مهندسی ژنتیک و ایمنی زیستی
ISSN 2588-5073 چاپی
ISSN 2588-5081 الکترونیکی
دوره ۷، شماره ۲، پاییز و زمستان ۹۷
صفحه ۲۴۳-۲۳۱

Genetic Engineering and Biosafety Journal
Volume 7, Number 2

وکتورهای ویروسی به عنوان ابزاری برای انتقال ژن و تولید حیوانات تراریخته

Viral vectors as a tool for gene transfer and the production of transgenic animals

زهرا رودباری*[۱] و خدیجه نصیری[۲]
Zahra Roudbari[1] and Khadijeh Nasiri[2]

۱ –گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جیرفت، ایران
۲ –گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده‌علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

1- Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Jiroft, Iran
2- Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Science, University of Mazandaran, Babolsar, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: Roudbari.zahra@ujiroft.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹۷/۱۰/۱۷ – تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۲/۲۶)

چکیده

تکنولوژی انتقال ژن در پی استفاده از حیوانات و پرندگان به عنوان بیوراکتورهای زیستی در تولید پروتئین‌های دارویی، صنعتی و نوترکیب در مقیاس بالا و همچنین استفاده از مدل‌های حیوانی برای بیماری‌های خاص و بررسی اثرات ژن‌های درمانگر در آن‌ها می‌باشد. روش‌های متفاوتی برای انتقال ژن در سلول‌های یوکاریوتی ایجاد شده است که از آن جمله می‌توان به روش‌های فیزیکی، شیمیایی و استفاده از ویروس‌ها اشاره کرد. پیشرفت های تکنولوژیکی و دانش روزافزون در حوزه ویروس شناسی مولکولی و روابط بین ویروس- میزبان، ایمنی وکتورهای ویروسی را بهبود داده است که در حال حاضر برای بررسی عملکرد ژن در سطح سلول، اصلاح نقص‌های ژنتیکی (ژن درمانی)، بیان پروتئین‌های درمانی، واکسیناسیون علیه عوامل عفونی و تومورها، تولید مدل‌های حیوانات آزمایشگاهی و اهداف دیگر مورد استفاده قرار می‌گیرد. با افزایش اطلاعات محققین درباره سیکل زندگی ویروس‌ها و به دلیل توانایی ذاتی آنها در انتقال و الحاق ژنوم خود در ژنوم میزبان، آنها به یک ابزار قوی برای انتقال ژن تبدیل شده‌اند. از وکتورهای ویروسی به اشکال مختلفی برای انتقال ژن و تولید حیوانات تراریخته استفاده شده که از آن جمله می‌توان به تزریق مستقیم ویروس‌های نوترکیب و ناقل ژن به بافت هدف و یا تیمار سلول‌های بنیادی با ویروس نوترکیب و انتقال سلول‌های نوترکیب به بافت هدف و یا تیمار سلول‌های جنینی در مراحل اولیه جنینی اشاره کرد. در این مطالعه سعی بر آن است تا به برخی از مهمترین روش‌های انتقال ژن با استفاده از وکتورهای ویروسی، مزایا و محدویت‌های آن‌ها در انتقال ژن اشاره گردد.

واژه‌های کلیدی

انتقال ژن،
حیوانات تراریخته،
وکتورهای ویروسی،
ویروس نوترکیب

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-03]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1397.7.2.9.0]

مقدمه

انتقال ژن و تولید حیوانات تراریخته یکی از دستاوردهای مهم بشر در قرن حاضر می‌باشد که به وسیله‌ی این تکنولوژی می‌توان موجوداتی با ویژگی‌های خاص و اهداف خاص تولید کرد. در سال۲۰۰۰ اولین پروتئین نوترکیب به وسیله حیوانات تراریخته تولید و به بازار عرضه شد (Houdbine 2000). در طول دهه‌های گذشته تعداد زیادی از پروتئین‌های نوترکیب انسانی در شیر پستانداران ترانسژنیک از جمله گاو، بز، گوسفند و خرگوش بطور موفقیت آمیز تولید شده است (Montgomery 2004). بیشتر تلاش‌ها برای انتقال ژن و تولید موجودات ترانس‌ژن در راستای کاربردهای پزشکی بوده چرا که به خاطر زمان بر بودن و هزینه بر بودن تولید حیوانات ترانسژن به نظر می‌رسد که این تکنولوژی تنها در کاربردهای پزشکی و درمانی و تولید داروهای نوترکیب اقتصادی باشد (Dyck *et al*., 2003). در این راستا تکنولوژی انتقال ژن در پی استفاده از حیوانات و پرندگان به عنوان بیوراکتورهای زیستی در تولید پروتئین‌های دارویی، صنعتی و نوترکیب در مقیاس بالا و همچنین استفاده از مدل‌های حیوانی برای بیماری‌های خاص و بررسی اثرات ژن‌های درمانگر در آن‌ها می‌باشد (Dyck *et al*., 2003). پیش از این، از سیستم‌های باکتریائی و مخمرها به عنوان بیوراکتورهای زیستی برای تولید پروتئین‌های دارویی و صنعتی با ارزش استفاده می‌شد، اما این سیستم‌ها به خاطر امکان آلودگی محصول به سموم باکتریائی و عدم امکان گسترش زیاد این سیستم به خاطر تهدید امنیت زیستی بشر و پیچیده بودن فرآیند تخلیص محصول از باکتری و همچنین تفاوت در فرایند اصلاح پروتئین نوترکیب پس از ترجمه همانند گلیکوزیلاسیون و فسفوریلاسیون در سلول‌های پروکاریوتی، چندان مناسب به نظر نمی‌رسد (Wong *et al*., 2008). افزایش روز افزون تقاضای بازار به پروتئین‌های دارویی نیاز به سیستم‌هایی با کارایی بالاتر را ملموس‌تر می‌کند. با تولید گیاهان تراریخته، سیستم‌های گیاهی به عنوان بیوراکترهای زیستی برای تولید پروتئین‌های دارویی مطرح شدند. با وجود اینکه گیاهان معایب سیستم‌های باکتریایی را ندارد، ولی مشکل عمده‌ی آن گلیکوزیلاسیون متفاوت با سیستم‌های جانوری است که این امر باعث تغییر ساختار پروتئین و کاهش یا تغییر کارآیی آن می‌شود (Wong *et al*., 2008). تولید حیوانات تراریخته و استفاده از حیوانات به عنوان بیوراکتورهای زیستی می‌تواند راه حل مشکلات سیستم‌های قبلی باشد، چرا که در سیستم های یوکاریوتی پروتئین تولید شده کاملاً شبیه به نوع طبیعی آن می‌باشد و همچنین امکان تولید انبوه پروتئین‌های نوترکیب و تولید پروتئین‌های دارویی بزرگ و پیچیده در این سیستم‌ها امکان پذیر می‌باشد (Mehier-humbert and Guy 2005). تکنیک‌های مختلفی برای تولید حیوانات تراریخته به وجود آمده است که از آن جمله می‌توان به روش‌های شیمیایی، فیزیکی و استفاده از وکتورهای ویروسی (Mehier-humbert and Guy 2005) را نام برد. با افزایش اطلاعات محققین درباره سیکل زندگی ویروس‌ها و به دلیل توانایی ذاتی آن‌ها در انتقال و الحاق ژنوم خود در ژنوم میزبان، به یکی از ابزار بسیار قوی برای انتقال ژن تبدیل شده‌اند. در بین وکتورهای ویروسی لنتی ویروس‌ها به خاطر برخی توانایی‌ها و قابلیت‌های خاص یکی از قویترین و پرکاربردترین ابزار انتقال ژن به شمار می‌روند. از وکتورهای ویروسی به اشکال مختلفی برای انتقال ژن و تولید حیوانات تراریخته استفاده شده است که از آن جمله می‌توان به تزریق مستقیم ویروس‌های نوترکیب و ناقل ژن به بافت هدف در بافت مورد نظر و یا تیمار سلول‌های بنیادی با ویروس نوترکیب و انتقال سلول‌های نوترکیب به بافت هدف و یا تیمار سلول‌های جنینی در مراحل اولیه جنینی اشاره کرد. در این مطالعه سعی بر آن است تا به روش‌های انتقال ژن و روش‌های نوین تولید

