# دامهای انتقال ژن یافته

مترجم: دکتر خسرو حسینی پژوه
عضو هیأت علمی سازمان پژوهشهای علمی و صنعتی ایران

**مقدمه:**

ارائه برنامه‌های به‌گزینی و اصلاح‌نژاد، پتانسیل ژنتیکی دامها و خصوصیات ظاهری مربوط به تولید را در دامها بهبود بخشیده است. مشکلاتی که بوسیله برنامه‌های سنتی اصلاح‌نژاد پیش میاید عبارتند از: ۱- مشکل ارزیابی دقیق از ژنوتیپ حیوان که فنوتیپ براساس آن قرار دارد، ۲- وجود این حقیقت که اگرچه همیشه تمام مجموعه ژنتیکی یك حیوان انتخاب میشود، اما فقط نیمی از ژنوم حیوان انتخاب شده به بچه‌اش منتقل میشود. این مشکلات در مورد تکنولوژیهای اصلاح‌نژاد دام مثل تلقیح مصنوعی، انتقال جنین بلوغ و لقاح آزمایشگاهی اووسیت، و جراحی میکروسکوپی برروی جنین نیز صادق هستند. زیرا این تکنولوژیها نیز برروی فرمهای هاپلوئید یا دیپلوئید سلولها که بوسیله روند طبیعی تقسیم و لقاح اتفاقی، ایجاد شده‌اند به کار می‌آیند. امکان جدا ساختن یك ژن یا یك گروه ژنی ویژه از ژنهای بی اهمیت یا کم اهمیت یك انتخاب بسیار جالب و مفید برای کار اصلاح‌نژاد است.

از سال ۱۹۸۰، یعنی زمانی که اولین انتقال ژن موفق با استفاده از ریزتزریق DNA(micro injection) برروی یك موش گزارش شد (Gordon و همکاران، ۱۹۸۰) روشی که امکان انتقال یك ژن منفرد، را میداد در دسترس قرار گرفت. بوسیله روشهای بیولوژی مولکولی که قبلاً در سالهای دهه ۷۰ ابداع شده بود، این امکان پیش آمد ژنهائی که برای اهداف اصلاح‌نژادی بسیار مورد توجه بودند، جدا شوند، توالی آنها مشخص شود، با عناصر تنظیم کننده نوترکیب (recombination) شوند، و برای ارزیابی توانائی عملیشان، در آزمایشگاه (in vitro) و در بدن (in vivo) امتحان شوند. اجرای این تحقیقات اساسی در اصلاح‌نژاد حیوانات در حال حاضر شروع شده است و انتظار می‌رود که در آینده تغییرات زیادی در این زمینه پیش آید. مقاله حاضر مروری است بر تکنیکهای شناخته شده انتقال ژن که در حال حاضر در بعضی حیوانات اهلی بکار می‌رود. امکان اجرای عمل انتقال ژن بوسیله Hammer و همکاران (۱۹۸۷)، Brem, Krausslich (۱۹۸۶)، Smith, Meuwissen, Gibson (۱۹۸۷) و Church (۱۹۸۷) ثابت شده است.

## تکنیکهای انتقال ژن:

انتقال ژن عبارت از انتقال آزمایشگاهی ژن نوترکیب شده است. وقتی یك ژن داخل مجموعه ژنی (ژنوم) یك حیوان جا داده می‌شود، آن عمل انتقال ژن یا ترانسژن نامیده می‌شود. پروتئین کد شده بوسیله این ژن، یك محصول ترانسژنیك خواهد بود. حیواناتی که دارای ژن انتقال یافته هستند، اگر این ژن را به جنین خود نیز منتقل کنند، رده یا جمعیت انتقال ژن یافته (ترانسژنیك) ایجاد خواهد شد.

هدف از این تکنولوژی، ایجاد تغییر در صفتی خاص در حیوان است که بوسیله محصول ترانسژنیك تحت تاثیر قرار می‌گیرد.

برای انتقال ژن در حیوانات سه تکنیك مختلف در دست است.

* ریزتزریق DNA(micro injection) بداخل پیش هسته تخم.
* انتقال DNA با استفاده از ویروسهای حامل.
* تولید کیمراهای ترانسژنیك بوسیله وارد کردن سلولهای بنیادی جنینی تغییر یافته از نظر ژنتیکی بداخل جنینهای دیگر.

