی با استفاده از پوشش پروتئینی ویروس ایدز در حال تولید است.

۴-۹- ژن‌درمانی از طریق جایگزینی ژن

ژن‌درمانی تغییر ژنتیکی سلول‌های بیمار در مبارزه با بیماری است. به‌طور ساده ژن درمانی انتقال ژن‌های طبیعی و جایگزینی با ژن‌های ناقصی است که پروتئین ضروری را تولید نمی‌کنند. در این فرایند، محققان با افزودن ژن‌های سالم، سلول‌هایی تولید کرده و سپس آنها را در بیمار جایگزین می‌کنند. رتروویروس‌ها توانایی کدکردن DNA از روی RNA را دارند و DNA را در کروموزوم‌های انسان ادغام می‌کنند. به این ترتیب آنها ژن‌های جدیدی را به سلول حمل می‌کنند و این ژن‌های جدید کدهای ژنتیکی پروتئین‌هایی را که بیمار فاقد آنهاست فراهم می‌آورند.

می‌توان مادهٔ ژنتیکی را به طور مستقیم به سلول‌های بیمار انتقال داد (ژن‌درمانی *in vivo*) یا سلول‌ها را از بیمار برداشت و ماده ژنتیکی را در شرایط مصنوعی و قبل از جایگزینی سلول‌ها در بیمار به آنها منتقل کرد (ژن‌درمانی *ex vivo*).

معیارهای ضروری متعددی برای جایگزینی ژن وجود دارند که در معالجه به‌کار می‌روند. این معیارها عبارتند از: ۱) کارایی زیاد انتقال ژن، ۲) تکثیر پایدار ژن منتقل‌شده به‌عنوان یک ترانسژن ادغامی یا یک عنصر خارج کروموزومی، ۳) بیان کارای فراورده ژن در بافت هدف، ۴) ایمنی کافی در خلال دورهٔ انتقال ژن و سراسر زندگی بیماری.

ناقل‌های ژن‌درمانی

ژن‌درمانی با سلول‌های غیرزاینده که اغلب سلول‌های سوماتیکی هستند، نظیر سلول‌های خون، سلول‌های پوست، مغز استخوان، روده و یا هر سلول دیگری به‌جز سلول اسپرم یا تخم انجام می‌گیرد. استفاده از سلول‌های سوماتیکی تضمین می‌کند که هیچ انتقال ژنی به نسل بعدی وجود ندارد. اکثر تلاش‌های ژن‌درمانی منحصرا ژن‌درمانی سوماتیکی هستند. زمانی که اسپرم، تخمک و جنین در ژن‌درمانی استفاده شوند، به آن ژن درمانی لایهٔ زاینده[1] می‌گویند.

مولکول حامل که وکتور (ناقل) نامیده می‌شود، از کلمهٔ لاتین *vehere* (به معنی حمل کردن) منشأ گرفته است و برای انتقال ژن به سلول‌های سوماتیکی استفاده می‌شود. ناقل ممکن است یک پلاسمید، کاسمید یا ویروس باشد. رتروویروس، معمول‌ترین ناقل در آزمایش‌های ژن‌درمانی است. رتروویروس نوعی ویروس RNA است که به سلول میزبان نفوذ کرده و از ترانس‌کریپتاز معکوس برای کدکردن مولکول DNA که دارای توانایی ادغام شدن در DNA سلول است، استفاده می‌کند. پس از اینکه رتروویروس به سلول میزبان وارد شد، RNA به عنوان یک الگو در سنتز DNA استفاده می‌شود. سپس، این DNA به درون DNA ژنوم میزبان وارد می‌شود. رتروویروس در شکل DNAدار خود پروویروس نامیده می‌شود. معمولاً یک پروویروس آسیبی به سلول وارد نمی‌کند، اما برخی از رتروویروس‌ها مانند ویروس نقص ایمنی انسانی (HIV) سندروم نقص ایمنی اکتسابی (ایدز) ایجاد می‌کنند. رتروویروس‌ها در انتقال DNA به سلول‌ها بسیار کارا هستند و ادغام DNA ویروس معمولاً در یک جایگاه کروموزومی رخ می‌دهد. DNA ادغام‌شده امکان معالجه دائمی بیماری را فراهم می‌کند.