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-03]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1397.7.2.9.0]

حیوانات تراریخته و استفاده از وکتورهای ویروسی برای انتقال ژن اشاره گردد.

روش‌های انتقال ژن

روش‌های شیمیایی: در این روش‌ها بدون ایجاد صدمات فیزیکی در غشاء سلول، DNA خارجی وارد سلول می‌شود. در این روش‌ها مواد شیمیایی سلول را به جذب قطعه‌ی DNA خارجی ترغیب می‌کند که در نهایت وارد هسته‌ی سلول می‌گردد و در ترکیب ژنتیکی ادغام می‌شود. تمام این روش‌ها وابسته به خاصیت آبگریزی و شارژ منفی غشاء می‌باشد. این در حالی است که DNA یک مولکول آب‌دوست با شارژ منفی می‌باشد، حال اگر مولکول DNA با کمک مواد شیمیایی دارای بار مثبت شود می‌تواند با غشاء ترکیب شده و وارد سلول شود. از جمله روش‌های شیمیایی می‌توان به کلسیم فسفات، دی اتیل آمینو اتیل دکستران (DEAE-dextran) و انتقال به وسیله‌ی لیپوزوم که در روش اخیر مولکول DNA درون یک پوشش لیپوزومی قرار می‌گیرد که این پوشش لیپوزومی با غشاء ترکیب شده و قطعه‌ی DNA را وارد سلول می‌کند (Distler *et al*., 2005).

روش‌های فیزیکی: در این تکنیک‌ها با استفاده از نیروهای فیزیکی DNA خارجی وارد سیتوپلاسم و یا هسته‌ی سلول می‌شود. در ادامه اشاره‌ای کوتاه به این روش‌ها خواهد شد.

۱) الکتروپوریشن (Electroporation): در این روش غشاء سلول در معرض پالس‌های الکتریکی قرار می‌گیرد که این پالس‌ها باعث ایجاد روزنه‌های نانومتری در غشاء شده که به مدت ۳۰ دقیقه پایدار می‌مانند و در این مدت DNA آزاد در محیط جذب سلول می‌شود. بعد از حدود ۳۰ دقیقه روزنه‌ها بسته شده و سلول بدون صدمات قابل توجه به حالت طبیعی برمی‌گردد (Wallace *et al*., 2009)

۲) لیزر پوریشن (Laser Poration) : در این روش با استفاده از پرتوهای ظریف لیزری منافذی در غشاء سلول ایجاد می‌شود که به این طریق DNA آزاد در محیط کشت وارد سلول می‌شود. از این روش به‌طور وسیع استفاده نمی‌شود (Du *et al*., 2018).

۳) ریز تزریقی (Microinjection): در این روشDNA با استفاده از سوزن‌های بسیار ریز وارد سیتوپلاسم و یا هسته‌ی سلول می‌شود. این روش همانند روش قبل به صرف زمان زیاد برای تولید تعداد مشخصی سلول تراریخته احتیاج است (Barber 1991; Bora2014).

٤) تفنگ ذرات (particle bombardment): در این روش مولکول DNA با ذرات بسیار ریز طلا یا ذرات تنگستن پوشانده شده و به وسیله‌ی تفنگ ذرات با شتاب زیاد به سمت سلول پرتاب می‌شود و به این وسیله مولکول DNA وارد سلول می‌شود (Vanegas *et al*., 2006).

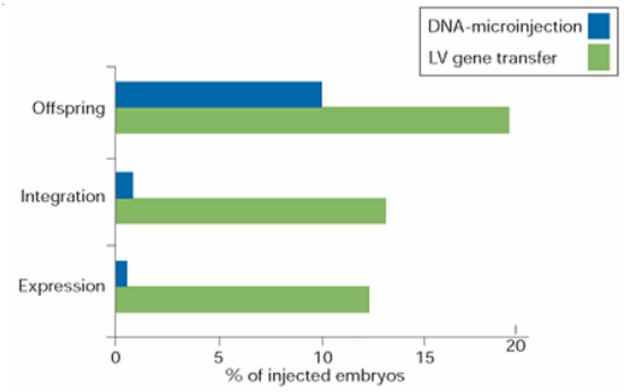
انتقال ژن با وکتورهای ویروسی

در روش‌های غیر ویروسی انتقال ژن، که شامل روش‌های فیزیکی و شیمیایی می‌باشد، درصد موفقیت پایین بوده و نمی‌توان انتظار داشت که قطعه‌ی هدف با نسبت مناسبی در ژنوم میزبان وارد شود و در واقع این احتمال که قطعه‌ی هدف در ژنوم القاء شود، بسیار اندک است و قطعه‌ی DNA آزاد تنها برای مدت کوتاهی قادر است جدا از DNA کرموزومی سالم بماند و بعد از مدتی به وسیله‌ی آنزیم‌های سلولی مورد تجزیه قرار می‌گیرد (Nayerossadat *et al*., 2012). ویروس‌ها به طور طبیعی توانایی بالایی در انتقال و الحاق ژنوم خود در ژنوم سلول میزبان را دارند (Houdebine 2003; Walther and Stein). افزایش اطلاعات در مورد چرخه زندگی ویروس‌ها باعث شده است تا با حذف و جایگزینی برخی از ژن‌های ویروسی و قرار دادن ژن هدف در ساختار ژنتیکی آنها ویروس‌های نوترکیبی را ایجاد کرد که برای اهداف انتقال ژن استفاده شود (Blomer *et al*., 2002).