## انتقال بطریق ریزتزریق مستقیم DNA:

تاکنون ریزتزریق DNA به پیش هسته زیگوت تنها روش استفاده شده برای انتقال ژن در حیوانات اهلی است، این روش شامل مراحل زیر است:

* کلونینگ و نوترکیبی یك ساختمان ژنی مناسب.
* جمع‌آوری حیوانات دهنده جنین.
* قابل دید کردن پیش هسته (در بعضی از گونه‌های حیوانات اهلی ضروریست).
* تهیه محلول DNA که باید تزریق شود.
* ریزتزریق محلول DNA به پیش هسته تخم لقاح یافته.
* انتقال زیگوت‌های مورد تزریق قرار گرفته به داخل اویدوکت حیوانات گیرنده همزمان شده با حیوانات دهنده.
* مطالعه نوزادهای بدنیا آمده برای معلوم کردن اینکه آیا ساختمان ژنی مورد نظر داخل ژنومشان شده است.

تصویر شماره ۱ به عنوان مثال روش یك برنامه انتقال ژن در خوك را نشان می‌دهد. حیوانات دهنده با استفاده از تزریقات گونادوتروپین بر طبق برنامه‌ائی که برای هر گونه‌ائی تعیین شده است سوپراوووله (superovulated) می‌شوند و سپس دوبار متوالی تلقیح یا جفتگیری می‌شوند. جمع‌آوری زیگوتها ۱۲ تا ۲۴ ساعت بعد از باروری با شستشوی اویدوکتها بطریق جراحی انجام می‌شود. سلولهای کومولوس موجود بوسیله آنزیم هیالورونیداز برداشته می‌شوند.

تقریباً در همه انواع حیوانات اهلی به دلیل وجود دانه‌های لیپیدی تیره در سیتوپلاسم زیگوت، هیچیك از ساختمانهای هسته‌ای قابل دیدن نیستند. سانتریفیوژ تخم یکراه مفید برای قابل مشاهده کردن هسته است. ساختمانهای ژنی مورد نیاز برای تزریق ژن، در پلاسمیدها[1] یا کوسمیدها[2] وارد کرده می‌شوند (نوترکیب شدن) و سپس کلون می‌شوند. بعد از شکسته شدن حاملهای نوترکیب شده با اندونوکلئازهای انحصاری، ساختمانی ژنی، ابتدا استخراج شده و سپس ترسیب و شسته شده و در یك بافر تزریق قرار داده می‌شوند. برای اجتناب از مشکلات در طی تزریق، تمام محلول‌های مورد استفاده در آماده کردن مایع تزریق باید استریل و فیلتره شوند.

محلول ژن باید از هر گونه آلودگی و ذرات خارجی عاری باشد. محلول DNA بطوری رقیق می‌شود که یك پیکولیتر (Picolitre) از آن حاوی حدود ۱۰۰۰ نسخه از ساختمان ژنی باشد. تجهیزات مورد نیاز برای ریزتزریق (تصویر ۲) شامل یك میکروسکوپ invert، میکرومانیپولاتور (دستگاه دستکاری میکروسکوپی) و وسائل تزریق است. تجهیزات ضروری عبارتند از یك اطاق تزریق و پیپتهای نگهدارنده و پیپتهای تزریق.

پیپتهای تزریق، به قطر خارجی (۲-۱ um)، از محلول حاوی DNA پرمی‌شود. در حین تزریق زیگوت بوسیله پیپت نگهدارنده نگهداشته می‌شود. پیپت تزریق با عبور از زوناپلوسیدا، غشاء سلولی و غشاء هسته به پیش هسته وارد می‌شود. حدود ۱ تا ۲ پیکولیتر از محلول حاوی DNA داخل پیش هسته تزریق می‌شود که حجم آنرا افزایش می‌دهد. این زیگوتها بعد از یك کشت کوتاه مدت در آزمایشگاه بداخل اویدوکت حیوانات گیرنده‌ای که بوسیله درمان هورمونی، با حیوان دهنده از نظر سیکل جنسی همزمان شده‌اند، منتقل می‌شوند.

