

مهندسی ژنتیک

(ابزارها و تکنیک‌های مولکولی)

تألیف:

دکتر امیر جلیلی

شادین اسعدی

محیا فتاحی

مونا حبش زاده

سمیرا ستاری

سرشناسه	جلیلی، امیر، ۱۳۶۲ -
عنوان و نام پدیدآور	: مهندسی ژنتیک: ابزارها و تکنیک‌های مولکولی/ تألیف امیر جلیلی... [و دیگران].
مشخصات نشر	: تبریز: عمیدی، ۱۳۹۸.
مشخصات ظاهری	: ۶۲۲ ص.: مصور، جدول، نمودار.
شابک	: 978-600-7902-91-2
وضعیت فهرست نویسی	: فبا
یادداشت	: تألیف امیر جلیلی، شاهین اسعدی، محیا فتاحی، مونا حبشی‌زاده، سمیرا ستاری.
عنوان دیگر	: ابزارها و تکنیک‌های مولکولی.
موضوع	: ژنتیک -- مهندسی
موضوع	: Genetic engineering
موضوع	: ژنتیک -- مهندسی -- فن
موضوع	: Genetic engineering -- Technique
موضوع	: ژنوم انسانی
موضوع	: Human genome
رده بندی کنگره	: ۴۴۲QH
رده بندی دیویی	: ۶۵/۶۶۰
شماره کتابشناسی ملی	: ۵۹۰۹۳۴۰

این اثر مشمول قانون حمایت از حقوق مؤلفان، مصنفان و هنرمندان مصوب ۱۳۴۸ است، هر کس تمام یا قسمتی از این اثر را بدون اجازه ناشر یا پخش یا عرضه کند تحت پیگرد قانونی قرار خواهد گرفت.



■ نام کتاب : مهندسی ژنتیک (ابزارها و تکنیک‌های مولکولی)

■ تألیف: دکتر امیر جلیلی

■ با همکاری: شاهین اسعدی - محیا فتاحی - مونا حبشی زاده - سمیرا ستاری

■ نوبت و تاریخ چاپ : اول - زمستان ۱۳۹۸ (۲۰۲۰)

■ تعداد صفحات : ۶۲۲ صفحه و زیری

■ شمارگان : ۱۰۰۰ نسخه

■ ناشر : انتشارات عمیدی

■ لیتوگرافی: چاردیز

■ چاپ: اعظم

■ شابک : ۹۷۸-۶۰۰-۷۹۰۲-۹۱-۲

■ قیمت: ۸۹۰۰۰ تومان

حق چاپ محفوظ است.

مراکز پخش :

تبریز، خیابان امام ، بازار بزرگ تربیت ، طبقه پایین ، پلاک ۴۰، انتشارات عمیدی ، تلفن : ۳۵۵۳۵۹۶۱

تهران، خیابان لبافی نژاد ، بین اردیبهشت و فروردین پلاک ۲۳۸ کتابیران، تلفن : ۶۶۴۱۱۱۷۳

فهرست مطالب

۱-۱۲	پیشگفتاری از مهندسی ژنتیک و زیست فناوری
۱۳-۲۸	فصل ۱- تکنیک PCR و مکانیسم آن
۲۹-۳۶	فصل ۲- تکنیک Nested PCR
۳۷-۴۶	فصل ۳- انگشت نگاری DNA
۴۷-۵۶	فصل ۴- تکنیک PCR-VNTR
۵۷-۷۰	فصل ۵- تکنیک AFLP-PCR
۷۱-۸۰	فصل ۶- الکتروفرز DNA
۸۱-۹۲	فصل ۷- تکنیک ARMS-PCR
۹۳-۱۰۰	فصل ۸- تکنیک Overlap Extension PCR
۱۰۱-۱۱۴	فصل ۹- تکنیک MLP
۱۱۵-۱۲۰	فصل ۱۰- تکنیک Plasmid PCR
۱۲۱-۱۲۸	فصل ۱۱- تکنیک QF-PCR
۱۲۹-۱۳۸	فصل ۱۲- تکنیک Polymerase Cycling Assembly
۱۳۹-۱۴۴	فصل ۱۳- تکنیک RT-PCR
۱۴۵-۱۶۴	فصل ۱۴- تکنیک Real-time PCR
۱۶۵-۱۶۸	فصل ۱۵- تکنیک MS-FLAG Real-Time PCR
۱۶۹-۱۷۴	فصل ۱۶- تکنیک Colony PCR
۱۷۵-۱۸۲	فصل ۱۷- تکنیک Touchdown PCR
۱۸۳-۱۹۲	فصل ۱۸- تکنیک Hot start PCR
۱۹۱-۲۰۲	فصل ۱۹- تکنیک PCR-SSCP
۲۰۳-۲۲۴	فصل ۲۰- تکنیک Digital PCR
۲۲۵-۲۳۰	فصل ۲۱- تکنیک Long PCR
۲۳۱-۲۳۸	فصل ۲۲- تکنیک Multiplex PCR
۲۳۹-۲۵۴	فصل ۲۳- تکنیک Methylation-Specific PCR
۲۵۵-۲۶۴	فصل ۲۴- تکنیک IMMUNO-PCR
۲۶۵-۲۷۲	فصل ۲۵- تکنیک FLAG
۲۷۳-۲۸۶	فصل ۲۶- تکنیک LATE-PCR و Asymmetric PCR