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-03]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1397.7.2.9.0]

در تمام وکتورهای ویروسی با استفاده از روش‌های مهندسی ژنتیک حذف‌هایی در ژن‌های اصلی و فرعی ویروس ایجاد شده است و این ویروس‌های نوترکیب تنها قادر به الحاق DNA هدف در ژنوم سلول‌های میزبان می‌باشند. برای ساخته شدن کامل وکتورهای ویروسی نوترکیب عناصر لازم به صورت جداگانه توسط پلاسمیدهای کمک کننده تأمین می‌شود و برای بسته‌بندی ویروس از سلول‌های بسته‌بندی کننده استفاده می‌شود که این امر ایمنی کار با این وکتورهای ویروسی را بالاتر می‌برد. برای اینکه وکتور ویروسی بتواند دامنه وسیع‌تری از سلول‌ها را آلوده کند پوشش ویروسی، با پوشش ویروس‌هایی که دارای کارایی بیشتری می‌باشند و دامنه وسیع‌تری از سلول‌ها را آلوده می‌کنند تعویض می‌گردد (Ronald *et al.*, 2008).

از ویژگی‌هایی که این وکتورها را به ابزار مناسبی برای انتقال ژن تبدیل کرده است می‌توان به میزان موفقیت بالا در عمل انتقال ژن تا حدود ۱۰ تا ۱۵ درصد، القاء قطعه بزرگتر نسبت به وکتورهای دیگر (قدرت الحاق بالا) و ماندگاری بالای قطعه مورد نظر در ترکیب DNA حیوان را نام برد (Fässler 2004). در مقایسه‌ای که سازمان بیولوزی مولکولی اروپا (EMBO) در سال ۲۰۰٤ بین دو روش میکروواینجکشن و استفاده از وکتورهای لنتی ویروسی انجام داد، نشان دهنده این موضوع بود که میزان موفقیت القاء و بیان ژن در خوک با استفاده از میکروواینجکشن کمتر از ۲ درصد می‌باشد و این در حالی است که میزان موفقیت القاء و بیان ژن با لنتی ویروس‌ها بیشتر از ۱۲ درصد بود (شکل ۱). همچنین گزارش‌های دیگری میزان موفقیت القاء و بیان ژن به روش میکروواینجکشن به پیش هسته در حیوانات آزمایشگاهی مانند موش و خرگوش را کمتر از ٤ درصد عنوان کرد (Fässler 2004).



شکل ۱- مقایسه آماری دو روش میکرو اینجکشن و وکتورهای لنتی ویروسی در بیان و القاء ژن (Fässler 2004).

Figure 1- Statistical comparison of two methods of microinjection and lentiviral vector in expression and gene induction.

این در حالی است که به دلیل افزایش کارایی این وکتورهای ویروسی با بهبود و اصلاح وکتورها و روش‌های انتقال ژن با این ابزار روز به روز توانایی و میزان استفاده از این ابزار انتقال ژن بیشتر و بیشتر می‌شود.

از جمله عمده‌ترین وکتورهای ویروسی که در انتقال ژن استفاده شده است، می‌توان به لنتی‌ویروس‌ها (Mortazavidehkordi *et al.*, 2018; Roudbari *et al.*, 2016)، رتروویروس‌ها (Cornetta et al., 2018; Sauce *et al.*, 2018)، آدنوویروس‌ها (Nathwani *et al.*, 2011; Rolling *et al.*, 1997) و هرپس ویروس‌ها (Chattopadhyay *et al.*, 2004) اشاره کرد.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-03]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1397.7.2.9.0]

وکتورهای آدنو ویروس(Adenoviral vectors)

این وکتورهای ویروسی از آدنوویروس‌ها مشتق شده‌اند، به طوری که DNA دو رشته‌ای ویروس استخراج شده و با ایجاد حذف‌هایی در ترکیب آن و اضافه کردن قطعه‌ی هدف در ترکیب DNA ویروس به دست می‌آید. در این وکتورها بخش‌هایی از DNA ویروسی که سیگنال‌های بسته‌بندی را کد می‌کند و همچنین LTR 5 بدون تغییر باقی می‌ماند (Houdebine 2003). وکتورها مذکور این توانایی را دارند که توالی‌های اسید نوکلئیک را تا اندازه‌هایی در حدود ۸/۳ کیلو باز بسته بندی کنند (Baylor 2007).

آدنو ویروس‌ها از جمله وکتورهای انتقال ژن بسیار عالی به شمار می‌روند و برای سطوح بیانی بالا در تولیدات ترانسژن در سلول‌های کشت شده استفاده می‌شود (Ng and Graham 2002). این ویروس‌ها دارای ژنوم بسیار ساده‌ای بوده و دستکاری آن بسیار آسان است، پایدارند و به راحتی خالص‌سازی و یا تخلیص می‌شوند. قابل انتقال به تیپ‌های زیادی از سلول‌ها در حیوانات مختلف بوده و توانایی الحاق هم در سلول‌های در حال تقسیم و سلول‌های غیر قابل تقسیم می‌باشند. با توجه به ویژگی‌های ذکر شده این ویروس به عنوان وکتورهای بالقوه برای ژن درمانی به شمار می‌روند (Ng and Graham 2002). صرف نظر از دارا بودن خصوصیات مطلوب آدنو ویروس‌ها جهت استفاده در تولیدات ترانسژن، استفاده از آدنو ویروس‌ها به عنوان وکتور جهت انتقال ژن ممکن است با مشکلاتی و معایبی از قبیل ایمنی‌زایی بالا، سطوح بالای ایمنی موجود از قبل، بیان موقتی از ترانسژن، عدم توانایی ادغام ژنوم وکتور به درون ژنوم سلول میزبان همراه می‌باشد (Vannucci *et al*., 2013).

وکتور مبتنی بر ویروس‌های AAV (Adeno-associated viral vectors)

این وکتورها از ویروس‌های بدون پوشش بسیار ساده از خانواده‌ی *parvoviridae* بدست می‌آید و دارای DNA تک رشته‌ای می‌باشد. این ویروس‌ها به خاطر بیماری زا نبودن و ایمنی‌زایی کم، پایداری و پتانسیل آن برای القاء ژن به عنوان یک وکتور خوب برای ژن درمانی ظاهر شده‌اند (Büning *et al*., 2008). تاکنون هیچ بیماری مرتبط با این ویروس، چه در انسان و چه در جمعیت‌های حیوانی گزارش نشده است. همچنین توانایی این ویروس برای الحاق ژن هم در سلول‌های در حال تقسیم و سلول‌های بالغ و بیان طولانی مدت ژن توسط این وکتور در بافت‌هایی مانند مغز، ماهیچه‌های اسکلتی و کبد باعث شده است که این ویروس به عنوان یک وکتور ایدال برای انتقال ژن تلقی گردند (Okada *et al*., 2002). از جمله معایب استفاده از وکتور مبتنی بر ویروس‌های AAV این است که این وکتورها قادرند تا ۵ کیلو جفت باز از DNA را انتقال دهند. دست‌یابی به تیتر بالای ویروس نوترکیب نیز ممکن است مشکل باشد. در برخی موارد نیز ممکن است که نیاز به آلوده‌سازی همزمان توسط ویروس کمک کننده باشد (آدنو ویروس یا ویروس هرپس سیمپلکس) (Vannucci *et al*., 2013).

