Archive of SID

همایش محصولات تراریخته درخدمت تولید غذای سالم، حفاظت از محیط زیست و توسعه پایدار

دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان- ۴ آذر ۱۳۹۵

استفاده از ساختار انگشت روی جهت خاموش و غیر فعال کردن ژن برای تولید حیوانات تراریخته

سوسن رادپور*[۱]، محمود نظری[۲] ، محمدتقی بیگی نصیری[۳]

۱-دانشجوی دکتری اصلاح نژاد دام دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان۲- استاد یار دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان ۳- استاد دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان

*پست الکترونیک:*s.radpoor90@yahoo.com*

چکیده:

هر ساختار انگشت روی، شامل 28-23 اسید آمینه است که با یک یا چند اتم روی شکل سه‌بعدی خود را پایدار کرده و با دو اسید آمینه هیستیدین و دو اسید آمینه سیستئین پیوند غیر کووالان برقرار می‌کند و به شکل یک انگشت تا شده که وسط آن یون روی قرار دارد در آمده است. جهت طراحی پروتئین‌های انگشت روی بر اساس توالی DNA مورد نظر مطالعات گسترده‌ای صورت گرفته است. ساختار قطعه قطعه آن‌ها (چند واحدی بودن آن‌ها) و توانایی هر قطعه در تشخیص سه باز متوالی از DNA معیار طراحی و ساخت پروتئین‌های انگشت روی جدید می‌باشد. نوکلئاز انگشت روی یک ابزار مفید برای بهبود درک ما از سیستم‌های پیچیده فیزیولوژیک برای تولید حیوانات تراریخته می‌باشد. نوکلئاز انگشت روی‌هایی که بصورت مصنوعی طراحی شده‌اند پتانسیل بسیار بالایی برای ایجاد تغییرات هدفمند در جایگاه خاص در موش، حیوانات اهلی مانند خوک و گاو نشان داده‌اند.

کلمات کلیدی:

۱. مقدمه

مهندسی هدف‌دار ژنوم (genome targeting engineering)، یکی از مهمترین پیشرفت‌های مهندسی ژنتیک در هزاره‌ی سوم است. اساس این فرآیند در عملکرد اندونوکلئازهای مهندسی شده نهفته است. این ابزارها از طریق ایجاد برش‌های دورشته‌ای در یک ناحیه‌ی شناخته شده از ژنوم و به دنبال آن ترمیم این برش‌ها توسط سازوکارهای نوترکیبی هومولوگ (homologous recombination) یا اتصال انتهای غیر هومولوگ (non- homologous end joining) ، می‌توان تغییرات ژنتیکی مورد نظر را ایجاد کرد . اندونوکلئازهای ویرایش کننده‌ی ژنوم ، از توانایی بالایی در راستای فهم عملکرد ژن و کاربردهای ژن درمانی برخوردارند (۴).

در پژوهش‌های پایه و کاربردی زیست شناسی، توانایی ایجاد تغییرات هدف دار در ژنوم پستانداران، دارای اهمیت حیاتی است. مطابق نظریه‌ی اهداف درمانی ، برای طیف وسیعی از بیماری‌های ژنتیکی که در اثر رخداد جهش در یک ژن ایجاد می‌شوند، درمان با ژن درمانی روشی موثر به شمار می‌آید. راه کارهایی با میانجی‌گری ویروس برای تحویل کارآمد ژن بیگانه به ژنوم پستانداران توسعه یافته است. با این وجود، فرآیند ورود ژن بیگانه به ژنوم پستانداران اغلب تصادفی بوده که این پدیده، ممکن است ژن‌های درونی معینی را تخریب کرده و به فنوتیپ‌های غیر قابل پیش بینی که استفاده وسیع از این تکنولوژی را محدود می‌کند، بینجامد.