۲۸۷-۳۰۶	فصل ۲۸- تکنیک PCR ایزوترمال
۳۰۷-۳۲۰	فصل ۲۹- تکنیک مولکولی qMSP-PCR
۳۲۱-۳۲۸	فصل ۳۰- تکنیک مولکولی REP-PCR
۳۲۹-۳۳۸	فصل ۳۱- تکنیک بلاتینگ
۳۳۹-۳۵۲	فصل ۳۲- تکنیک وسترن بلاتینگ
۳۵۳-۳۵۸	فصل ۳۳- نورترن بلاتینگ
۳۵۷-۳۶۶	فصل ۳۴- تکنیک Southern blotting
۳۶۷-۳۹۰	فصل ۳۶- کاربرد سایر گرین در بررسی های مولکولی
۳۹۱-۴۰۰	فصل ۳۷- تکنیک توالی یابی Sanger
۴۰۱-۴۰۶	فصل ۳۸- تکنیک های توالی یابی نسل سوم
۴۰۷-۴۱۴	فصل ۳۹- توالی یابی نسل جدید (NGS)
۴۱۵-۴۱۸	فصل ۴۰- تکنیک توالی یابی Illumina
۴۱۹-۴۲۴	فصل ۴۱- تکنیک والی یابی ۴۵۴
۴۲۳-۴۵۴	فصل ۴۲- تکنیک الکتروفریز و بیولوژیک
۴۵۵-۴۶۴	فصل ۴۳- تکنیک CG I Array
۴۶۵-۴۸۰	فصل ۴۴- تکنیک تشخیص ژنتیکی (PGD)
۴۸۱-۴۹۲	فصل ۴۵- خلاصه ای از توالی یابی ژنوم انسان
۴۹۳-۵۰۰	فصل ۴۶- مهندسی متابولیک
۵۰۱-۵۲۴	فصل ۴۷- آنالیز داده ها و آموزش تفسیر نتایج
۵۲۵-۵۳۴	فصل ۴۸- خدمات ژنوتایپینگ با روش High Resolution Melting (HRM)
۵۳۵-۵۳۸	فصل ۴۹- خصوصیات پرایمرها
۵۳۹-۵۴۶	فصل ۵۰: فن آوری میکروآری DNA
۵۴۷-۵۷۰	فصل ۵۱- تکنیک CRISPR/Cas9
۵۷۱-۵۸۶	فصل ۵۲- SSP-PCR و تکنیک مولکولی HLA typing
۵۸۷-۵۹۸	منابع

پیشگفتاری از مهندسی ژنتیک و زیست فناوری

مهندسی ژنتیک، به عنوان بخشی از دانش زیست فناوری؛ به مجموعه روش‌هایی گفته می‌شود که به منظور جداسازی، خالص سازی، وارد کردن و بیان یک ژن خاص در یک میزبان بکار می‌روند و نهایتاً منجر به بروز یک صفت خاص یا تولید محصول مورد نظر در جاندار میزبان می‌شود. کاربردهای مهندسی ژنتیک تقریباً نامحدود به نظر می‌رسد. این علم کاربردهای زیادی، در علوم پایه، تولیدات صنعتی، کشاورزی و علوم پزشکی دارد. در زمینه علوم پایه، بررسی‌هایی مانند مکانیسم‌های همانندسازی دنا و بیان ژن‌ها در پروکاریوت‌ها، یوکاریوت‌ها و ویروس‌ها و همچنین چگونگی ساخته شدن و تغییرات پروتئین‌های داخلی سلول. همچنین مکانیسم ایجاد سرطان از جمله کاربردهای مهندسی ژنتیک است. در زمینه کشاورزی که بستر بسیاری از کاربردهای مهندسی ژنتیک است، تولید گیاهان مقاوم به آفات گیاهی و انشای، تولید گیاهان پرمحصول و تولید گاوهای دارای شیر و گوشت بیشتر، را می‌توان نام برد. در زمینه کاربردهای پزشکی، تشخیص بیماری‌های ارثی، تولید انسولین انسانی، تولید هورمون رشد انسان و... را می‌توان نام برد. در سال‌های اخیر گسترش و توسعه تکنیک‌های DNA نو ترکیب انقلابی را در درمان بسیاری از بیماری‌های انسانی از جمله انواع سرطان، اغلب بیماری‌های خود ایمنی نظیر دیابت و همچنین تشخیص، پیشگیری و درمان بسیاری از بیماری‌های مادرزادی فراهم آورده است.