وکتورهای هرپس ویروس سیمپلکس (Herpes simplex virus vectors)

این وکتورها از ویروس‌های هرپس ویروس که ویروس‌های پوشش‌دار با DNA دو رشته‌ای به طول۲۰۰-۱۰۰ کیلو باز می‌باشند، به دست می‌آیند. این وکتورهای ویروسی دامنه وسیعی از سلول‌ها را آلوده می‌کند و قادر به انتقال DNA تا ۵۰ کیلو جفت باز می‌باشند. همچنین ویروس نوترکیب با تیتر بالا تولید می‌شود (10^{12} pfu/ml)(Vannucci *et al*., 2013). دو نوع هرپس ویروس به عنوان ناقل ویروسی گسترش پیدا کرده است که شامل Epstein-barr virus (EBV) و Herpes simplex virus (HSV) می‌باشند (Burton *et al*., 2002). تأثیرگذاری EBV تنها محدود به

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-03]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1397.7.2.9.0]

سلول‌های لنفوسیت B و تعداد کمی از سلول‌های دیگر می‌باشد، به همین خاطر به عنوان یک وکتور انتقال ژن متدوال استفاده نمی‌شود. این در حالی است که از HSV بیشتر به عنوان یک وکتور استفاده می‌شود چرا که وکتورهای HSV دامنه وسیعی از سلول‌ها را آلوده می‌کند و می‌تواند وسیله‌ی بسیار مناسبی برای الحاق مواد ژنتیکی خارجی در ژنوم سلول‌ها باشند (Burton *et al*., 2002). از جمله معایب وکتورهای هرپس ویروس شامل سمیت سلولی باقی‌مانده احتمالی، بیان گذرا از ترانسژن، عدم توانایی ادغام ژنوم وکتور یه درون ژنوم سلول میزبان، خطر نونرکیبی با سلول‌های آلوده به ویروس هرپس و سطوح بالای ایمنی موجود از قبل باشند (Vannucci *et al*., 2013).

وکتورهای رتروویروسی (Retroviral vectors)

این وکتورها از رتروویروس‌ها مشتق می‌شوند که ویروس‌های پوشش دار با ماده‌ی ژنتیکی RNA می‌باشند. این وکتورها قادرند تا ۸ کیلو جفت باز از DNA را انتقال دهند و دامنه وسیعی از سلول‌ها را آلوده و ذرات وکتوری با تیتر بالا تولید می‌کنند (10^6-10^8 pfu/ml). این وکتورها ایمنی‌زایی کمی دارند (Vannucci *et al*., 2013). ویژگی مهم این ویروس‌ها، رونویسی معکوس و تبدیل RNA به DNA و الحاق ماده‌ی ژنتیکی به ژنوم سلول می‌باشد (Wechuck 2002). این ویروس‌ها بعد اتصال به سلول، ماده‌ی ژنتیکی خود را وارد سلول کرده و با استفاده از آنزیم ریورس ترانسکریپتاز RNA تک رشته‌ای را به DNA دو رشته‌ای تبدیل کرده و درون ژنوم سلول الحاق می‌کند. ژنوم این ویروس‌ها ۳ دسته ژن عمده دارند که شامل ژن کد کننده پروتئین‌های هسته‌ی ویروس (gag)، ژن‌های پلی‌مراز (pol) که شامل آنزیم‌های ترانس کریپتاز و انتگراز می‌باشد و ژن کد کننده پروتئین‌های پوششی (env) (Wu and Burgess 2004). در وکتورهای رتروویروسی نیز با حذف‌هایی در توالی‌های خاص در ژنوم ویروس و جایگزین کردن ژن هدف در ژنوم ویروس ایجاد می‌شود. در این وکتورها به خاطر حذف‌های ویژه در ژنوم ویروس خطر بیماری‌زایی ویروس از بین می‌رود به طوری که این وکتورها تنها قادرند DNA هدف را طی یک چرخه‌ی آلوده سازی سلولی در ژنوم میزبان القاء کنند. از جمله ویروس‌هایی که در این خانواده بیشتر به عنوان وکتور استفاده می‌شود، می‌توان به لنتی ویروس‌ها مثل HIV و همچنین به MLV اشاره کرد (Wechuck 2002). از جمله معایبی که می‌توان برای وکتورهای رتروویروسی اشاره کرد شامل انتقال فقط سلول‌های قابل تکثیر، پایداری کم، خطر ابتلا به جهش‌زایی الحاقی، ادغام تصادفی ژنوم رتروویروسی، نامناسب برای سلول‌های غیرتکثیری می‌باشند (Vannucci *et al*., 2013).

وکتورهای لنتی ویروس (Lentiviral vectors)

لنتی‌ویروس‌ها در گروه لنتی‌ویرینه‌ها که از خانواده رتروویروس‌ها می‌باشند، قرار دارد. این ویروس‌ها دارای پوشش پروتئینی بوده و دارای ژنوم RNA به همراه ریورس ترانس کریپتاز معکوس می‌باشند (Quinonez *et al*., 2002). ذرات ویروسی حدود ۱۰۰ نانومتر بوده و داری ژنوم ۱۰-۹ جفت باز می‌باشند. تیپ وحشی این ویروس‌ها باعث بیماری نقص ایمنی در انسان و موجودات مختلف می‌گردد. از جمله‌ی لنتی ویروس‌ها می‌توان به HIV (Human Immunodeficiency Virus)، FIV (Feline Immunodeficiency Virus)، BIV (Bovine Immunodeficiency Virus)، MLV (Murine Leukemia Virus)، EIAV (Equine Infectious Anemia Virus) اشاره کرد (Quinonez and Sutton, 2002).

وکتورهای لنتی‌ویروسی با ایجاد حذف‌هایی در برخی از ژن‌های اصلی و فرعی ویروس و مهندسی بر روی ژنوم ویروسی به دست می‌آیند. برای افزایش ایمنی کار با این وکتورهای ویروسی توالی‌های ضروری برای تولید و بسته‌بندی ویروس‌های نوترکیب به صورت جدا در

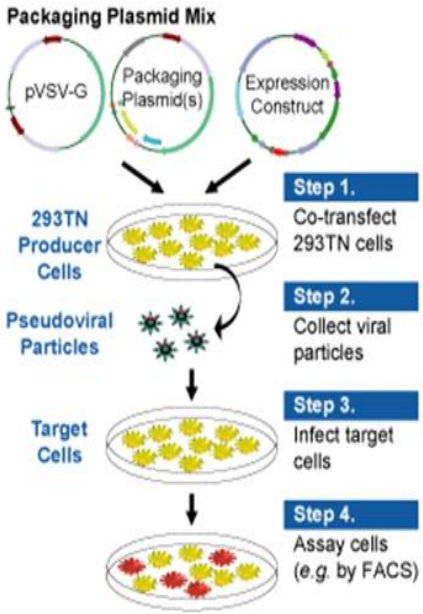
[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-03]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1397.7.2.9.0]

وکتورهای مختلف قرار گرفته است (Delenda 2004). وکتورهای لنتی‌ویروسی دارای ویژگی‌های مثبتی می‌باشند که باعث برتری این وکتورها از دیگر وکتورها ویروسی شده از جمله این ویژگی‌ها می‌توان به موارد زیر اشاره کرد.