www.SID.ir

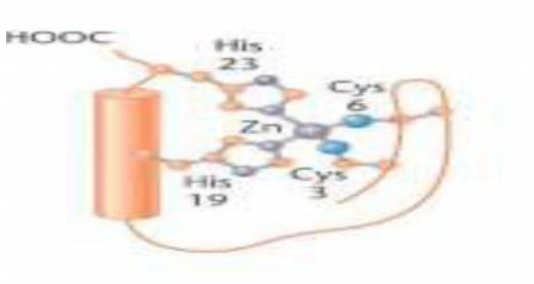
Archive of SID

نوکلئازهای مهندسی شده، با وجود قرار داشتن در مرحله‌ی مقدماتی، برای ورود ژن بیگانه به درون یک توالی خاص، در حال توسعه بوده و البته در ایجاد تغییرات ژنتیکی مورد نظر در ارگانیسم‌های متفاوت موفقیت‌هایی نیز داشته‌اند. مهم‌ترین بخش راهکار در مهندسی هدف‌دار ژنوم، ایجاد برش‌های دورشته ای اختصاصی جایگاه در یک لوکوس از پیش تعیین شده به وسیله اندونوکلئازهای مهندسی شده است. ترمیم نهایی این برش‌های دورشته‌ای، به وسیله‌ی نوترکیبی هومولوگیا اتصال پایانه های غیر هومولوگ، تغییرات ژنتیکی مورد نظر و دلخواه را ایجاد می‌کند. سازوکار اتصال پایانه های غیر هومولوگ، به دلیل وارد شدگی ها یا حذف‌های کوچک (indel)، می‌تواند سبب تخریب ژن با میانجی‌گری ایجاد جهش‌های تغییر چارچوب (mutation frame shift) شود. در حالی که سازو کار نوترکیبی هومولوگ، می‌تواند تبادل نوکلئوتیدی بین یک ناحیه‌ی ژنومی درونی و یک قطعه DNA بیگانه را توسط توالی‌های هومولوگ احاطه شده، واسطه گری کند تا سبب وارد شدگی، حذف و یا جایگزینی یک توالی خاص شود (۱،۴).

برای اینکه یک اندو نوکلئاز مهندسی شده، بتواند به طور گسترده‌ای در ویرایش هدف دار ژنوم کاربرد داشته باشد باید دارای دو معیار اصلی باشد: الف) توالی بلندی از DNA را با ویژگی بالا شناسایی کند تا از ایجاد سمیت ناشی از برش های خارج از جایگاه هدف (off- target) جلوگیری شود. زیرا برش‌های خارج از جایگاه هدف، سبب ایجاد تغییرات در لوکوس‌های ناخواسته شده و فنوتیپ‌های غیر قابل پیش‌بینی را به همراه دارد. ب) شناسایی و برش در یک توالی تعریف شده به آسانی طراحی شود. چهار رده‌ی اصلی از داکسی اندونوکلئازها، شامل مگا نوکلئازها، اندونوکلئازهای انگشت روی، اندونوکلئازهای افکتور شبه فعال کننده‌ی رونویسی و سیستم CRISPR هستند که به عنوان ابزار مهندسی ژنوم توسعه یافته محسوب می‌شوند (۲).

۲. نوکلئازهای انگشت روی

نوکلئازهای انگشت روی، پروتئین های صناعی هستند که با ادغام چندین قلمرو از رده عامل‌های رونویسی تحت عنوان پروتئین‌های انگشت روی به یک قلمرو برش دهنده‌ی مستقل از توالی مربوطه به اندو نوکلئاز محدودکننده نوع FOK I از II S ساخته شده‌اند، شکل (۱)(۱۶).



شکل ۱ : انگشت روی نوکلئاز

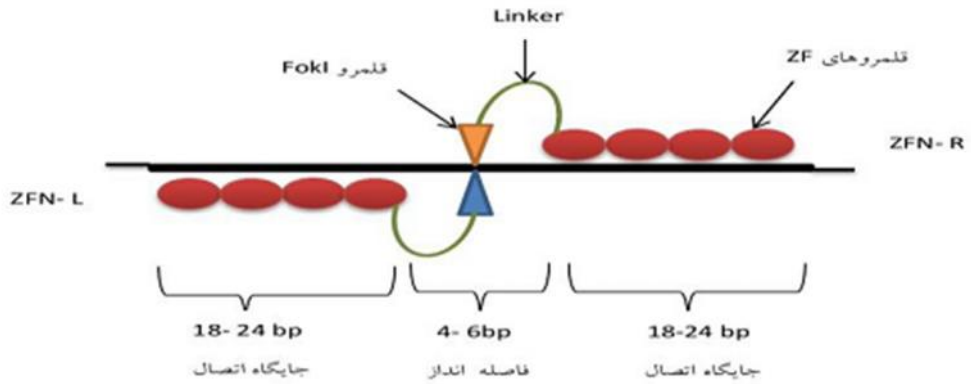
انگشت روی علاوه بر قابلیت شناسایی و اتصال به DNA قادر به شناسایی و اتصال به پروتئین‌های دیگر، RNA، چربی‌ها و دیگر مولکول‌های آلی هستند. از زمان شناسایی آن‌ها تاکنون وجود آنها در بسیاری از موجودات زنده (پروکاریوت‌ها و یوکاریوت‌ها) ثابت شده است و با توجه به نقش بسیار مهم آن ها در تنظیم بیان ژن‌ها به عنوان اولین عامل تعیین روشن یا خاموشی ژن‌ها، بسیار