بعد از تولد نوزاد مورد نظر، جهت تائید موفق بودن کار می‌توان DNA مولکولی با وزن بالا از بافت جنین (خون یا سلولها بسادگی از دم حیوان بدست می‌آید) جدا کرد.

ورود DNA تزریق شده و تعداد کپی‌های داخل شده (بداخل ژنوم) را می‌توان به روش ساترن بلوت[3] یادات بلوت[4] هیبریداسیون معین کرد.

محلهای دخول ژن وارد شده را در کروموزوم، میتوان از طریق عمل هیبرید کردن کروموزومهای متافاز، با استفاده از ژنهای تزریق شده به عنوان عامل جستجو[5] معلوم کرد.

حیوانات ترانسژنیك رشد و پرورش داده میشوند و سپس جفتگیری میکنند. نوزادهای بدست آمده از این جفتگیریها مورد آزمایش قرار میگیرند تا معلوم شود که آیا ژن انتقالی به ارث رسیده است یا نه. کوششهائی برای تولید حیوانات ترانسژنیك هموزیگوس[6] از طریق

جفتگیری دادن نسل f1 حیوانات ترانسژنیك همی زیگوس[7] با هم انجام شده است.

## انتقال ژن بوسیله حامل‌های رترو ویروسی:

رترو ویروسها دارای ژنوم RNA هستند که بوسیله ترانس کریپتاز از معکوس (revers transcriptase) خود ویروس، در سلولهای عفونی شده بصورت DNA رونوشت‌برداری میشود و متعاقباً بداخل ژنوم سلول داخل میشود. این جاگیری بصورت تصادفی میباشد. اما معمولاً فقط یك کپی (نسخه) میتواند در پیش ویروس یافت شود. براساس این سیکل، رترو ویروسها میتوانند بعنوان وسیله انتقال ژن مورد استفاده قرار گیرند.

برای اولین بار در سال ۱۹۷۴ نشان داده شد که بعد از تزریق DNA ی ویروس SV 40 بداخل بلاستوسل بلاستوسیست موش، این DNA بعداً در سلولهای موش حاصل از این جنین یافت شد (Mintz , Jaenisch). DNA پرو ویروس Mo-Mulv استفاده شده در این تجربیات، در داخل ژنوم جاگرفته بود و به نوزاد بدست آمده منتقل شده بود. بنابراین لاینهای ثابتی تشکیل شد (Stuhlmann, Jahner, jaenisch ۱۹۸۱).

برای استفاده از این ویروسها بعنوان حامل، قسمتهای مختلف ژنوم ویروسی بوسیله ژنی که باید انتقال یابد جایگزین میشوند. باید دقت شود که LTR[8] و منطقه psi سالم و دست نخورده باقی بماند. پوشش ویروس بوسیله یك پرو ویروس ثانوی تهیه میشود که علائم پوششی را از دست داده است. با کمك حامل‌های رترو ویروسی، ژن جدید باکتریائی داخل سلولهای مولد اولیه (germ line = سلولهای جنسی اولیه) موش داخل کرده شد و استوارت و همکارانشان قادر شدند اظهاراتشان را تحت کنترل آغاز کننده‌های TK[9] بهبود بخشند. موشهای ترانسژنیکی که یك ژن دی هیدروفولات ردوکتاز (Dihidrofolat Reductase) موتانت حمل میکنند، بوسیله آلوده کردن جنینهای بدون زوناپلوسیدای موش با رترو ویروسهای ناقص نوترکیب شده بدون کمك ویروسی، بوسیله Putten و همکارانش (۱۹۸۵) تولید شدند.

Jacob; nicolas, Rubenstein (۱۹۸۶) توانستند دخول پرو ویروس را هنگامیکه امبریوهای بدون پوشش شده بطور مشترك با سلولهای Psi2 کشت شدند، بدست آور ند.