برای اینکه از رتروویروس به عنوان ناقل استفاده شود، باید ژن‌های زیان‌آور ویروس حذف شوند. زمانی که رتروویروس تغییر کند، محققان می‌توانند ژن‌های انسانی را برای درمان به بیمار وارد کنند. چون رتروویروس یک ویروس RNA دار است، ژن‌های انسانی به‌صورت RNA مکمل (و نه DNA طبیعی) درج می‌شوند. ویروس‌های ناقل فاقد ژن‌های سنتز برخی از بخش‌های ضروری هستند و ویروس‌های ناقل قادر به تکثیر در سلول‌ها نیستند. از این‌رو، آنها فقط یک جریان یکطرفه به سلول دارند و زمانی‌که مادهٔ ژنتیکی را منتقل می‌کنند، نمی‌توانند سلول را ترک کنند. در گروه رتروویروس، عمومی‌ترین ابزاری که به‌عنوان ناقل استفاده می‌شود، یک نژاد از ویروس سرطان خون موش‌سانان است. این ویروس نوعی سرطان خون، یعنی سرطان سلول‌های سفید خون را در موش ایجاد می‌کند. پروتئین پوششی این ویروس به‌دلیل شباهت زیاد به آسانی به یک پروتئین سطحی سلول انسان می‌چسبد. ویروس سرطان خون تنها سلول‌های در حال تقسیم را آلوده می‌سازد و می‌تواند قطعاتی تا ۸ کیلوباز را تحمل کند.

آدنوویروس‌ها نیز به‌عنوان ناقل استفاده می‌شوند. آدنوویروس‌ها، ویروس‌هایی از جنس DNA هستند که عفونت‌های مجرای فوقانی تنفسی را ایجاد می‌کنند و به مخاط تنفسی، قرنیه و دستگاه گوارش تمایل دارند. بر خلاف رتروویروس‌ها، آدنوویروس‌ها می‌توانند انواعی از سلول‌ها را آلوده کنند. ورود آنها به سلول، از طریق اندوسیتوز و با واسطهٔ گیرنده رخ است. به‌رغم کارایی انتقال، ظاهراً DNA ادغام نمی‌شود و از این‌رو بیان ژن‌ها تنها در کوتاه‌مدت حفظ می‌شود. ناقل‌هان آدنوویروس قطعات ۸ – ۷ کیلوبازی را می‌پذیرند.

از ویروس تبخال[1] هم به‌عنوان ناقل می‌توان استفاده کرد. ویروس تبخال در سیستم عصبی مرکزی عمل کرده و می‌توانند آلودگی‌های نهفته طولانی‌مدت در سلول عصبی ایجاد کنند. این ناقلان غیرادغامی هستند و بیان طولانی‌مدت ژن‌های انتقالی امکان‌پذیر نیست. کاربردهای اصلی آنها، انتقال ژن‌ها به اعصاب برای معالجهٔ بیماری‌های عصبی نظیر بیماری پارکینسون و معالجه تومورهای سیستم عصبی مرکزی است. آنها در مقایسه با موارد قبلی ظرفیت حمل قطعه تا بیش از ۲۰ کیلوباز را دارند.

ویروس‌های خویشاوند آدنوویروس نیز به‌عنوان ناقل کاربرد دارند. ویروس‌های خویشاوند آدنو گروهی از ویروس‌های DNA دار تک‌رشته‌ای کوچکند و معمولاً نمی‌توانند بدون آلودگی توأم به‌واسطهٔ ویروس کمکی[2]، آلودگی موفقی ایجاد کنند. ویروس کمکی ویروسی است که برخی از کارکردهای ویروس نظیر تکثیر DNA ویروس و بسته‌بندی ویروس را فراهم می‌آورد.

ویروس خویشاوند آدنو در جایگاه مشخصی از DNA کروموزومی سلول ادغام می‌شود. آلودگی بعدی با یک آدنوویروس (ویروس کمکی)، DNA ویروسی ادغام‌شده را فعال می‌کند. ناقلان ویروسی مرتبط با آدنو، تنها قطعاتی تا ۴/۵ کیلوباز را در خود جای می‌دهند. احتمال نوترکیبی ویروس‌های منتقل‌شده با رتروویروس‌های درون‌زاد بسیار کم است، اما نگرانی‌هایی در مورد ایمنی سیستم‌های ناقل ویروسی وجود دارد. برخی ناقلان غیرویروسی نیز در دسترسند.

ناقل‌هایی به غیر از ویروس‌ها

کروموزوم مصنوعی انسان مولکول DNA است که به‌طور مصنوعی و با خصوصیات یک کروموزوم انسانی به عنوان ناقل معرفی شده‌است. این ناقل حامل ژن‌های انسانی است که برای قرار گرفتن در یک ویروس یا پلاسمید بسیار بزرگند و نسبت به ناقل‌های دیگر پروتئینی سازگارتر با پروتئین انسان را کد می‌کند. کروموزوم مصنوعی انسان شبیه کروموزوم طبیعی انسان رفتار می‌کند و در خلال میتوز از سلولی به سلول دیگر انتقال می‌یابد. این ناقل میکروکروموزوم انسانی خودتکثیرشوندهٔ کاملا مصنوعی و دارای حدود یک‌پنجاهم تا یک‌دهم اندازهٔ یک کروموزوم انسانی طبیعی است.

