



انتشارات دانشگاه علوم پزشکی مشهد، شماره ۳۲۷

مروری بر تکنیک‌های مولکولی پزشکی

تألیف:

دکتر فرناز زاهدی اول
عضو هیأت علمی گروه بیوشیمی
دانشگاه علوم پزشکی مشهد

دکتر مسعود یوسفی
عضو هیأت علمی گروه میکروبیولوژی و
ویروس‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی مشهد

با همکاری:

فاطمه ولی‌نژاد ثانی
دانشجوی دکترای بیوشیمی بالینی
دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

سرشناسه : یوسفی، مسعود، ۱۳۵۱ -
 عنوان و نام پدیدآور : مروری بر تکنیک‌های مولکولی پزشکی / تألیف مسعود یوسفی،
 فرناز زاهدی اول، با همکاری فاطمه ولی‌نژاد ثانی.
 مشخصات نشر : مشهد: دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی مشهد، ۱۳۹۳.
 مشخصات ظاهری : ۱۴۸ ص.: مصور.
 فروست : (انتشارات دانشگاه علوم پزشکی مشهد؛ شماره ۳۲۷).
 شابک : (ISBN: 978-964-5944-16-0)
 وضعیت فهرست‌نویسی: فیبا.
 یادداشت: واژه‌نامه.
 یادداشت: کتابنامه: ص ۱۳۵.
 یادداشت: نمایه.
 موضوع: زیست‌شناسی مولکولی.
 موضوع: زیست‌شناسی مولکولی -- روش‌شناسی.
 شناسه افزوده: زاهدی اول، فرناز، ۱۳۵۶ -
 شناسه افزوده: ولی‌نژاد ثانی، فاطمه.
 شناسه افزوده: دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی مشهد.
 رده‌بندی کنگره: QH ۵۰۶ / ی ۹ م ۴ ۱۳۹۳
 رده‌بندی دیویی: ۵۷۲/۸
 شماره کتابخانه ملی: ۳۶۳۶۶۸۳



انتشارات دانشگاه علوم پزشکی مشهد، شماره ۳۲۷

مروری بر تکنیک‌های مولکولی پزشکی

تألیف

دکتر مسعود یوسفی - دکتر فرناز زاهدی اول

با همکاری

فاطمه ولی‌نژاد ثانی

وزیری، ۱۴۸ صفحه، ۳۲۰ نسخه، چاپ اول، زمستان ۱۳۹۳

امور فنی و چاپ: مؤسسه چاپ و انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد

بها: ۶۰۰۰۰ ریال

بسمه تعالی

انتشارات دانشگاه علوم پزشکی مشهد - به عنوان یک نهاد علمی - فرهنگی، چاپ و نشر، کتابهای مورد استفاده استادان و دانشجویان رشته‌های علوم پزشکی را از وظایف اساسی خود می‌داند و بر آن است تا با انتشار متون مربوط به علوم پزشکی، هم بر اعتبار و اعتلای آنها بیفزاید و هم موجبات دل‌گرمی و شوق و نشاط امر تحقیق را در پی‌جوییهای علمی فراهم آورد. به یقین چاپ و نشر آثار معتبر علمی، امکان دست‌یابی اهل تحقیق را به منابع مختلف و گوناگون علمی مورد نیاز به بهترین صورتی میسر و ممکن خواهد ساخت و راه را برای تحقیقات بعدی هموار خواهد کرد.

باید گفته شود که گستردگی فعالیتهای مربوط به نشر، در قلمرو ناشران خصوصی، نه تنها از مسؤولیت مراکز معتبر دانشگاهی، به کوشش در این زمینه‌ها با تکیه بر جنبه‌های علمی و فرهنگی موضوع نمی‌کاهد، بلکه به دلایل گوناگون، از جمله لزوم بررسیهای دقیق کارشناسی، ویرایشهای علمی و فنی، و نیز توجه حداکثر به توان مالی مخاطبان آثار، به‌ویژه دانشجویان، ایجاب می‌کند که دانشگاههای دولتی دامنه خدمات خود را با تکیه بر جنبه‌های کیفی، و گاه صرف‌نظر از بازده اقتصادی گسترش دهند.

مسئولان انتشارات دانشگاه علوم پزشکی مشهد، با اشتیاق و اخلاص تمام می‌خواهند تا جدیدترین آثار مربوط به دانشهای پزشکی را به بهترین شیوه فراهم آورند و بکوشند تا آثار منتشر شده با کیفیت مطلوب عرضه گردد. در عین حال انتشارات دانشگاه علوم پزشکی مترصد دریافت نظرها و انتقادهای به‌جا و سازنده اهل نظر می‌باشد تا از این طریق بتواند بر کمال آثار منتشره خویش بیفزاید.

معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد با استعانت از الطاف خداوندی امیدوار است که نشر این اثر همانند دیگر آثار انتشارات دانشگاه علوم پزشکی مشهد با نظارت همه‌جانبه این معاونت، و با تکیه بر ابتکار و کوشش اعضا و کارشناسان دانش‌آموخته خویش و نیز ایجاد ارتباط محکم و پایدار با جامعه پزشکی و دانشجویان پژوهشگر، در جهت ارتقای کیفی و تنوع موضوعات مورد نیاز دانش‌پژوهان رشته‌های علوم پزشکی گامهای مؤثر بردارد تا مورد استفاده دانشجویان و مقبول طبع صاحب‌نظران و دانشگاهیان نکته‌بین قرار بگیرد.

انتشارات دانشگاه علوم پزشکی مشهد

فهرست مطالب

۹		اختصارات
۱۳		مقدمه
۱۵		فصل ۱ - روش های کلاسیک
۱۷		ساترن بلات
۱۹		روش دات بلات
۲۰		نورترن بلات
۲۱		هیبریدیزاسیون درجا (ISH)
۲۳		HPA (Hybridization Protection Assay)
۲۷		فصل ۲ - تکثیر اسید نوکلئیک هدف
۲۷		۱.۲ تکثیر اسید نوکلئیک هدف با روش واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR)
۲۷		اساس واکنش
۲۹		اصول طراحی پرایمر
۳۱		بررسی محصول PCR
۳۲		کمیت سازی PCR با روش PCR ELISA
۳۳		انواع PCR
۴۱		۲.۲ روش های تکثیر اسید نوکلئیک هدف در دمای ثابت (ایزوترمال)
۴۱		NASBA (Nucleic Acid Sequence Based Amplification)
۴۵		TMA (Transcription Mediated Amplification)
۴۶		SDA (Strand Displacement Amplification)
۴۹		LAT (Ligation Activated Transcription)
۵۱		RCA (Rolling Circle Amplification)
۵۲		LAMP (Loop-mediated isothermal Amplification)
۵۴		HDA (Helicase Dependent Amplification)
۵۵		SPIA (Single Primer Isothermal Amplification)

۵۷	 (Recombinase Polymerase Amplification) RPA
۵۸	 سایر تکنیک‌های ایزوترمال
۵۹	 فصل ۳ - روش‌های تکثیر پروب
۵۹	 (Ligase Chain Reaction) LCR
۶۳	 (Cycling Probe Technology) CPT
۶۴	 Cleavase Invader Assay
۶۷	 Q beta Replicase
۶۹	 فصل ۴ - روش‌های ازدیاد یا تقویت سیگنال
۶۹	 bDNA
۷۲	 Hybrid Capture Assay
۷۴	 EIA Based Techniques
۷۷	 فصل ۵ - تکنیک REAL TIME PCR و سایر روش‌های REAL TIME
۷۷	 Real Time PCR ۱.۵
۸۰	 روش SYBR Green
۸۱	 پروب‌های بر اساس پدیده FRET
۹۲	 Real Time ۲.۵ سایر روش‌های
۹۲	 Electron Transfer and Bioelectric Detection
۹۳	 سنجش Real Time روش‌های تکثیر ایزوترمال
۹۵	 فصل ۶ - روش‌های مولکولی تعیین توالی اسید نوکلئیک
۹۵	 Sequencing
۹۹	 Chip Technology
۱۰۰	 Pyrosequencing
۱۰۳	 Next Generation Sequencing
۱۰۷	 فصل ۷ - روش‌های شناسایی جهش (موتاسیون)
۱۰۷	 Reverse Dot Blot Hybridization
۱۰۷	 Single Strand Conformation Polymorphism Analysis (SSCP)
۱۰۹	 Heteroduplex Analysis
۱۰۹	 Denaturing HPLC
۱۱۰	 Protein Truncation Test (PTT)
۱۱۰	 Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE)
۱۱۱	 Non Isotopic Rnase Cleavage Assay (NIRCA)
۱۱۱	 Dynamic Allel Specific Hybridization (DASH)