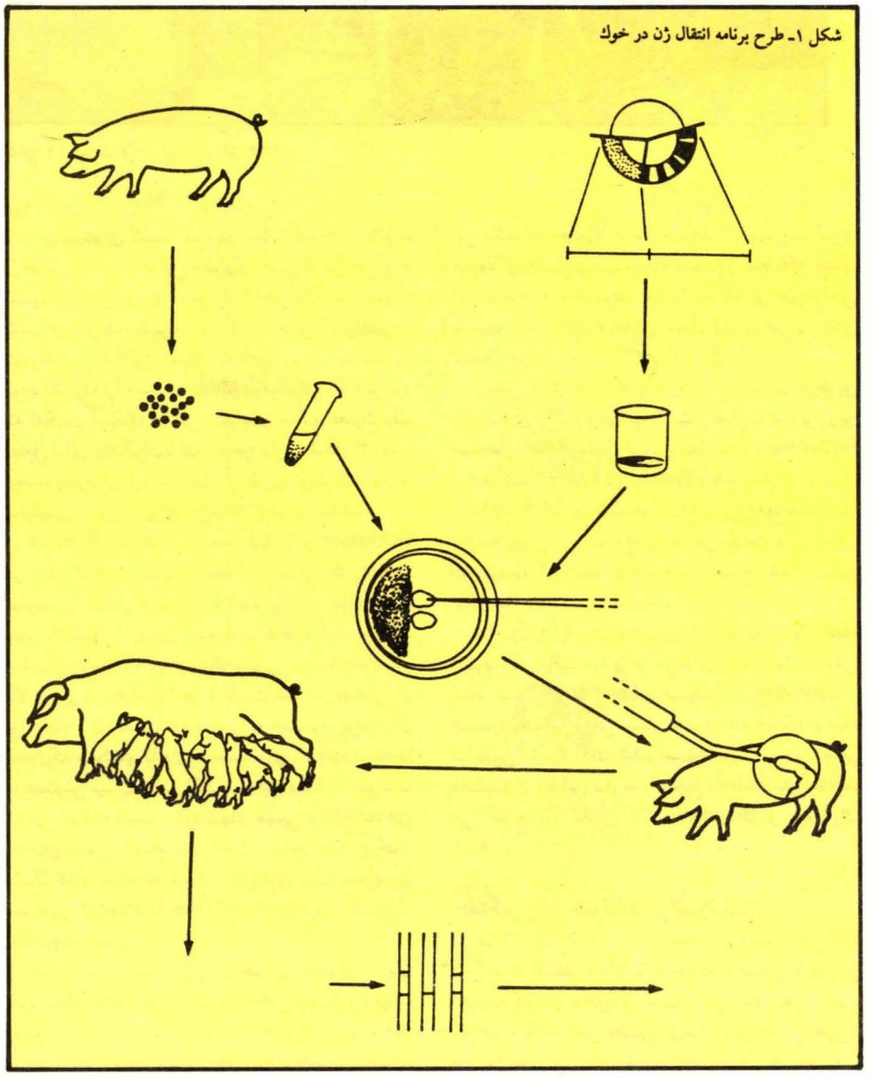
لاینهای ترانسژنیك موش بوسیله Soriano و همکاران (۱۹۸۶) از طریق آلودگی جنینهای قبل از لانه‌گزینی با رترو ویروسهای نوترکیب شده حاوی ژن بتاگلوبولین انسانی کامل (از جمله شامل آغازکننده‌اش -promoter- ) تولید شدند. این رده ازموشها انتقال ژن را در سیستم خونسازشان نشان میدهند.

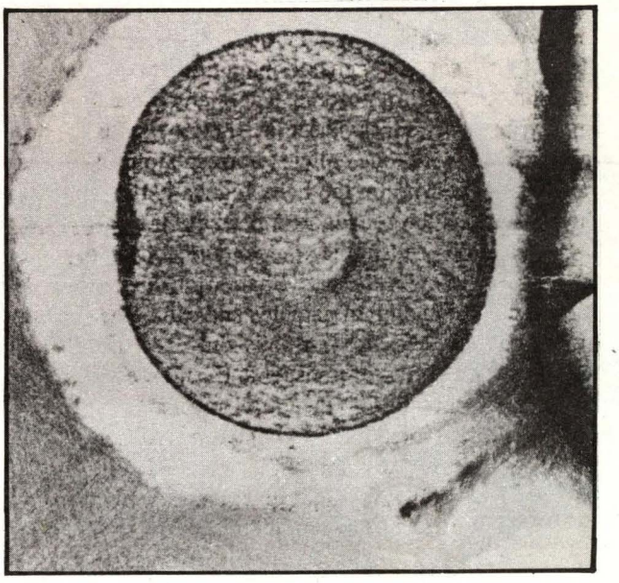
استفاده موفق از حاملهای رترو ویروسی در پستانداران اهلی هنوز گزارش نشده است. در طیور Salter و همکاران (۱۹۸۶) گونه‌های وحشی را بخوبی ویروس لکوز نوترکیب شده، قبل از مچینگ بداخل تخم‌مرغ تزریق کرده‌اند. که در بعضی از جوجه‌های حاصل دخول ژن صورت گرفته بود.