۱) قدرت الحاق کنندگی بالا و بیان پایدار ژن مورد نظر در ترکیب DNA سلول‌های هدف (Sven *et al*., 2009)، ۲) امکان درج قطعه جدید هم در سلول‌های بالغ و هم در سلول‌های در حال تقسیم (Kuate *et al*., 2004; Vannucci *et al*., 2013)، ۳) عدم ایجاد پاسخ ایمنی ناخواسته و بیان خالص ژن کد کننده پروتئین و تولید پروتئین دارویی خالص به خاطر عدم وجود هیچ‌گونه قطعه کد کننده پروتئین‌های ویروسی در ویروس نوترکیب (Naldini *et al*., 1996; Wolkowicz and Nolan 2003)، ٤) امنیت زیستی بالا به خاطر حذف تمام قطعه‌های بیماری‌زای ویروس (حذف گروهی از ژن‌های ضروری مانند gag، pol و env و قرار دادن آن‌ها به صورت جداگانه در ناقل‌های کمکی) و عدم ایجاد پاسخ ایمنی به دلیل نیمه عمر پایین پروتئین‌های ساختاری ویروس (Zeger 2003)، ٥) تولید ویروس نوترکیب در مدت زمان بسیار کوتاه و قدرت انتقال قطعه‌های بزرگتر (De Felipe and Izquierdo 2003)، ٦) سلول‌های هدف وکتورهای لنتی ویروس گستره وسیعی از سلول‌ها از جمله سلول‌های بنیادی مختلف، سلول‌های عضلات اسکلتی، سلول‌های فیبروبلاست، سلول‌های دستگاه اعصاب مرکزی، سلول‌های قلب، سلول‌های غدد درون ریز، سلول‌های کبدی و سلول‌های شبکیه می‌باشند (Bikhof-Torbat *et al*., 2009) که با توجه به این ویژگی‌ها است که وکتورها لنتی ویروسی می‌توانند ابزار مناسبی برای انتقال ژن، ژن درمانی و تولید حیوانات نوترکیب باشند. این احتمال نیز وجود خواهد داشت که استفاده از لنتی ویروس‌ها با معایبی نیز همراه باشد که از جمله این معایب می‌توان به جهش‌زایی‌های احتمالی، حضور پروتئین‌های تنظیمی (tat, rev,..) در سازه بسته‌بندی و بیان گذرا از ترانسژن در ادغام با وکتور معیوب اشاره کرد (Vannucci *et al*., 2013). راهکاری که جهت افزایش ایمنی کار با ناقل‌های لنتی ویروسی به کار گرفته شده است، حذف گروهی از ژن‌های ضروری مانند توالی‌های مورد نیاز جهت بسته‌بندی ویروسهای نوترکیب از ساختار لنتی ویروسی (gag, pol, env) و قرار دادن آن‌ها به صورت جداگانه در ناقل‌های کمکی است (Delenda 2004). تاکنون ٤ نسل از ناقلهای لنتی ویروسی معرفی شده است.

برای تولید ویروس‌های نوترکیب وکتورهای کمک‌کننده به همراه وکتور بیانی که حاوی ژن هدف می‌باشد با تکنیک کلسیم فسفات وارد سلول‌های بسته‌بندی کننده مثل HEK293T شده و هریک از این وکتورها بخشی از ذرات ویروسی را تولید کرده و ویروس درون سلول بسته‌بندی و آزاد می‌شود. بعد از انتقال همزمان این وکتورها به سلول‌های بسته‌بندی کننده ویروس‌های نوترکیب تولید شده و وارد محیط سلولی می‌گردد، ویروس‌های نوترکیب از محیط سلولی برداشت شده تغلیظ می‌گردد و آماده برای استفاده در اهداف انتقال ژن می‌باشد (Kutner *et al*., 2009). شکل ۲ مراحل تولید و انتقال ویروس‌های نوترکیب را به طور شماتیک نشان می‌دهد.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-03]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1397.7.2.9.0]



شکل۲- تولید و انتقال ویروس های نوترکیب به سلول‌های هدف (Kutner *et al*., 2009).

Figure 2- Production and transfer of recombinant viruses to target cells.

Naderian و همکاران (2007) گزارش کردند که وکتور لنتی ویروس یکی از مناسب‌ترین وکتورها برای انتقال و بیان ژن گلوکوسربروزداز سلولهای HEK می‌باشد. در مطالعه‌ای Bikhof-Torbati و همکاران (2009) از لنتی وکتورها به منظور انتقال ژن بتاتالاسمی (β-thalassemia gene) استفاده کردند. همچنین در مطالعه دیگر Roudbari و همکاران (2016) استفاده موفق از وکتور لنتی ویروس به عنوان ابزار موثر در انتقال پایدار ژن فاکتور رشد شبه انسولین (Insulin-like growth factor gene) به سلول هدف را گزارش کردند. با توجه به توانایی‌ها و قابلیت‌های وکتورهای ویروسی در انتقال ژن و الحاق ژن هدف در ژنوم میزبان، ویروس‌ها به ابزار بسیار قدرتمند برای تولید حیوانات و پرنده‌های تراریخته تبدیل شده‌اند. تحقیقات زیادی برای تولید حیوانات تراریخته با استفاده از وکتورهای ویروسی انجام شده است که در ادامه به انواع روش‌های تولید حیوانات و پرندگان تراریخته با استفاده از وکتورهای ویروسی اشاره می‌شود.

روش‌های تولید حیوانات تراریخته به وسیله‌ی وکتورهای ویروسی

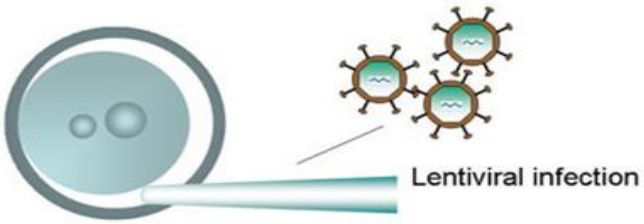
تزریق ویروس در اووسیت

در این روش ویروس‌های نوترکیب آماده شده به ناحیه بین لایه زونا پلوسیدا و غشاء سیتوپلاسم تزریق می‌شود. در این روش بعد از باروری آزمایشگاهی، اووسیت‌ها در مایع اویدوک مصنوعی کشت داده می‌شوند و سپس با استفاده از روش ورتکسینگ سلول‌های کمولوس را از اطراف سلول و لایه‌ی زونا پلوسیدا جدا کرده و لنتی ویروس‌های نوترکیب را با استفاده از روش میکرو اینجکشن به ناحیه Subzonzal تزریق می‌کنند. در تحقیقاتی که Hofmann و همکاران (2004) انجام دادند توانستند گاوهای تراریخته تولید کنند که قادر به بیان ژن گزارشگر GFP در بافت‌های مختلف بدن بودند (Hofmann *et al*., 2003; Hofmann *et al*., 2004).