تاریخچه مهندسی ژنتیک

امروزه دانش و فن مهندسی ژنتیک و بیوتکنولوژی مولکولی در عرصه‌های بسیار متنوع مانند کشاورزی، تغذیه و مواد غذایی، دامپروری، شاخه‌های مختلف علوم پزشکی و صنایع دارویی، صنایع تخمیری، صنایع نظامی، انرژی، محیط زیست و بهداشت بشر، استفاده‌های بسیار ارزشمندی پیدا کرده است. اهمیت بعضی از اصول علمی، در زمان کشف آنها مشخص نمی‌شود، بلکه پس از مدت زمانی که می‌گذرد ارزش آنها معلوم

می‌شود. یکی از مثال‌های روشن این مسئله کشف ساختمان سه بُعدی دنا به وسیله جیمز واتسون و فرانسیس کریک در سال ۱۹۵۳ بود. این ساختمان نسبتاً ساده باعث شد تا دانشمندان سیستم‌های مختلف ژنتیکی را بررسی کنند. اما مطلب به اینجا، ختم نشد و دانشمندان مختلف سعی کردند که از این اطلاعات استفاده نمایند. هدف آنها نیز بیان ساده‌ای داشت. آنها خواستند تا یک DNA را از یک موجود بگیرند و در موجود دیگر وارد نمایند تا اثرات آن ژن در موجود ثانویه بروز کند.

این علم نوین که به تدریج جای خود را در بین علوم دیگر پیدا کرد، با عناوینی چون زیست‌شناسی مولکولی، مهندسی ژنتیک و نهایتاً دنا نو ترکیب شناخته می‌شود. مثال معروفی از کاربردهای مهندسی ژنتیک تولید سویه ای از باکتری اشرشیاکلی است که قادر به سنتز انسولین انسانی است. تولید گیاهان مقاوم به تنش‌های شوری و خشکی از دیگر مثال‌های شناخته شده کاربردهای مهندسی ژنتیک است.

مراحل مهندسی ژنتیک

۱. ساخت DNA نو ترکیب

ساخت DNA نو ترکیب یکی از اصلی‌ترین مراحل مهندسی ژنتیک است. از این رو حتی به مهندسی ژنتیک، فناوری ساخت DNA نو ترکیب نیز گفته می‌شود. برای ساخت DNA نو ترکیب به دو نوع آنزیم نیاز است. یکی برای بریدن ژن خارجی (ژن مورد نظر برای تکثیر یا محصول) و وکتور، به عنوان مثال پلازمید (DNA کوچک، حلقوی که در بعضی از باکتری‌ها وجود دارد) و قرار دادن ژن خارجی در وکتور دومین آنزیم برای برقراری پیوند فسفودی استر بین ژن خارجی و وکتور. برای بریدن DNA از آنزیم‌های محدودکننده استفاده می‌شود. آنزیم‌های محدودکننده آنزیم‌هایی باکتریایی هستند. یعنی فقط ژن رمزکننده این آنزیم‌های پروتئینی در باکتری‌ها موجود می‌باشد و سلول‌های یوکاریوتی ژن رمزکننده این دسته از آنزیم‌ها را ندارند. آنزیم‌های محدودکننده توالی کوتاه و خاصی از DNA به نام جایگاه تشخیص آنزیم را شناسایی می‌کنند و آنها را برش می‌دهند. بیشتر آنزیم‌هایی محدودکننده، توالی کوتاه و تک رشته‌ای را در دو انتهای DNA ای که برش می‌زنند ایجاد می‌کنند که به آنها انتهای چسپنده می‌گویند. در مهندسی