## انتقال ژن از طریق تولید کیمراهای سلولهای جنسی اولیه:

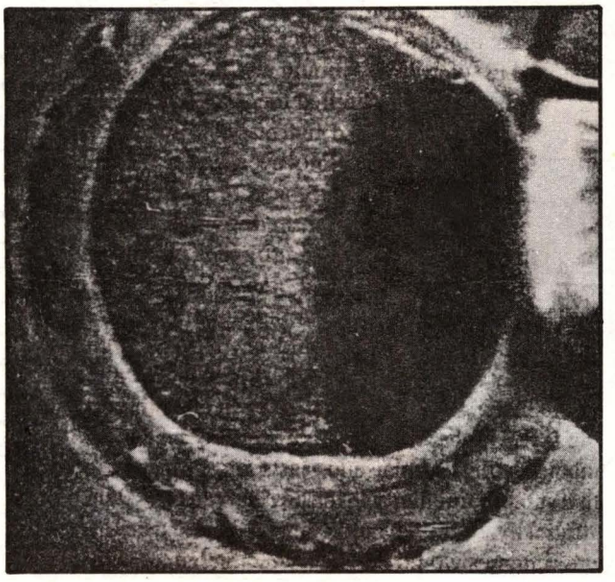
روش استفاده از سلولهای پایه‌ائی تغییر شکل یافته (transformed stem cells totipotent) جهت انتقال ساختمانهای ژنی نوترکیب شده، به سلولهای جنسی اولیه (germ-line) ، مورد توجه فزاینده‌ای قرار گرفته است (بخصوص در مورد موش). سلولهای بنیادی (که قابل تبدیل به تمام انواع سلولی هستند) از

شکل ۱- طرح برنامه انتقال ژن در خوك





شکل ۴- ریزتزریق بداخل پیش هسته زیگوت خوك



شکل ۵- ریزتزریق بداخل یك پیش هسته زیگوت خرگوش

زیگوتهای تزریق نشده سانتریفوژ شده، تا مرحله مورولا یا بلاستوسیست در بدن تکامل میابند. بعد از ریزتزریق (شکل ۴)، ۱۰-۲۰٪ جنینها تا مراحل مختلف رشد، تکامل میابند (Hammer و همکاران ۱۹۸۶، Brem و همکاران ۱۹۸۸). از زیگوتهای تزریق شده ۵/۶٪ (Brem و همکاران ۱۹۸۵) تا ۱۱٪ (Hammer و همکاران ۱۹۸۵) تا مرحله تولد تولد خوکها تکامل یافتند. میزان جایگیری ژن در خوك تقریباً ۱۰٪ است. استفاده از هورمون رشد در تجربیات اولیه منجر به تظاهر اثر ژن انتقالی به میزان ۵۰٪ شد.

تولید نوزادهای F1 ترانسژنیك شدنی است. در تجربیات مؤلف توارث ژن انتقالی، در ۲ حیوان از ۵ حیوان مورد آزمایش انجام شده بود.

برای قابل مشاهده شدن پیش هسته جنین گوسفند، سانتریفوژ کردن لازم نیست. برطبق روش نورماسکی (Normaski optics) اگر میکروسکوپ interfrance contrast در دسترس باشد، ۸۰٪ پیش هسته‌ها میتوانند تعیین شوند.