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-03]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1397.7.2.9.0]

تزریق به اندام خاص در حیوان هدف

در این روش ویروس نوترکیب به اندام هدف تزریق شده تا ژن مورد نظر در سلول‌های اندام مورد نظر الحاق شود (شکل۳). این روش در تحقیقات ژن درمانی و بررسی بیماری‌های خاص در مدل‌های حیوانی کاربرد زیادی دارد به طوری که با تزریق ویروس نوترکیب ناقل ژن درمانگر به بافت بیمار، یا آلوده‌سازی سلول‌های هدف با ویروس نوترکیب اثرات درمانی ژن هدف مورد مطالعه قرار می‌گیرد. محققان در سال 2004 ویروس نوترکیبی را که دارای ژن LacZ/*شرشیاکلی* بود را به لوله‌ی منی‌ساز موش وارد کرده و به این طریق ازاین موش‌ها نتاج تراریخته‌ای که ژن مورد نظر را بیان می‌کردند به‌وجود آوردند (Kanatsu Shinohara *et al.*, 2004). همچنین در تحقیقی دیگر، ژن GFP که تحت کنترل پروموتور ژن سیناپسین I انسانی بود را از طریق لنتی ویروس به سلول‌های جنین جوجه‌های یک روزه وارد کردند و بیان این ژن را در طناب نخائی جوجه‌های ٦روزه و بالاتر مشاهده نمودند (Scott and Lois 2005).



شکل ۳- تزریق ویروس نوترکیب به اندام خاص در حیوان هدف (Lois *et al.*, 2002).

Figure 3- Injection of recombinant virus into specific organ in target animal.

تیمار جنین‌های در حال رشد با ویروس‌های نوترکیب

در این روش پس از استخراج جنین‌های دو سلولی از اویدوک ماده‌هایی که تحت تیمار گنادوتروپین انسانی قرار گرفته، سوپراوالاسیون شده و جفت‌گیری داده شده‌اند، جمع‌آوری می‌شوند و به مدت ۲/۵ روز در دمای ۳۷ درجه به همراه وکتورهای ویروسی انکوبه کرده و سپس سلول‌های آلوده شده با ویروس و ناقل ژن هدف به رحم حیوانات ماده که از قبل آماده شده‌اند، انتقال داده می‌شود. نتاج به دست آمده از این روش دارای ژن هدف می‌باشند (Ikawa *et al.*, 2003).

روش‌های تولید پرندگان تراریخته به وسیله‌ی وکتورهای ویروسی

تزریق ویروس به جنین در حال رشد

در این روش ویروس نوترکیب ناقل ژن هدف به جنین‌های در حال رشد تزریق می‌شود که تزریق ویروس می‌تواند در رگ‌ها و یا قلب جنین در حال رشد باشد. چاپمن و همکاران (2005) ژن گزارشگر GFP را که تحت کنترل پروموتور ژن فسفوگلیسرول کیناز بود را به وسیله وکتورهای لنتی ویروسی به جنین جوجه‌ها تزریق کردند و بیان این ژن را در تمام قسمت‌های بدن جوجه‌ها مشاهده کردند (Chapman *et al.*, 2005).

McGrew و همکاران (2004) نیز به وسیله وکتورهای لنتی ویروسی ژن نشانگر eGFP را وارد سلول‌های جنینی جوجه کردند که در نتیجه‌ی آن ۱۰ جوجه خروس که ٤ درصد از جوجه‌ها را تشکیل می‌داد بیان این ژن را در پوست و قسمت‌های مختلف نشان دادند و ٤٥ درصد از نتاج آن‌ها در نسل۲ G نیز بیان این ژن را در بخش‌های مختلف نشان دادند.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-03]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1397.7.2.9.0]

تزریق ویروس به بلاستودرم

در این روش که یکی از متداولترین روش‌های تولید پرنده‌های تراریخته می‌باشد، بعد از آماده کردن ویروس نوترکیب و تخم مرغ‌های تازه و بارور با ایجاد یک روزنه‌ی کوچک در پوسته‌ی تخم مرغ ویروس نوترکیب با استفاده از روش ریز تزریقی به درون حفره‌ی بلاستودرم تزریق می‌شود.

Koo و همکاران (2006) ژن گزارشگر eGFP را به وسیله‌ی وکتور رترو ویروسی به ناحیه زیرین بلاستودرم (ناحیه رشد تجمعی سلول‌ها) تزریق کردند. در نهایت هشت جوجه زنده ماندند که تمام جوجه‌ها بیان ژن eGFP را نشان دادند.

تیمار سلول‌های بنیادی با وکتور ویروسی و تزریق سلول‌ها نوترکیب به جنین در حال رشد

در این روش بعد از به دست آوردن سلول‌های پرایموردیال جوجه و کشت آن‌ها در محیط مناسب، سلول‌ها را تحت تیمار ویروس نوترکیب قرار داده و سپس سلول‌های نوترکیب حاوی ژن هدف را به جنین در حال رشد تزریق می‌کنند. Yamamoto و همکاران (2007) توانستند سلول‌های پرایموردیال جنین جوجه را در مرحله ٤٨ ساعتی رشد جنینی از طریق رگ‌های خونی جدا کنند و سلول‌های پرایموردیال تیمار شده با ویروس نوترکیب و ناقل ژن هدف را دوباره به رگهای خونی جنین جوجه تزریق کرده و وجود این سلول‌ها را در گنادهای پرنده‌های به وجود آمده مشاهده کردند (Yamamoto *et al*., 2007).

جداسازی و کشت سلول‌های بنیادی و یا سلول‌های بیضه و تزریق سلول‌های تراریخته به بیضه

در این روش بعد از جدا سازی سلول‌های بنیادی از بافت بیضه، سلول‌های هدف کشت داده شده و سپس تحت تیمار ویروس‌های نوترکیب قرار می‌گیرند سپس سلول‌های تراریخته به بیضه خروس‌ها تزریق می‌شوند. نتاج به دست آمده از این خروس‌ها می‌توانند ناقل ژن خارجی باشند. در روش مشابه به جای استفاده از سلول‌های بیضه‌ای از سلول‌های بنیادی یا پرایموردیال جوجه استفاده می‌شود که پس از جداسازی و کشت این سلول‌ها آن‌ها را تحت تیمار ویروس نوترکیب قرار داده و سلول‌های تراریخته به بیضه جوجه‌ها تزریق می‌گردد (Pradhan *et al*., 2016).

در مطالعه‌ای که Lee و همکاران (2006) در کره انجام دادند توانستند با جداسازی سلول‌های بیضه‌ای و کشت و تیمار سلول‌ها با ویروس نوترکیب و در نهایت تزریق این سلول‌ها به بیضه خروس‌ها نتاج تراریخته و ناقل ژن خارجی از خرورس‌ها تحت آزمایش به دست آورند (Lee *et al*., 2006).