در برخی موارد، DNA به‌طور مستقیم با سرنگ و سوزن به بافت خاصی تزریق می‌شود. راهکار تزریق مستقیم دیگر، استفاده از تکنیک بمباران ذره‌ای است و DNA با رسوبات فلزی (مانند گلوله‌های طلا) پوشانده شده و با گاز هلیم فشرده به درون سلول‌ها شلیک می‌شود.

اندوسیتوز روش دیگری است که در آن DNA با یک مولکول هدف که قادر است به گیرنده سطحی سلولی ویژه اتصال یابد، امتزاج می‌یابد، اندوسیتوز القا شده و DNA با استفاده از فشردگی گاز هلیم با تفنگ ویژه‌ای به درون سلول منتقل می‌شود. امتزاج طبیعی با واسطه اتصال کووالانسی پلی‌لیزین به مولکول گیرنده صورت می‌گیرد و سپس اتصال DNA باردار منفی به جزء پلی‌لیزین باردار مثبت انجام می‌پذیرد. کارایی انتقال ژن در این روش زیاد است، اما این روش برای ادغام ژن‌های انتقالی طراحی نمی‌شود.

لیپوزوم، یک وزیکول کروی میکروسکوپی حاوی مولکول‌های چربی است. لیپوزومی که با ژن پوشانده شده است، از طریق غشای سلولی به درون سیتوپلاسم جذب می‌شود. پوشش لیپیدی به DNA اجازه می‌دهد که در شرایط طبیعی زنده بماند، به سلول‌ها اتصال یابد و از طریق اندوسیتوز به درون سلول‌ها وارد شود. در این روش کارایی انتقال ژن اندک است و DNA انتقالی برای ادغام در DNA کروموزومی طراحی نمی‌شود.

رتروترانسپوزون قطعهٔ DNA کوچکی است که خود را کپی و ادغام می‌کند. رتروترانسپوزون‌ها در سلول‌های انسانی وجود دارند و می‌توان از آنها به‌عنوان ناقل استفاده کرد.

راهکارهای ژن‌درمانی

راهکارهای مختلفی برای ژن‌درمانی استفاده می‌شوند:

ژن‌درمانی افزایشی[1]: برای بیماری‌های ناشی از عدم فعالیت یک ژن، انتقال کپی‌های اضافی از ژن طبیعی ممکن است، تاجایی‌که فنوتیپ طبیعی به‌حالت اول برگردد و مقدار فراورده ژن را افزایش دهد. در نتیجه در جایی‌که روال بیماری‌زایی برگشت‌پذیر است، ناهنجاری‌های کلینیکی را هدف قرار می‌دهد. این راهکار به‌ویژه

برای اختلالات مغلوب آتوزومی که مقدار متوسط بیان یک ژن انتقالی ممکن است اختلاف زیادی ایجاد کند، به‌کار می‌رود.

از بین بردن هدفمند سلول‌های خاص: ژن‌ها به‌سمت سلول‌های هدف هدایت شده و سپس تا حدی که به کشتن سلول منجر شود بیان می‌شوند. این راهکار در ژن درمانی سرطان معمول است. کشتن مستقیم سلول در صورتی امکان‌پذیر است که ژن‌های انتقالی عامل تولید سم کشنده باشند یا ژن پیش‌دارویی را کد کند که به‌واسطهٔ داروی کنترل‌شدهٔ متعاقب، حساسیت به کشته شدن را ایجاد کند. در کشتن غیرمستقیم سلول، از ژن‌های محرک ایمنی برای تحریک یا افزایش یک واکنش ایمنی علیه سلول هدف استفاده می‌شود. ایدهٔ تغییر سلول‌های توموری بیمار برای استفاده به‌عنوان واکسن (ایمنی درمانی اکتسابی[۲]) در معالجه مجموعهٔ وسیعی از سرطان‌ها استفاده شده است. در اینجا از طریق تغییر ژنتیکی تومور با یکسری ژن‌هایی که انتظار می‌رود پاسخ ایمنی به تومور را افزایش دهند، بیماران را به‌طور اختصاصی علیه تومورها ایمن می‌کنند. تزریق زیرپوستی فیبروبلاست‌های تغییرشکل یافته ژنتیکی، نیز در ایمنی درمانی اکتسابی به‌کار می‌رود.

تصحیح جهش هدفمند: اگر یک جهش توارثی اثر منفی غالب تولید کند، در سطح ژن می‌توان با روش‌های تعیین مکان ژن بر اساس نوترکیبی همولوگ یا در سطح RNA با استفاده از انواع ویژهٔ ریبوزیم‌های درمانی یا ویرایش RNA درمانی، تصحیح را انجام داد.