توانائی تکامل زیگوتهای گوسفند در رحم (In vivo)، با تزریق ژن (۲۶٪) و بدون تزریق ژن (۱۰٪)، نصف توانائی جنینهای خوك در یك روش یکسان است (Hammer و همکاران ۱۹۸۶). ۷ روز پس از کشت داخل رحم (In vivo) جنینهای گوسفندی که برویشان کاری نشده و در محیط آزمایشگاه رشد داده نشده بودند Rexroad و Wall (۱۹۸۷) میزان تکاملی برابر ۸۶٪ را مشاهده کردند. یك کشت ۵ ساعته این جنینها در محیط آزمایشگاه این میزان تکامل را به ۶۵٪ کاهش داد، و بعد از تزریق یك محلول بافر این میزان به ۴۲٪ کاهش یافت. بعدازتزریق محلول حاوی DNA، ۱۹٪ تامرحله ۳۲سلولی تکامل یافتند. درآزمایشات اولیه‌میزان جایگیری ژن انتقالی حدود ۱٪ بود (Hammer و همکاران ۱۹۸۵، Nancarrow, Murray, Ward ۱۹۸۶، Ward و همکاران ۱۹۸۶). در حالیکه میزان زنده ماندن جنینهای مورد تزریق قرار گرفته تا مرحله تولد ۷٪ (Hammer و همکاران ۱۹۸۵ و ۱۹۸۶) و ۲/۶٪ (Nancarrow و همکاران ۱۹۸۷) بود.

برای ایجاد بزهای ترانسژنیك، از طریق ریزتزریق DNA به زیگوتهای سانتریفوژ شده، نیز تلاشهائی شده است. هنوز هیچ جایگیری DNA در تعداد نسبتاً محدود حیوان بدنیا آمده در این تجربیات، عملی نشده است (Armstrang و همکاران ۱۹۸۷، Fabricant و همکاران ۱۹۸۷).

بوسیله عمل سانتریفوژ پیش هسته زیگوتهای گاو نیز آشکار شده است. Robl, Lohs و First در سال ۱۹۸۵ یك ژن ساختن تیمیدین کیناز بداخل زیگوتهای گاو تزریق کردند و نشان دادند که ۲۴ ساعت پس از تزریق، حدود ۲۰٪ جنینها به میزان ۲ انحراف معیار بالاتر از گروه شاهد دارای تیمیدین کیناز بودند. Ros-chlau و همکارانش (۱۹۸۸) به ۵۱۳ زیگوت گاو، ۳ ساختمان ژنی متفاوت با منشاء ویروسی تزریق کردند و توانستند DNA خارجی را در ۱۴ جنین نشان دهند. از انتقال ۴۳ جنینی که تکامل در رحم (In vivo) را نشان داده بودند، ۱۴ آبستنی بدست آمد.

Loskutoff و همکارانش (۱۹۸۶) توانستند بعد از تزریق به ۷۲ زیگوت و ۱۷ تخم (egg) در مرحله ۲ سلولی، ۳ آبستنی بدست آورند. McEvoy و همکارانش توانستند تا سال ۱۹۸۷ بدنبال انتقال ۴۳ زیگوت تزریق ژن شده و ۸ تخم دو سلولی تزریق ژن شده، ۴ آبستنی بدست آورند.

McRae, Church و Mçwhir (۱۹۸۶)، ۸۲۵ زیگوت گاو را با یك آلفا فتوپروتئین مورد تزریق قرار دادند و ۴ مورد جایگیری ژن را در ۱۱۱ جنینی که توانستند از آنها تکامل یابند، مشاهده کردند. بدنبال تزریق ژن به زیگوتهای گاو، میزان تولد گوساله حاصل، ۱۹/۹٪ بود. این میزان برای جنینهای تزریق

نشده ۴۲/۸٪ بود. در آزمایشی دیگر در ۷ مورد از ۱۲۷ گوساله بدست آمده (۵/۶٪)، DNA انتقالی جایگیر شده بود (Church ۱۹۸۷).

Bondioly, Biery و Demayo (۱۹۸۸) میزان جایگیری برابر با ۲۲/۰٪ تا ۱/۶۷٪ را در زیگوتهای تزریق شده بدست آوردند.

## کاربردهای ممکن برای انتقال ژن

در سالهای اخیر موارد متعددی از کاربردهای احتمالی انتقال ژن در حیوانات اهلی مورد بحث قرار گرفته است. تا حال حاضر فقط توانسته‌ایم صفات و خصوصیاتی را تحت تاثیر قرار بدهیم که تحت کنترل یك ژن یا تعداد محدودی ژن باشد. و فقط تعداد بسیار محدودی از خصوصیات مهم در اصلاح‌نژاد دامها است که تحت کنترل یك ژن منفرد میباشد. اختلاف بین صفات کیفی و کمی همیشه کاملاً واضح نیست، آنچنانکه در تجربیات Palmiter و همکارانش شرح داده شده است (۸۳-۱۹۸۲).