چشم انداز آینده

بیشتر اهداف تولید دام‌های ترانسژن در راستای افزایش دانش بیولوژی و تولید داروهای نوترکیب برای درمان بیماری های بشر می‌باشد. تولید حیوانات تراریخته یکی از تکنولوژی‌های در حال توسعه می‌باشد که می‌تواند تأثیر عمیقی در صنعت تولید داروهای نوترکیب و علوم پزشکی برای درمان بیماری‌ها انسان‌ها داشته باشد. همچنین دور از تصور نیست که در آینده‌ای نه چندان دور این علم بتواند در بهبود ژنتیکی دامهای اهلی نقش مؤثری ایفا کند. با توجه به اهمیت و تأثیری که این شاخه از علم در تحقیقات پزشکی و تولید پروتئین‌های نوترکیب برای درمان بیماری‌ها و همچنین اهمیت خاصی که در تولیدات کشاورزی و افزایش راندمان تولید دارد، تمرکز زیادی به این شاخه از علم شده و پیشرفت‌های زیادی نیز در این حوزه حاصل شده است. دور از تصور نیست که در دهه های آینده حیوانات ترانسژن جزء لاینفک زندگی بشر باشند و در بسیاری از بخش‌های حساس زندگی بشر نقش ایفا کنند.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-03]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1397.7.2.9.0]

منابع

Barber, MA. 1911. A technic for the inoculation of bacteria and other substances into living cells. The Journal of Infectious Diseases 348–360.

Bikhof-Torbati M, Khanahmad H, Jamshidi F, Karimipor M, Sadeghizadeh M, Shokrgozar MA, Amanzadeh A, Zeinali S. 2009. HIV type 1-based particles effect in transduction of HT1080 cell line: A technique in β-thalassemia gene therapy. Medical Science Journal of Islamic Azad Univesity-Tehran Medical Branch 19:160-167. (In Farsi with English abstract).

Blomer U, Ganser A, Scherr M. 2002. Invasive drug delivery. Advances in Experimental Medicine and Biology 513:431-451.

Büning H, Perabo L, Coutelle O, Quadt-Humme S, Hallek M. 2008. Recent developments in Adeno-associated virus vector technology. Journal of Gene Medicine 10:717-733.

Burton EA, Fink DJ, Glorioso Joseph C. 2002. Gene Delivery Using Herpes Simplex Virus Vectors. DNA and Cell Biology 21:915-936.

Delenda C. 2004. Lentiviral vectors: optimization of packaging, transduction and gene expression. The Journal of Gene Medicine 6:125-138.

Chapman SC, Lawson A, MacArthur WC, Wiese RJ, Loechel RH, Trinidad MB. 2004. Ubiquitous GFP expression in transgenic chickens using a lentiviral Vector. Development 132:935-940.

Chattopadhyay M, Goss J, Wolfe D, Goins WC, Huang S, Glorioso JC, Mata M, Fink DJ. 2004. Protective effect of herpes simplex virus mediated neurotrophin gene transfer in cisplatin neuropathy. Brain 27:929-939.

Koo BC, Kwon MS, Choi BR, Kim JH, Cho SK, Sohn SH, Cho EJ, Lee HT, Chang W, Jeon I, Park JK. 2006. Production of germline transgenic chickens expressing enhanced green fluorescent protein using a MoMLVbased retrovirus vector. Faseb Journal 20: 2251-2260.

Cornetta K, Duffy L, Feldman SA, Mackall CL, Davila ML, Curran KJ, Junghans RP, Tang JY, Kochenderfer JN, O'Cearbhaill R, Archer G. 2018. Screening Clinical Cell Products for Replication Competent Retrovirus: the National Gene Vector Biorepository Experience.Molecular Therapy-Methods & Clinical Development 10: 371-378.

De Felipe P, Izquierdo M. 2003. Construction and characterization of pentacistronic retrovirus vectors. Journal of General Virology 84:1281-1285.

Delenda C. 2004. Lentiviral vectors: optimization of packaging, transduction and gene expression. The Journal of Gene Medicine: A cross-disciplinary journal for research on the science of gene transfer and its clinical applications 6(S1): S125-S138.

Distler JH, Jüngel A, Kurowska-Stolarska M, Michel BA, Gay RE, Gay S, Distler O. 2005. Nucleofection: a new, highly efficient transfection method for primary human keratinocytes. Experimental dermatology 14:315-320.

Du X, Wang J, Zhou Q, Zhang L, Wang S, Zhang Z, Yao C. 2018. Advanced physical techniques for gene delivery based on membrane perforation. Drug Delivery 25:1516-1525.

Dyck MK, Lacroix D, Pothier F, Sirard MA. 2003. Making recombinant proteins in animals--different systems, different applications. Trends in Biotechnology 21:394-399.

Fässler R. 2004. Lentiviral transgene vectors: Green light for efficient production of transgenic farm animals. EMBO reports 5: 28-29.

Hofmann A, Kessler B, Ewerling S, Weppert M, Vogg B, Ludwig H, Stojkovic M, Boelhauve M, Brem G, Wolf E, Pfeifer A. 2003. Efficient transgenesis in farm animals by lentiviral vectors. EMBO Reports 4:1054-1060.

Hofmann A, Zakhartchenko V, Weppert M, Sebald H, Wenigerkind H, Brem G, Wolf E, Pfeifer A. 2004. Generation of transgenic cattle by lentiviral gene transfer into oocytes. Biology of Reproduction 71:405-409.

Houdbine LM. 2000. Transgenic animal bioreactors. Transgenic Research 9:305-320.

Ikawa M, Tanaka N,Winston WYK, Inder MV. 2003. Generation of transgenic mice using lentiviral vectors: a novel preclinical assessment of lentiviral vectors for gene therapy. Molecular Therapy 8:666-673.

Kuate S, Stefanou D, Hoffmann D, Wildner O, Uberla K. 2004. Production of lentiviral vectors by transient expression of minimal packaging genes from recombinant adenoviruses. Journal of Gene Medicine 6:1197–1205.

Kutner RH, Zhang XY, Reiser J. 2009. Production, concentration and titration of pseudotyped HIV-1-based lentiviral vectors. Nature Protocols 4:495-505.

Lee YM, Jung JG, Kim JN, Park TS, Kim TM, Shin SS, Kang DK, Lim JM, Han JY. 2006. A testis-mediated germline chimera production based on transfer of chicken testicular cells directly into heterologous testes. Biology of Reproduction 75:380-386.

Lois C, Hong EJ, Pease S, Brown EJ, Baltimore D. 2002. Germline transmission and tissue –specific expression of transgenes delivered by lentiviral vectors. Science 295:868-872.

McGrew MJ, Sherman A, Ellard FM, Lillico SG, Gilhooley HJ, Kingsman AJ, Mitrophanous KA, Sang H. 2004. Efficient production of germline transgenic chickens using lentiviral vectors. EMBO reports 7:728-733.

Mehier-Humbert S, Guy RH. 2005. Physical methods for gene transfer: Improving the kinetics of gene delivery into cells. Advanced drug delivery reviews 57:733-753.

Montgomery SA. 2004. Transgenic animals. BioProcess International.