بازدارندگی هدفمند بیان ژن: درصورتی‌که سلول‌های بیمار، فراوردهٔ ژنی جدید یا بیان نامناسبی از یک ژن را نشان دهند (مانند بسیاری از سرطان‌ها، بیماری‌های عفونی و...)، مجموعه‌ای از سیستم‌های مختلف به‌طور اختصاصی برای ممانعت از بیان ژن مورد نظر در سطح DNA، RNA یا پروتئین استفاده می‌شوند. اساس درمان، از بین بردن بیان ژن خاص مسئول سرطان یا آلودگی یا آلرژی یا التهاب بدون مداخله در کارکرد طبیعی سلول است. در برخی موارد، بازدارندگی خاص آلل موثر در بیان ژن امکان‌پذیر است.

از نظر تکنیکی درمان از طریق بازدارندگی انتخابی بیان ژن در سه سطح بیان امکان‌پذیر است: ۱) درمان با مارپیچ سه‌گانه (شامل اتصال الیگونوکلئوتیدهای خاص ژن به DNA دو رشته‌ای به‌منظور بازدارندگی رونویسی ژن)، ۲) آنتی‌سنس درمانی (شامل اتصال الیگونوکلئوتیدها یا پلی‌نوکلئوتیدهای خاص ژن به RNA؛ در برخی موارد، عامل اتصال ممکن است یک ریبوزیم مهندسی‌شده اختصاصی باشد، یک مولکول RNA کاتالیتیکی که می‌تواند نسخه RNA را برش دهد)، ۳) استفاده از آنتی‌بادی‌های درون‌سلولی و آپتامرهای[۱] الیگونوکلئوتیدی (شامل ساخت آنتی‌بادی‌هایی که برای اتصال به یک پروتئین خاص یا آپتامرهای الیگونوکلئوتیدی، به مکان‌های اختصاصی در سلول‌ها هدایت می‌شوند و به‌طور اختصاصی به یک پلی‌پپتید انتخابی اتصال می‌یابند)

۵-۹- نانودارو

محققان ناقل‌های کوچکی تولید کرده‌اند که می‌توانند عوامل درمانی ضد سرطان را با استفاده از مواد ژنتیکی ساخته‌شده از طریق نانوفناوری، به طور مستقیم به سلول‌های آلوده حمل کنند. این عوامل انتقال‌دهنده، نانوذرات نام دارند و از سه قطعه کوتاه اسیدریبونوکلئیک تشکیل می‌شوند.

ذرات میکروسکوپی طوری طراحی می‌شوند که هم دارای اندازهٔ صحیح برای ورود به سلول‌ها و هم دارای ساختار صحیح برای حمل سایر رشته‌های درمانی RNA باشند و بتوانند موجب توقف رشد ویروس یا پیشرفت سرطان شوند.

با تغییر مولکول‌هایRNA به اشکال مختلفی نظیر میله‌ای، مثلث و ردیفی و اتصال آنها به یکدیگر، نانوذرات تولید می‌شوند. ذرات از غشای سلولی، به درون سلول راه می‌یابند و مثلث‌های کوچک مانع رشد سلول‌های سرطانی می‌شوند. نانودارو ارزش بالقوه‌ای در معالجهٔ بیماری‌های مزمن نشان می‌دهد.

نانودارو را می‌توان به‌صورت مانیتورینگ جامع، کنترل، ساخت، تعمیر، دفاع و بهبود تمام سیستم‌های بیولوژیکی انسان، تعریف کرد که با استفاده از نانوابزارها و نانوساختارهای مهندسی‌شده در سطح مولکولی عمل می‌کند.

پزشکی نانو، شاخه‌ای از نانوفناوری است که در مقیاس مولکولی برای معالجهٔ بیماری یا ترمیم بافت‌های صدمه‌دیده نظیر استخوان، ماهیچه یا عصب عمل می‌کند. یک نانو یک میلیاردم متر و بسیار کوچک‌تر از آن است که با میکروسکوپ آزمایشگاهی معمول دیده شود و در اندازه‌ای است – حدود ۱۰۰ نانومتر یا کمتر- که مولکول‌ها و ساختارهای بیولوژیکی، درون سلول‌های زنده عمل می‌کنند.

نانوفناوری شامل ایجاد و استفاده از مواد و وسایل در سطح مولکول و اتم است. تحقیقات در زمینهٔ نانوفناوری با کاربردهای خارج از حیطهٔ پزشکی آغاز شده و مبتنی بر اکتشافات فیزیک و شیمی است. این مسئله به این دلیل است که درک ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی مولکول‌ها یا ترکیباتی از مولکول‌ها برای کنترل آنها ضروری است.