در تجربیات محققین، رشد یکی از صفات کمی کلاسیك در پرورش دام، از طریق انتقال یك ژن منفرد هورمون رشد، که به یك مکانیسم تنظیمی غیروابسته به فیدبك مربوط بود، به یك صفت نیمه کیفی تغییر یافت. انتظار میرود نتایج مشابهی با بکار بردن سوماتوتروپین‌ها در گاو بدست آید.

اگرچه دانش ما هنوز تا حدی محدود است، اما نتایج بدست آمده از این تجربیات میتواند بشکل یك هیپوتز قابل کارکردن، تفسیر شود. این بخاطر قابلیت تغییر زیادی است که این ژنهای منفرد به شکل یك اثر ژن اضافه، در ظهور صفات شرکت میکنند. فقط میتوان امیدوار بود که تحقیقات بعدی به فهم بهتر ظهور صفات براساس ژنتیك کمك کند.

تا آنجا که انتقال ژن در گاو مطرح است، چشم‌انداز واقع بینانه‌ای وجود دارد و آن این است که این تکنیك میتواند بطور مثبتی بر صفات مختلف تاثیر گذارد. برنامه‌های سنتی به گزینی با استفاده از تکنیکهای معمول، نتایج مهمی بدست داده است و به همین ترتیب ادامه خواهد یافت. اما بنظر میرسد متمرکز کردن تکنیکهای بسیار گران و پیچیده انتقال ژن، فقط در زمینه‌هائی که تاکنون پیشرفتهای محدودی از طریق برنامه‌های سنتی اصلاح‌نژاد داشته است، مرجع باشد. مثل اصلاح‌نژاد برای افزایش مقاومت در مقابل بیماریها.

در حال حاضر تحقیقات در زمینه تولید دامهای ترانسژنیك بر روی موضوعات زیر متمرکز شده است:

**رشد**: برای افزایش رشد و بهبود ترکیب بدنی، کوششهائی از طریق انتقال ژنهائی که مسئول تنظیم هورمون رشد هستند، انجام شده است. آزمایشات انجام شده با پیش هورمونهای مربوطه در حیوانات در حال رشد، نشان داده است که چنان اثراتی میتواند بدست آید. این آزمایشات مربوط به انتقال ژن بحصوص در گوسفند و خوك انجام شده است. (Ha-mmer و همکاران ۱۹۸۵، Brem و همکاران ۱۹۸۵ Vize و همکاران ۱۹۸۷، Ward و همکاران ۱۹۸۶).

**مقاومت در مقابل بیماریها**: تعداد بسیار محدودی ژن شناخته شده‌اند که قادر هستند در مقاومت حیوانات اهلی نسبت به بیماریها تاثیر گذارند. یك نمونه در این رابطه، مقاومت در برابر آنفلوانزا است که بوسیله ژن ایجاد میشود (Staeheli و همکاران ۱۹۸۶). مؤلف سعی کرده است که از طریق سه ساختمان ژن MX خوکهای مقاوم در برابر آنفلوانزا ایجاد کند.

**کیفیت تولیدات دامی**: بهبود کیفیت یا ترکیب تولیدات دامی، از طریق انتقال ژنهای مربوطه، میتواند دورنماهای تازه‌ای را در مورد تولیدات دامی بدست بدهد. یك نمونه از اینها توسط Mercier (۱۹۸۷) و با هدف کاهش میزان لاکتوز شیر ارائه شده است. در شیر گوسفندان و گاوهای ترانسژنیك که یك ژن لاکتوز را همراه با یك ژن تسریع کننده رشد پستان دارا هستند، لاکتوز به گلوکز و گالاکتوز شکسته میشود. این چنین شیری میتواند توسط بسیاری از انسانها که نسبت به گالاکتوز عدم تحمل دارند براحتی مصرف شود. توسط انتقال ژن محققین تلاش کرده‌اند سنتز سیستئین را در ارگانیسمهای حیوان تسریع کنند و بطور مثبتی بر رشد پشم تاثیر گذارند. (Ward و همکاران ۱۹۸۶).