www.SID.ir

Archive of SID

مورد توجه محافل علمی قرار گرفته است به طوری که هم اکنون از آن ها به طور گسترده در درمان بیماری‌ها (سرطان، ایدز ، دیابت و...) و همچنین در مطالعات ژن ها استفاده می‌شود (۵).

یک مارپیچ آلفا در هر قلمرو انگشت روی، یک توالی سه تایی اختصاصی از DNA را شناسایی می کند که در مطالعات اولیه هر ZFN مورد استفاده تنها سه قلمرو انگشت روی را داشته که به یک توالی ۹ جفت بازی از DNA متصل شده است. بنابراین، دایمرهای ZFN (گونه‌های فعال) را قادر ساخته که یک توالی ۱۸ جفت بازی را برای هر برش شناسایی کنند. به دلیل اینکه قلمرو نوکلئاز FOK I به صورت دایمر عمل می‌کند، نوکلئازهای عملکردی انگشت روی زمانی شکل می‌گیرند که قلمروهای انگشت روی در نزدیکی همدیگر قرار گیرند و همچنین دارای جهت‌گیری مناسبی باشند. به طوری که قلمروهای کاتالیک آنزیم FOK I در کنار هم قرار گیرند (شکل ۲)(۲).



شکل ۲: نمای شماتیک نحوه‌ی اتصال اندونوکلئازهای انگشت روی به DNA

برای به حداقل رساندن برش‌های ناخواسته، تغییرات متنوعی را می‌توان در مورد ZFN ها اعمال کرد: الف) نوکلئازهای انگشت روی را طوری طراحی کرده که تنها به صورت هترودایمر عمل کنند. برای نیل به این هدف، واریانت‌هایی را در قلمرو کاتالیتیک آنزیم FOK I ایجاد می‌کنند که تنها ساختارهای هترو دایمر تشکیل شوند و همو دایمرها ناپایدار باشند. ب) طول فاصله انداز (Spacer) بین دو مونومر ZFN معمولا حدود ۴-۶ جفت باز است، اما از طریق ایجاد تغییرات در طول رابط (Linker) بین ZFN و FOK I نیز می‌توان تا حدی از دایمریزاسیون غیر اختصاصی و در نتیجه برش‌های خارج از جایگاه هدف جلوگیری کرد (۶).

هر چند که نوکلئازهای انگشت روی برای ویرایش هدف‌دار ژنوم در طیف متنوعی از سلول‌ها و ارگانیسم‌ها استفاده شده اند، اما دو محدودیت اصلی، کاربردهای گسترده‌ی آن‌ها را محدود کرده است: الف) قلمروهای انگشت روی به دلیل اثرات binding context dependent DNA – ظرفیت محدودی دارند که هدف قرار دادن هر توالی مورد نظر از DNA را برای نوکلئازهای انگشت روی دشوار می کند . ب) فقدان ویژگی برخی از قلمروهای انگشت روی، می‌تواند برش‌هایی را در جایگاه‌های غیر هدف ایجاد کند که سبب جهش‌های ناخواسته و در نتیجه ایجاد فنوتیپ‌های غیر قابل پیش‌بینی و یا به عبارتی، سبب میزان سمیت بالایی شوند (۳).