Mortazavidehkordi N, Fallah A, Abdollahi A, Kia V, Khanahmad H, Najafabadi ZG, Hashemi N, Estiri B, Roudbari Z, Najafi A, Farjadfar A. 2018. A lentiviral vaccine expressing KMP11-HASPB fusion protein increases immune response to Leishmania major in BALB/C. Parasitology Research 29:1-9.

Naderian H, Kazemi B, De Vries A. 2007. Sub-cloning of mouse mousculus glucocerebrosidase enzyme gene in lentiviral vector and transfer to HEK cell line. Journal of Kashan University of Medical Sciences 11:1-7.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-03]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1397.7.2.9.0]

Naldini L, Blomer U, Gallay P, Ory D, Mulligan R, Gage FH, Verma IM, Trono D. 1996. In vivo gene delivery and stable transduction of nondividing cells by a lentiviral vector. Science 272:263-267.

Nathwani AC, Tuddenham EG, Rangarajan S, Rosales C, McIntosh J, Linch DC, Chowdary P, Riddell A, Pie AJ, Harrington C, O'beirne J. 2011. Adenovirus-associated virus vector–mediated gene transfer in hemophilia B. The New England journal of medicine 365: 2357-2365.

Nayerossadat N, Maedeh T, Ali PA. 2012. Viral and nonviral delivery systems for gene delivery. Advanced biomedical research 1:27.

Ng P, Graham FL. 2002. Adenoviral vector construction I: mammalian systems. In Adenoviral vectors for gene therapy 71-104.

Okada T, Nomoto T, Shimazaki K, Lijun W, Lu Y, Matsushita T, Mizukami H, Urabe M, Hanazono Y, Kume A, Muramatsu SI. 2002. Adeno-associated virus vectors for gene transfer to the brain. Methods 28:237-247.

Pradhan BS, Majumdar SS. 2016. An efficient method for generation of transgenic rats avoiding embryo manipulation. Molecular Therapy-Nucleic Acids 5: e239.

Quinonez R, Sutton RE. 2002. Lentiviral vectors for gene delivery into cells. DNA and Cell Biology 21:937-951.

Rolling F, Nong Z, Pisvin S, Collen D. 1997. Adeno-associated virus-mediated gene transfer into rat carotid arteries. Gene Therapy 4(8):757.

Roudbari Z, Nassiri M, Tahmoorespur M, Haddad-Mashadrizeh A, Javadmanesh A. 2016. Recombinant lentivirus expression vector for insulin-like growth factor (IGF-1) gene delivery. Online Journal of Veterinary Research 20:563-570.

Roudbari Z, Nassiri MR, Tahmoorespur M, Haddad-Mashadrizeh A. 2016. Lentiviral mediated overexpression of Insulin like Growth Factor-1 in mouse myoblast. Cellular and Molecular Biology 62:111-115.

Sauce D, Bodinier M, Garin M, Petracca B, Tonnelier N, Duperrier A, Melo JV, Apperley JF, Ferrand C, Hervé P, Lang F. 2002. Retrovirus-mediated gene transfer in primary T lymphocytes impairs their anti–Epstein-Barr virus potential through both culture-dependent and selection process–dependent mechanisms. Blood 99:1165-1173.

Scott BB, Lois C.2005. Generation of tissue-specific transgenic birds with lentiviral vectors. Proceedings of the National Academy of Sciences102:16443-16447.

Sven A, Olivier H, Amine K. 2009. Recent progress in lentiviral vector mass production. Biochemical Engineering Journal 5059:1-16.

Vannucci L, Lai M, Chiuppesi F, Ceccherini-Nelli L, Pistello M. 2013. Viral vectors: a look back and ahead on gene transfer technology. New Microbiologica 36:1-22.

Vanegas PE, Valdez-Morales M, Valverde ME, Cruz-Hernández A, Paredes-López O. 2006. Particle bombardment, a method for gene transfer in marigold. Plant cell, tissue and organ culture 84:359-363.

Wallace M, Evans B, Woods S, Mogg R, Zhang L, Finnefrock AC, Musey L. 2009. Tolerability of two sequential electroporation treatments using MedPulser DNA delivery system (DDS) in healthy adults. Molecular Therapy: The Journal of the American Society of Gene Therapy 17:922-928.

Walther W, Stein U. 2000. Viral vectors for gene transfer: a review of their use in the treatment of human diseases. Drugs 60: 249-71.

Wechuck JB. 2002. Production and purification of hsv-1 vectors and its use for gene transfer to human cd34+ cells, PHD thesis, University of Pittsburgh,

Wolkowicz R, Nolan GP. 2003. Retroviral technology aplications for expressed peptide libraries. Frontiers in Bioscience 8:603-619.

Wong MS, Wu S, Causey TB, Bennett GN, San KY. 2008. Reduction of acetate accumulation in Escherichia coli cultures for increased recombinant protein production. Metabolic Engineering 10:97-108.

Wu X, Burgess SM.2004. Integration target site selection for retroviruses and transposable elements. Cellular and Molecular Life Sciences CMLS.61:2588-2596.

Yamamoto Y, Usui F, Nakamura Y, Ito Y, Tagami T, Nirasawa K, Matsubara Y, Ono T, Kagami H. 2007. A novel method to isolate primordial germ cells and its use for the generation of germline chimeras in chicken. Biology of reproduction 77:115-119.

Zeger D. 2003. Biosafety of Lentiviral Vectors. Current Gene Therapy 3:517-525.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-03]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1397.7.2.9.0]

Genetic Engineering and Biosafety Journal
Volume 7, Number 2

Viral vectors as a tool for gene transfer and the production of transgenic animals

Zahra Roudbari[1] and Khadijeh Nasiri[2]

1- Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Jiroft, Iran

2- Department of Exercise Physiology, Faculty of Sport Science, University of Mazandaran, Babolsar, Iran

Abstract

Gene transfer technology is based on the use of animals and birds as bioreactors in the production of high-quality pharmaceutical, industrial and recombinant proteins, as well as the use of animal models for specific diseases and the investigation of the effects of therapeutic genes in them. Different methods have been developed for gene transfer in eukaryotic cells, including physical, chemical and viral methods. Technological advances and the ever-growing knowledge of molecular virology and virus-host cell relationships have improved the safety of viral vectors that are now used to study cellular gene function, to correct genetic defects (gene therapy), to express therapeutic proteins, to vaccinate against infectious agents and tumors, to produce experimental animal models, and for other purposes. By increasing the researchers' knowledge about the life cycle of viruses and due to their natural ability of viruses to transmit and integrate into the host genome, viruses have become one of the most powerful tools for transferring the gene. Viral vectors have been used in various forms for gene transfer and the production of transgenic animals, including the direct injection of recombinant viruses into the target tissue or the treatment of the stem cells with the recombinant virus and the transfer of recombinant cells to the target tissue or treatment of embryonic cells in the early stages of the fetus. In this study, we attempt to refer some of the most methods for gene transfer using viral vectors, their advantages and limitations in gene transfer.

Key words: Gene transfer, Transgenic animals, Viral vector, Recombinant virus.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-03]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1397.7.2.9.0]