

۱۴۸۲.۱۵

PCR

و طراحی پرایمر به زبان ساده و کاربردی

تالیف

حمزه چوبین

دانشجوی دکترای ویروس‌شناسی پزشکی دانشگاه تربیت مدرس تهران

دکتر صراوت بامداد

دانشیار گروه ویروس‌شناسی پزشکی دانشگاه تربیت مدرس تهران

دکتر هاجر نقوی

استادیار و عضو هیئت علمی دانشگاه علوم پزشکی شهر کرد

راضیه زارع خوش‌چهره

دانشجوی دکترای ویروس‌شناسی پزشکی دانشگاه تربیت مدرس تهران

فاطمه حسینی

دانشجوی دکترای ویروس‌شناسی پزشکی دانشگاه تربیت مدرس تهران

زیر نظر و ویرایش علمی

دکتر طراوت بامداد

دانشیار گروه ویروس‌شناسی پزشکی دانشگاه تربیت مدرس تهران



ناشر برتر دانشگاهی سال ۱۳۹۱
 ناشر برگزیده‌ی کشور سال ۱۳۹۲
 ناشر شایسته تقدیر ۱۳۹۳
 ناشر برگزیده‌ی حوزه جوانان سال ۱۳۹۳
 ناشر برگزیده‌ی حوزه سلامت سال ۱۳۹۳
 ناشر برگزیده‌ی کتاب سال دانشجویی ۱۳۹۴

فروش اینترنتی: www.jph.ir

دفتر مرکزی نشر جامعه‌نگر

تهران: خ انقلاب - مقابل درب اصلی دانشگاه تهران
 خ فخر رازی - خ نظری - شماره ۹۶
 تلفن: ۶۶۴۹۳۷۱۶ - ۶۶۴۹۴۱۸۷

کتاب‌فروشی‌های پزشکی سراسر کشور

اهواز: رشد - شریک - اردبیل: خیام • ارومیه: کتاب پزشکی
 اصفهان: پارسا - کیا • ایلام: رشد • بابل: علینزاده
 بجنورد: ارسطو • بروجرد: ولایت • بوشهر: کتاب‌فروشی
 عمادی • تالش: جامعه‌نگر • تبریز: شیرنگ • تنکابن:
 رچی • حرهم: کلبه کتاب • خرم‌آباد: نشر قلم • رشت:
 دانشگاه آزاد - پل مالشان - ارجمند - مزده • ساری: دانشجو -
 امیرکبیر • سن: سیم • اشراق • ۲ • سمنندج: دانشمند
 شیراز: جمالی - رکز کتاب • دانشگاه علوم پزشکی شیراز: قم:
 فائوس اندین • سبزین: حکیم • کرمان: پایپروس
 کرمانشاه: دانشمند • کردکوی: جلال • گناباد: کتابستان
 لاهیجان: مرکز کتاب دانشگاه • مشهد: مجد دانش -
 نمایشگاه علوم پزشکی چهارم: همدان: روزاندیش
 - دانشجو • یزد: خانبختانی

سرشناسه : چوبین، حمزه، ۱۳۶۵-

عنوان و نام پدیدآورنده : PCR و طراحی پرایمر به زبان ساده و کاربردی / مولفین حمزه چوبین ... [و دیگران].

مشخصات نشر : تهران: جامعه‌نگر، ۱۳۹۵.

مشخصات ظاهری : یازده، ۱۶۶ ص. : مصور، نمودار.

شابک : 978-600-101-564-9

وضعیت فهرست‌نویسی : فیا

یادداشت : مولفین حمزه چوبین، طراوت بامداد، هاجر

یعقوبی، راضیه زارع خوش چهره، فاطمه

حسینی.

یادداشت : کتابنامه: ص. [۲۶۱] ۲۶۲.

یادداشت : نمایه.

موضوع : واکنش زنجیره‌ای پلیمراز

موضوع : Polymerase chain reaction :

موضوع : واکنش زنجیره‌ای پلیمراز - روش‌ها

موضوع : Polymerase chain reaction :

موضوع : methods

موضوع : ژنتیک - مهندسی - نرم افزار

موضوع : Genetic engineering -

موضوع : Software

رده‌بندی کنگره : ۱۳۹۵ پ ۹ و ۶۰۶ / QP

رده‌بندی دیویر : ۵۷۲/۲۳

شماره‌ی کتاب‌سناسی : ۴۵۲۸۵۱۳

این اثر، مشمول قانون حمایت از مؤلفان و مصنفان می‌باشد. هیچ بخشی از کتاب به هیچ شکلی نمی‌تواند از قلمرو یا به‌ویسی مطالب در هرگونه رسانه‌یی من جمله کتاب، لوح فشرده و تجارت، بدون اجازه‌ی کتبی ناشر قابل استفاده نیست و موجب پیگرد قانونی شود.