**تولید ژن (gene Farming)**:

یك ترکیب مناسب از ژنهای آغازکننده ویژه بافتی (thissue-specific promoter) و انتقال این ژنها بداخل ژنوم حیوانات اهلی ممکن است به تولید مؤثر (و از نظر بیولوژیکی) قابل اعتماد پروتئینها منجر شود (Lathe و همکاران ۱۹۸۷). مخصوصاً تلاشهائی جهت استفاده از حیوانات بعنوان سیستمهای تبدیل‌کننده بیولوژیك انجام شده است(clarck و همکاران ۱۹۸۷). دانشمندان همچنین T-PA انسانی و بتا- لاکتوگلوبولین گوسفندی را در شیر موشهای ترانسژنیك بدست آورده‌اند.

**نتیجه**:

برای فعالیتهای تحقیقاتی در زمینه انتقال ژن، سه موضوع زیر باید مورد توجه خاص قرار بگیرند.

**الف: تحقیقات درباره بهبودکارائی روشهای انتقال ژن**: در حین کوشش بر ای مناسب کردن تکنیك انتقال ژن از طریق ریزتزریق، برای تثبیت و بهبود سایر تکنیکهای انتقال ژن نیز باید تلاش شود.

**ب- جدا کردن و مشخص کردن ژنهای مؤثر در اهداف اصلاح‌نژادی**: نتایج تحقیقات پایه‌ائی در بیولوژی مولکولی، یك پایه بسیار عالی برای کارهای عملی بر روی حیوانات اهلی است.

**ج- جدا کردن و مشخص کردن عناصر تنظیمی مناسب**: تهیه کردن آغاز کننده‌ها و تسریع کننده‌های مناسب، بسیار مشکلتر از جستجوی ساختمان ژنهاست برای استفاده راحت در برنامه‌های اصلاح‌نژادی، از نهایت اهمیت برخوردار است که ساختمانهای ژنی ائی ایجاد کنیم که بتواند خصوصیتش را در زمان درست و در بافتهای صحیح و همچنین بمقدار صحیح ظاهر کنند.

**پاورقی**:

۱- Plasmid: یك قطعه معمولاً دایره‌ای شکل از DNA که اغلب در باکتریها و بعضی انواع سلولی دیگر یافت شده است.

۲- Cosmid: نوعی از پلاسمید مربوط به باکتریوفاژ لامیدا است.

۳- Southern blot hybridization: روشی برای نقشه‌برداری از تواليهای یك ژنوم پیچیده است. از جمله برای فهمیدن دخول یك ژن خارجی به ژنوم میزبان یا داخل شدن ژنوم ویروسهای تومورزا بداخل کروموزوم سلول آلوده.

۴- dot blot hybridization: تقریباً شبیه روش فوق است.

۵- Hybridization probing: روشی است که در آن از مولکول اسید نوکلئیك علامت گذاری شده برای تشخیص مولکولهای همولوگ با ردیف مکمل و از طریق ایجاد هیبریدهای زوجهای بازی ثابت استفاده میشود.

۶- Homozygous: حالتی است که حیوان در مورد یك صفت خاص دارای یك زوج الل مشابه باشد.

۷- Hemizygous: حالتی که یك موجود زنده از یك جفت الل مربوط به یك صفت، فقط یك الل را دارا است.

۸- Long terminalrepeat (LTR): توالی چند صد بازکه در هر دو انتهای بعضی از مولکوهای DNA بویژه DNA ژنومیك رترو ویروسها یافت شده است. این توالی در هر یك از دو انتها مشابه هم است. منتها در بعضی موارد معکوس یکدیگرند.

۹- Promoter: توالی با ردیف خاصی در DNA که RNA پلی مراز به آن متصل میشود و رونوشت‌برداری را آغاز می کند.

۱۰- Locus: محل و موقعیت یك ژن خاص روی یك کروموزوم.

۱۱- Heterozygot: موجود زنده دیپلوئیدی (۲n کروموزومی) که دارای دو الل متفاوت از یك ژن خاص است.

**منبع مورد استفاده**:

G. Brem and H.G Wagner. 1991 Trans genic Livestock world animal Review. (F.A.O) Vol 67, p.2-9