www.SID.ir

Archive of SID

۳. انواع مختلف انگشت روی

۱- Cys2His2

این دسته از ماتیف‌های انگشت روی شناخته شده ترین و فراوان‌ترین نوع انگشت روی در فاکتورهای رونویسی انسان و سایر جانوران پرسلولی می‌باشد . تقریبا ژنوم انسان حاوی ۷۰۰ ژن کد کننده این دسته از پروتیین‌ها می‌باشد. ژن‌های کد کننده این دسته از پروتیین‌ها به صورت کلاستر (به صورت پشت سر هم بر روی کروموزوم) روی ژنوم درج شده است که نشان دهنده‌ی آن است که عمل دوبرابر شدن ژن‌ها در مورد آن‌ها اتفاق افتاده است. علاوه بر این پروتیین‌های دارای ماتیف Cys2His2 معمولا از نظر تعداد و نحوه قرار گرفتن واحدهای انگشت روی با هم تفاوت دارند برای مثال فاکتور رونویسی Zif268و Sp1 هر کدام ۳ واحد انگشت روی دارند در حالیکه TFIIIA دارای ۹ واحد می‌باشد.

۲- Gag knuckle

این دسته از پروتیین‌های انگشت روی از ۲ صفحه بتا که با یک پیچ به یک مارپیچ آلفا متصل شده است. یون روی در این دسته از پروتیین‌ها با ناحیه آمینی قسمت پیچ و انتهای مارپیچ آلفا اتصال هیدروژنی ایجاد کرده است. به طور معمول هر واحد انگشت روی در این دسته شامل ۲۰ اسید آمینه می‌باشد و معمولا بصورت دایمر در بسیاری از فاکتورهای رونویسی دیده می شوند.

۳- Treble clef

شامل پروتیین‌هایی حاوی ۳۰ تا ۶۰ اسید آمینه می‌باشند که از ۳ صفحه بتا در ناحیه آمینی و یک مارپیچ آلفا در ناحیه کربوکسیلی تشکیل شده اند. یون روی در این دسته از پروتئین‌ها با ناحیه پیچ بین صفحه‌های بتا و قسمت آمینی مارپیچ آلفا اتصال هیدروژنی برقرار می‌سازد. این دسته از پروتئین‌ها نیز معمولا به صورت دو واحدی (دو واحد انگشت روی یا دایمر) وجود دارند و در دامین‌های متصل شونده به DNA در برخی از هورمون‌ها از جمله گیرنده استروژن در پستانداران مشاهده شده است . این دسته از پروتئین‌های انگشت روی در اتصال به DNA ، RNA و پروتیین‌ها نقش دارند.

۴ - Zinc ribbon

ماتیف‌های پروتئینی با طول ۳۰تا ۵۰ اسید آمینه می‌باشند که از ۴ یا ۵ صفحه بتا تشکیل شده‌اند و شکلی شبیه به روبان به خود گرفته اند. یون روی در این دسته از پیروتئین‌های انگشت روی با دو پیچ بین صفحه‌های بتا پیوند هیدروژنی برقرار می‌سازد. دامین‌های حاوی این دسته از انگشت‌های روی معمولا حاوی دو واحد بوده که در اتصال به پروتئین‌ها، DNA و RNA نقش دارند. از این دسته می‌توان به پروتئین متصل شونده به DNA در آدنوویروس نام برد که در تکثیر و بیماری‌زایی ویروس نقش بسیار مهمی دارد.

۵ - Zn2/Cys6

www.SID.ir

Archive of SID

هر واحد انگشت روی در این دسته شامل ۲۰تا ۳۰ اسیدآمینه بوده و از دو مارپیچ آلفا و دو صفحه بتا تشکیل شده‌اند. هر یون روی با پیوند هیدروژنی با یک مارپیچ آلفا و یک لوپ اتصال برقرار کرده و هر واحد انگشت روی حاوی دو یون روی می‌باشد. این دسته از پروتئین‌های انگشت روی در ایجاد دامین‌های متصل شونده به DNA و پروتئین نقش دارند و از جمله مهمترین آنها می‌توان پروتئین Ga14 را نام برد که یکی از تنظیم کننده‌های مهم رونویسی در پستانداران می‌باشد.

۶ - TAZ2 domain like

این دسته به طور معمول از ۲۰ تا ۳۰ اسید آمینه تشکیل شده اند و شامل دو مارپیچ آلفا می‌باشند که با یک پیچ به هم متصل شده‌اند. یون روی در هر واحد انگشت روی با دو مارپیچ آلفا پیوند هیدروژنی برقرار می‌سازد. این دسته از انگشت‌های روی در اینترکشن پروتئین نقش دارند و در DNA پلیمراز III زیر واحد g در باکتری ای کولای تشخیص داده شده است. همچنین در پروتئین اینتگرلز ویروس HIV وجود دارد و در تولید بعضی از داروهای ضد ایدز مورد هدف قرار می گیرد.