PCR و طراحی پرایمر به زبان ساده و کاربردی

تألیف حمزه چوبین - طراوت بامداد - هاجر یعقوبی -

راضیه زارع خوش چهره - فاطمه حسینی

زیر نظر و ویرایش علی طراوت بامداد

ناشر جامعه‌نگر

نوبت و سال چاپ اول / ۱۳۹۵ : شمارگان ۱۰۰۰ نسخه

صفحه‌آرایی عسل کشوردوست

طراحی جلد مهدی انوشیروانی

بها ۱۵۹۰۰ تومان

شابک ۹-۵۶۴-۱۰۱-۶۰۰-۹۷۸

فهرست مطالب

فصل ۱ ■ الزامات بخش PCR	۱
۱-۱. الزامات بخش PCR	۱
۲-۱. چیدمان تأسیسات، جریان هوا و گردش کار	۲
۳-۱. بهینه‌سازی حساسیت	۴
۴-۱. بهینه‌سازی اختصاصیت	۴
فصل ۲ ■ PCR استاندارد	۷
۱-۲. PCR استاندارد	۷
۱-۲-۱. در PCR استاندارد، اتفاق می‌افتد؟	۷
۲-۲. اجزای واکنش PCR	۹
۱-۲-۲. پرایمر	۹
۱-۲-۲-۱. شرایط طراحی پرایمر	۹
۲-۲-۲. شرایط طراحی پروب	۱۳
۳-۲-۲. راهنمای کلی برای طراحی پروب	۱۴
۴-۲-۲. بهینه‌سازی غلظت پرایمر	۱۴
۲-۲-۲. اسید نوکلئیک	۱۵
۱-۲-۲-۲. روش‌های استخراج اسید نوکلئیک	۱۷
۲-۲-۲-۲. استخراج RNA	۲۱
۳-۲-۲-۲. ذخیره‌سازی نوکلئیک اسید	۲۲
۴-۲-۲-۲. RT-PCR	۲۳
۳-۲-۲. آنزیم‌های پلی‌مراز	۲۶
۴-۲-۲. داکسی نوکلئوتید تری‌فسفات	۲۶
۵-۲-۲. بافر واکنش	۲۷
۶-۲-۲. یون‌های موجود در مخلوط واکنش PCR	۲۷
۷-۲-۲. لوله‌ی واکنش	۲۸
۳-۲. سوالات و مشکلات احتمالی	۲۸
فصل ۳ ■ Real Time PCR و آنالیز داده‌ها	۳۱
۱-۳. Real Time PCR	۳۱

۳۲	۲-۳. اساس روش Real Time PCR
۳۴	۳-۳. انواع فلوروکروم به کار رفته در روش Real Time PCR
۳۶	۴-۳. انواع پروب و پرایمر به کار رفته در روش Real Time PCR
۴۲	۵-۳. اهمیت Real Time PCR
۴۳	۶-۳. مشخصات ابزاری دستگاه Real Time PCR
۴۴	۷-۳. Quantitative PCR
۴۶	۱-۷-۳. کمی کردن مطلق با استانداردهای خارجی
۴۷	۱-۱-۷-۳. استاندارد RNA برای کمی سازی مطلق
۴۷	۲-۱-۷-۳. DNA استاندارد برای کمی سازی مطلق
۴۸	۲-۷-۳. مشخصات داده های به دست آمده
۵۱	۳-۷-۳. کمی کردن مطلق با استفاده از کنترل داخلی
۵۲	۸-۳. کاربرد بالینی Q-PCR
۵۲	۹-۳. Multiplex PCR
۵۴	۱۰-۳. در زمان انجام و کنش در دستگاه Real Time PCR چه اتفاقی می افتد؟
۵۸	۱۱-۳. اشکالات منحنی تکثیر
۵۹	۱-۱۱-۳. حد پایه
۶۰	۲-۱۱-۳. آستانه
۶۰	۳-۱۱-۳. بررسی کنترل ها و نمونه واکشن - بررسی
۶۱	۴-۱۱-۳. نمونه ی اصلی
۶۱	۵-۱۱-۳. آنالیز منحنی ذوب
۶۳	۱۲-۳. گزارش داده ها
۶۶	۱۳-۳. نرم افزار REST
۷۵	۱۴-۳. رفع مشکلات احتمالی در Real Time PCR
۷۹	فصل ۴ ■ آنالیز منحنی ذوب با وضوح بالا
۷۹	۱-۴. آنالیز منحنی ذوب با وضوح بالا
۸۰	۲-۴. رنگ های مورد استفاده در HRM
۸۲	۳-۴. مراحل انجام HRM
۸۵	۴-۴. داده های به دست آمده
۸۵	۱-۴-۴. گراف تکثیر
۸۵	۲-۴-۴. داده های خام منحنی ذوب
۸۶	۳-۴-۴. گراف نرمالیز شده