۱۱۱	Molecular Beacons
۱۱۲	Amplification Refractory Mutation System (ARMS-PCR)
۱۱۲	Invader Assay
۱۱۳	DNA Synthesis Based Methods
۱۱۴	TaqMan Based Method
۱۱۴	Ligation Assay
۱۱۴	Rolling Circle Amplification (RCA)
۱۱۶	High Resolution Melting (HRM) Analysis
۱۱۷	فصل ۸ - روش‌های ایجاد موتاسیون
۱۱۷	Cassette Mutagenesis
۱۱۸	PCR Site-Directed Mutagenesis
۱۱۸	Insertional Inactivation
۱۲۰	Signature Tagged Mutagenesis (STM)
۱۲۰	Overlap Extension PCR Mutagenesis
۱۲۳	فصل ۹ - کلونینگ
۱۲۴	وکتورهای کلونینگ
۱۲۷	قرار دادن قطعه DNA به داخل پلاسمید (backbone)
۱۲۸	قرار دادن محصول PCR در وکتور
۱۲۹	تکثیر پلاسمید نو ترکیب در <i>E. Coli</i>
۱۳۱	فصل ۱۰ - کاربرد و آینده تست‌های مولکولی
۱۳۵	منابع
۱۳۹	واژه نامه
۱۴۵	نمایه

مقدمه

در دهه های اخیر، گسترش دانش در مورد نحوه تکثیر اسیدهای نوکلئیک و روندهای بیوشیمیایی دخیل در آن، منجر به ابداع روش های متنوعی جهت تکثیر و شناسایی اسیدهای نوکلئیک شده است. این روش ها بتدریج کاربری کلینیکی وسیعی نیز پیدا کرده اند. با توجه به رشد سریع این گونه تکنیک های مولکولی و استفاده روزافزون آنها در آزمایشگاه های تشخیصی پزشکی ضرورت آشنایی پزشکان در رشته های مختلف تخصصی، و نیز دانشجویان و دانش آموزان رشته های علوم آزمایشگاهی با این روش ها، ملموس تر شده است.

هدف نویسندگان از تألیف این کتاب توصیف کلی تعدادی از روش های مولکولی است که در تحقیقات و تشخیص پزشکی کاربرد دارد. در این کتاب سعی شده است که جزئیات کافی در ارتباط با این تکنیک ها و کاربردها، در حدی که خواننده با نحوه کارکرد، و نکات قوت و ضعف آنها آشنا شود، ارائه شود. هدف این کتاب تدوین جزئیات روش انجام آزمایشات نبوده است که این امر با کمک شرکت های تأمین کننده تجهیزات و مواد پزشکی، کتاب های دستورالعمل و راهنما، پایگاه های اینترنتی و سایر منابع قابل دسترسی می باشد؛ بلکه هدف آشناسازی پزشکان و متخصصین، رزیدنت های تخصصی و دانشجویان تحصیلات تکمیلی رشته های مرتبط با اساس و کاربرد روش های مولکولی در آزمایشگاه تشخیص پزشکی بوده است. در نگارش کتاب روش های متنوع مولکولی با تفکیک موضوعی مورد بحث قرار گرفته و مطالب کلیدی و اصلی به صورت ایجاز ارائه گردیده است و در ارائه مطالب سعی شده است با استفاده از تصاویر گویا درک مطالب تسهیل گردد. همچنین ذکر واژه انگلیسی مربوطه در زیرنویس امکان جستجوهای تکمیلی تر را برای خواننده میسر می سازد.

مبحث روش های مولکولی موضوع بسیار گسترده ای است و پرداختن به انواع متنوع آن در یک کتاب کار آسانی نیست. از سویی روش های جدید به صورت روزافزون در حال ارائه شدن هستند و همزمان با معرفی این گونه روش های جدید، کاربرد برخی روش های قدیمی تر ممکن

است کمتر شود که به این گونه تأثیرات نیز در متن اشاره شده است. در کتاب سعی شده علاوه بر تکنیک‌های مرسوم مولکولی به روش‌های جدیدتر مانند تکثیر ایزوترمال و نسل‌های جدید تعیین توالی نیز اشاره شود. بهر روی، با عنایت به نیازی که در جامعه علمی به مجموعه‌ای جهت معرفی تکنیک‌های مولکولی رایج تر احساس می‌شد نویسندگان در راه تألیف کتاب حاضر گام برداشتند. امید است صاحب نظران ارجمند، نظرات ارزشمند و سازنده خود را در اختیار نویسندگان قرار دهند.

در خاتمه لازم به ذکر است که بیشتر تکنیک‌های جدید مولکولی با الگو برداری از روندهای فیزیولوژیک تکثیر اسید نوکلئیک در سلول‌های گونه‌های مختلف طراحی و ارائه می‌شوند. مطالعه این مطالب پیچیدگی‌ها، نظم و طراحی عالمانه و هندسه بسیار دقیق خلقت را بیشتر به ما می‌نمایاند و بشر را به حضور بیشتر در برابر صانع و خالق این جهان پیچیده اُمی دارد.

و من ... التوفیق

مؤلفان