۷- Zinc binding loops

به طور معمول حاوی ۲۰ تا ۳۰ اسید آمینه می‌باشند و ایجاد دو لوپ می‌کنند که چهار پیوند هیدروژنی نگهدارنده یون روی از آن‌ها بوجود می‌آیند. درDNA پلیمراز III باکتری ای کولای زیر واحد δ’ و RNA پلیمراز III پروتئین Rpb 3 وجود دارد.

۸– Metallothionein

پروتئین‌های سرشار از سیستئین بوده که به طور معمول هر واحد از آن‌ها از ۶۰ تا ۷۰ اسیدآمینه تشکیل شده‌اند که با بسیاری از فلزات پیوند برقرار می‌سازند. از آن‌ها به عنوان پروتئین‌های جلوگیری کننده از سمیت عناصر یاد می‌شود زیرا یون‌های اضافی موجود در سلول را جذب می کنند (۱۶).

۴. طراحی و ساخت پروتئین‌های انگشت روی جدید

با توجه به فراوانی و توانایی Cys2His ها در شناسایی و اتصال به قسمت خاصی از DNA به صورتی که با تغییر در تعداد و توالی آن‌ها می‌توان محل چسبیدن را مشخص کرد، این دسته از پروتئین‌ها بیشترین استفاده را در حال حاضر دارند. در سال ۲۰۰۶ محققان مرتبط با این زمینه در کنسرسیومی در سال ۲۰۰۵ تصمیم به ساخت یک پایگاه اطلاعاتی برای سهولت استفاده از تجربیات دیگران و طراحی پروتئین‌های انگشت روی برای کاربردهای متفاوت گرفتند. نتیجه کار این محققان ساخت پایگاه اینترنتی Zinc Finger tools در سال ۲۰۰۶ بود که ۴۹ توالی سه نوکلئوتیدی و اسید آمینه‌های مربوطه برای چسبیدن به آن‌ها را شناسایی و در اختیار محققان قرار می‌دهد. در این پایگاه اینترنتی تسهیلاتی از جمله بررسی توالی DNA و پیدا کردن نواحی دارای قابلیت اتصال به انگشت روی، بررسی توالی اسیدآمینه های یک پروتئین و یافتن قابلیت انگشت روی بودن و همچنین طراحی و ساخت پروتئین‌های انگشت روی برای توالی‌های مورد نظر DNA و کاربردهای متفاوت از جمله فعالیت نوکلئازی گنجانده شده است (۹).

www.SID.ir

Archive of SID

اخیراً شرکت Gendaq\Sangamo با استفاده از روش‌های بیان فاژی و هیبرید باکتریایی در جهت تهیه آرشیوهای ۶ نوکلئوتیدی (۲ واحد انگشت روی) استفاده کرده است و نتایج کار خود را در اختیار شرکت سیگما قرار داده است. همچنین برای استفاده از این تکنیک‌ها در موجودات زنده دیگر از جمله باکتری‌ها و مخمرها، از این میزبان ها نیز جهت تولید و بررسی پروتئین‌های انگشت روی استفاده شده است. روش‌های بیوانفورماتیکی نیز از طریق مدل‌سازی شرایط اتصال، نقش زیادی در افزایش راندمان پروتئین‌های انگشت روی داشته‌اند. با استفاده از روش‌های مذکور تاکنون تعدا زیادی پروتئین حاوی ۴-۶ واحد انگشت روی برای شناسایی توالی‌های به ترتیب ۱۲ و ۱۸ نوکلئوتیدی تولید و مورد استفاده قرار گرفته است (۱).