۸۶	۴-۴-۴. گراف تمایز.....
۸۷	۵-۴. ژنوتیپ‌بندی SNP.....
۸۸	۵-۴. مشکلات رایج در HRM و اصلاح روش.....
۸۸	۴-۵-۱. انتخاب اشتباه موقعیت بین ناحیه‌ی قبل و بعد از ذوب‌شدگی.....
۹۰	۴-۵-۲. تشکیل محصولات غیراختصاصی.....
۹۰	۴-۵-۳. تنظیم زمان اتصال و طول‌سازی.....
۹۳	فصل ۵ ■ طراحی پرایمر به‌صورت عملی.....
۹۳	۱-۵. طراحی پرایمر به‌صورت عملی.....
۹۳	۵-۱-۱. گرفتن توالی.....
۹۳	۵-۱-۱-۱. زالی یک ژن بر روی DNA ژنومی.....
۹۷	۵-۱-۱-۲. پیداکردن موقعیت یک SNP.....
۹۸	۵-۱-۱-۳. گرفتن یک توالی ویروسی به‌منظور تشخیص در نمونه‌های بالینی.....
۱۰۱	۵-۱-۱-۴. گرفتن توالی یک ژن در باکتری به‌منظور بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی.....
۱۰۲	۵-۱-۱-۵. گرفتن توالی یک rRNA برای بررسی میزان بیان.....
۱۰۵	۵-۲. کار با نرم‌افزار.....
۱۰۵	۵-۲-۱. هم‌ردیف‌کردن توالی.....
۱۱۲	۵-۲-۲. طراحی پرایمر با نرم‌افزار Gene.....
۱۲۲	۵-۳. BLAST پرایمر.....
۱۳۷	۵-۴. طراحی پروب.....
۱۳۷	۵-۴-۱. نرم‌افزار Allele ID.....
۱۴۷	فصل ۶ ■ راه‌اندازی نرم‌افزار سیستم StepOne & StepOnePlus.....
۱۴۷	۶-۱. راه‌اندازی نرم‌افزار سیستم StepOne & StepOnePlus.....
۱۶۱	فهرست منابع.....
۱۶۳	واژه‌نامه.....

مقدمه

با وجود عمر نه چندان طولانی روش‌های تکثیر و شناسایی اسید نوکلئیک‌ها به‌خصوص روش کمی Real Time PCR، این تکنیک‌ها از جایگاه ویژه‌ای در میان روش‌های بیولوژی مولکولی برخوردار گشته‌اند. بشریت دانسته‌های فراوان خود را در بسیاری از جنبه‌های بیولوژی مولکولی به‌خصوص در زمینه‌ی شناسایی ژن‌های جدید، تغییرات بیان ژن در شرایط بیولوژیک مختلف و تشخیص بیماری‌ها مدیون این تکنیک است.

همه ساله شاهد ظهور کیت‌های جدید بر پایه‌ی این روش می‌باشیم. طراحی این تکنیک و یا استفاده‌ی صحیح از کیت‌های موجود نیازمند درک صحیح و تسلط بر اجرا و تفسیر نتایج حاصل می‌باشد. خلاء موجود در منابع فارسی به‌صورت روان و به سبکی قابل فهم برای کاربران مبتدی تا ذکر جزئیات تکنیکی و مشکلات احتمالی حین اجرا به بیان مطالب پرداخته باشد، انگیزه‌ای برای نگارش این کتاب شد که در بخش‌های مختلف آن سعی شده است با بیانی ساده مبانی PCR و Real Time PCR، نحوه‌ی آنالیز داده‌ها و رفع مشکلات احتمالی اصول طراحی پرایمر و پروب توضیح داده شود و با آرایه‌ی مثال‌ها و شکل‌های واقعی از تجربیات نگارندگان و بررسی مرحله به مرحله نمونه‌ها از نرم‌افزارهای موجود بتواند بخشی از نیازهای پژوهشگران کشور را مرتفع سازد. این کتاب به ۶ فصل تقسیم شده، در فصول ۱ تا ۴ به بیان مبانی تئوری پرداخته شده و فصول ۵ و ۶ با آرایه‌ی مدارهایی از نرم‌افزارهای موجود، خواننده را به‌صورت عملی با کاربردهای آن‌ها آشنا می‌کند.

مطمئناً این کتاب جامع نبوده، ولی سعی شده است که در آن به سؤالات متداول احتمالی پاسخ داده شود. از کلیه‌ی خوانندگان دعوت می‌کنیم تا با ارسال نظرات و انتقادات سازنده‌ی خود ما را در بهبود کیفیت آن یاری کنند.

دکتر طراوت بامداد

دانشیار گروه ویروس‌شناسی پزشکی

دانشگاه تربیت مدرس

پاییز ۱۳۹۵