۵. کاربرد پروتئین های انگشت روی در علوم دامی

میوستاتین پروتئینی است که بوسیله ی سلول‌های عضلات اسکلتی ساخته می‌شود، وارد خون جاندار می‌شود و رشد عضلانی را کند می‌کند، میوستاتین یک تنظیم کننده منفی جهت رشد سلول‌های ماهیچه ای است، که اگر موتاسیونی در ناحیه کدکننده این ژن اتفاق افتد، باعث تغییر نقش تنظیم کنندگی آن شده و افزایش عضله را سبب می‌شود. که این امر از طریق افزایش سنتز پروتیئن صورت می‌گیرد. سلول‌های ساتلایت دسته‌ای از سلول‌های عضلانی بنیادی هستند که باعث افزایش رشد و ترمیم عضلات می‌باشد. از آنجا که مکانیسم میوستاتین در زیست شناسی سلول‌های ساتلایت به خوبی درک نشده است این مطالعه بر تولید سلول‌های حذفی تک آللی با استفاده از mRNA انگشت روی نوکلئاز (ZFN) و همچنین به منظور بررسی اثر اختلال در تکثیر و تمایز سلول‌های ساتلایت گوسفند اولیه به اجرا درآمد نوزده دو آللی و چهار کلون تک آللی حذفی بعد از تجزیه و تحلیل توالی به دست آمد. سلول‌های حذفی تک آللی متشابه با حذف ۵ جفت باز برای ارزیابی بیشتر مورد استفاده قرار گرفت . نتایج بدست آمده نشان داد که تک آللی حذفی ژن میوستاتین منجر به مهار شدن ترجمه می‌شود

مطالعات قبلی در گوسفند بر استفاده از روش‌های حذفی برای غیر فعال کردن ژن میوستاتین متمرکز بود. اخیراً تکنولوژی ZFN یک ابزار قدرتمند برای مهندسی ژنومی، برای جهش زایی هدفمند را فراهم کرده است.

ZFN به عنوان یک ابزار ویرایش قوی در تغییر ژنوم در موجودات مختلف از جمله حشرات، دوزیستان، گیاهان و پستانداران استفاده شده است. (۱۳).

با کمک ZFN ها ژانک و همکاران (۲۰۱۴) موفق به تولید فیبروبلاست جنین گوسفند با یک اختلال میوستاتین در جایگاه اگزون ۱ شدند. همچنین ثعلبی و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند که حذف ۵ جفت باز در اگزون شماره ۳ گوسفند منجر به مهار ترجمه ژن میوستاتین و در نتیجه افزایش تکثیر PSCs گوسفندی می‌شود.

در مطالعه ای که به منظور اثرات جهش MSTN بر رشد ماهیچه های اسکلتی از طریق نشانگر انگشت روی نوکلئاز روی خوک میشان صورت گرفت نشان دادند که خوک‌های با ماهیچه مضاعف دارای درصد بیشتری از فیبرهای ماهیچه‌ای سفید هستند و مقدار کلاژن کمتری دارند، همچنین گزارش شده است که خوک‌های با ماهیچه مضاعف دارای بافت‌های همبند کمتری هستند که به افزایش تردی گوشت کمک می‌کند (۱۲).

www.SID.ir

Archive of SID

در مطالعه‌ای که توسط لو و همکاران (۲۰۱۴) انجام شد با استفاده از ZFNs ژن میوستاتین را در گاو مختل کردند. توالی‌ها نشان داد که ۲۰ درصد جهش‌ها در سلول‌های سوماتیک و ۸/۳ درصد جهش‌ها bi allelic می‌باشد. تجزیه و تحلیل توالی bi allelic ژن میوستاتین انواع جهش در کلونی گوساله‌ها شامل ۶bp حذف در یک آلل و ۱۱۷ bp حذف و ۹ bp درج در آلل دیگر می‌باشد.

در گاو، ZFN واسط برای تولید بتالاکتوگلوبولین حیوانات جهش یافته انجام شد. بتالاکتوگلوبولین پروتئین آب پنیر در شیر گاو است. فیبروبلاست جنین گاوی ، با کدگذاری mRNA برای توالی ZFN های طراحی شده برای ژن بتالاکتوگلوبولین منتقل شد. توالی‌ها نشان داد که ۱۵ درصد سلول‌ها از یک نوع جهش از ژن بتاگلوبولین و ۳ درصد از کلون های تک سلولی حذفی Bi-allelic ژن BLG هستند. ژن BLG جهش یافته کوتاهتر (حذف ۹ و ۱۵ جفت باز) نسبت به تیپ وحشی بود (۷).

۶. نتیجه‌گیری

با توجه به قابلیت پروتئین‌های انگشت روی برای چسبیدن به یک قسمت خاص از DNA کاربرد این مولکول‌ها در بیولوژی و پزشکی مورد توجه قرار گرفته است. هم اکنون علاوه بر استفاده از این پروتئین‌ها در مهندسی ژنتیک به منظور برش اسیدهای نوکلئیک در یک قسمت خاص، در پزشکی به منظور ژن درمانی نیز از این مولکول‌ها استفاده می‌گردد. در حال حاضر چندین دارو به منظور درمان بیماری‌هایی از جمله ایدز، سرطان، هانتیگتون و برخی بیماری‌های خاص طراحی و ساخته شده است و در حال طی مراحل کلینیکی برای عرضه به بازار می‌باشند.

۷. منابع

۱. سبحانی نجف آبادی ا، موسویان ر، فرهمند ح . انگشت روی و کاربرد آن در بیوتکنولوژی . اولین کنگره ملی زیست شناسی و علوم طبیعی ایران.

۲. نوری دلویی م ، عبداله زاده ر ، اسدالهی ک. ویرایش هدف دار ژنوم با میانجی گری نوکلئازهای مهندسی شده، رویکردی نو در ژن درمانی. مجله علوم پزشکی دانشگاه سبزوار. ۱۳۹۳. ص ۱۳۱-۱۴۴

3. Attanayak V, Ramirez CL, Joung JK, Liu DR. Revealing off-target cleavage specificities of zinc-finger nucleases by in vitro selection. Nat Methods. 2011. 8(9): 765-70.

4. Baker M. Gene-editing nucleases. Nature methods. 2012. 9: 23-6.

5. Hall TM. Multiple modes of RNA recognition by zinc finger proteins. Curr. Opin. Struct. Biol. 2005.15 (3): 367–73.

www.SID.ir

Archive of SID

6. Händel EM, Alwin S, Cathomen T. Expanding or restricting the target site repertoire of zinc-finger nucleases: the inter-domain linker as a major determinant of target site selectivity. Mol Ther. 2009.17(1): 104-11.

7. Hauschild-Quintern J, Petersen B, Cost G J , Niemann H. Gene knockout and knockin by zinc-finger nucleases: current status and perspectives. Cellular and Molecular Life Sciences .springer. 2012.
8. Luo1 J, Song Z, Yu S, Cui D, Wang B, Ding F, Li S, Dai1 Y , Li N. Efficient Generation of Myostatin (MSTN) Biallelic Mutations in Cattle Using Zinc Finger Nucleases. PLOS ONE. 2014. 9.
9. Mandell J, Barbas C. Zinc Finger Tools: custom DNA-binding domains for transcription factors and nucleases. Nucleic Acids Res. 2006.34.

10. Miller J, McLachlan AD, Klug A. Repetitive zinc-binding domains in the protein transcription factor IIIA from Xenopus oocytes. EMBO J. 1985. 4 (6): 1609–14.
11. Pauwels K, Podevin N, Breyer D, Carroll D, Herman P. Engineering nucleases for gene targeting: safety and regulatory considerations. N Bbiotechnol. 2014. 31(1): 18-27.

12. Qian L, Tang M, Yang J, Wang Q, Cai1 C, Jiang S, Li H, Jiang K, Gao P, Ma D, Chen Y, An X, Li1 K , Cui W. Targeted mutations in myostatin by zinc-finger nucleases result in double-muscled phenotype in Meishan pigs. Scientific Reports .2015.
13. Salabi F, Nazari M, Chen Q, Nimal J, Tong J,. Cao W G. Myostatin knockout using zinc-finger nucleases promotesproliferation of ovine primary satellite cells in vitro. Journal of Biotechnology.2014.192 .268–280.

14. Sun N, Abil Z, Zhao H. Recent advances in targeted genome engineering in mammalian systems. Biotechnol J. 2012. 7(9): 1074-87.

15. Urnov Fyodor D, Edward J, Rebar, Michael C. Holmes, H. Steve Zhang, and Philip D. Gregory. Genome editing with engineered zinc finger nucleases. Nature Reviews Genetics. 2010. 11(9): 636-46.

16. Wolfe SA, Nekludova L, Pabo CO. DNA recognition by Cys2His2 zinc finger proteins. Annu Rev Biophys Biomol Struct. 2000; 29: 183-212.

17. Zhang C , Wang L , Ren G , Li Z , Ren C , Zhang T , Xu K , Zhang Z. Targeted disruption of the sheep MSTN gene by engineered zinc-finger nucleases. Mol Biol Rep .2014. 41:209–215.

www.SID.ir