

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

سیانوباکتری‌ها

(راهنمای عملی روش‌های مولکولی و آنالیزهای بیوانفورماتیک)

جلد سوم

Cyanobacteria

(A practical guide to molecular methods and bioinformatics analysis)

Volume III

تالیف:

دکتر بهاره نوروزی

عضو هیئت علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات

سرشناسه: نوروژی، بهاره، ۱۳۵۹ -
 عنوان و نام پدیدآور: سیانوباکتری‌ها (راهنمای عملی روش‌های مولکولی و آنالیزهای
 بیوانفورماتیک) // تالیف بهاره نوروژی.
 مشخصات نشر: کرج: جهاد دانشگاهی واحد استان البرز (خوارزمی)، انتشارات، ۱۴۰۱ -
 مشخصات ظاهری: ج: مصور، جدول.
 شابک: ۶-۳۱-۳-۷۶۰۳-۶۲۲-۹۷۸-۶۵۰۰۰ ریال
 وضعیت فهرست نویسی: فیا
 یادداشت: فهرست‌نویسی بر اساس جلد سوم، ۱۴۰۱.
 یادداشت: کتابنامه.
 یادداشت: نمایه.
 موضوع: سیانوباکتری‌ها
 Cyanobacteria
 شناسه افزوده: جهاد دانشگاهی. واحد استان البرز (خوارزمی). انتشارات
 رده بندی کنگره: ۶۳/QR۹۹
 رده بندی دیویی: ۳۹/۵۷۹
 شماره کتابشناسی ملی: ۸۸۰۹۸۴۰



واحد استان البرز
 (خوارزمی)

سیانوباکتری‌ها

(راهنمای عملی روش‌های مولکولی و آنالیزهای بیوانفورماتیک)

تالیف

دکتر بهاره نوروژی

حروفچینی: جهاد دانشگاهی واحد استان البرز (خوارزمی)

نوبت چاپ: اول- بهار ۱۴۰۱

شمارگان: ۲۰۰ نسخه

قیمت: ۶۵۰,۰۰۰ ریال

شابک: ۶-۳۱-۳-۷۶۰۳-۶۲۲-۹۷۸

آدرس ناشر:

(۱) کرج، خیابان شهید بهشتی، دانشگاه خوارزمی، طبقه همکف ساختمان مرکزی، معاونت فرهنگی جهاد دانشگاهی واحد

استان البرز (خوارزمی)؛ تلفن: ۰۲۶-۳۴۵۰۵۱۵۱

(۲) تهران، خیابان طالقانی شرقی، بین بهار و شریعتی، جنب بانک سپه، پلاک ۵۲، انتشارات جهاد دانشگاهی واحد استان البرز

(خوارزمی)؛ تلفن: ۰۲۱-۷۷۵۰۳۸۲۴

فهرست

عنوان	صفحه
پیشگفتار	۷
مقدمه	۱۱
فصل اول: جمع آوری، کشت، خالص سازی و شناسایی سویه سیانوباکتری ها	۱۵
روش نمونه برداری نمونه های آبزی و خاکری	۱۵
تهیه محیط کشت مایع استوک BG-110 (بدون نمک های نیتروژنه)	۱۶
اطلاق کشت سیانوباکتری ها	۱۷
تهیه محیط کشت جامد BG-110	۲۰
تهیه شیب آگار	۲۱
روش تهیه لام ثابت از نمونه ها	۲۲
شناسایی بر اساس ویژگی های مورفولوژیک نمونه ها	۲۳
تهیه کشت های تک جلبکی	۲۶
آزمایش نمونه های آکزنیک توسط تلقیح در محیط کشت R2A	۲۸
فصل دوم: روش های عملی استخراج DNA و کلونینگ کل قطعه 16S rRNA و ITS	۳۱
استخراج DNA	۳۱
روش عملی تکثیر کل قطعه ژن 16S rRNA و ITS به منظور شناسایی مولکولی سیانوباکتری ها	۳۱
استخراج DNA به روش دستی فنل - کلروفرم	۳۱
تهیه فنل برای استخراج DNA به روش دستی	۳۲
آماده سازی مهره های شیشه ای	۳۳
آماده سازی نمونه برای استخراج DNA	۳۳
تعیین کمی غلظت DNA	۳۵

۳۵	تکثیر قطعه DNA قابل تکثیر با PCR (شناسایی بر اساس توالی ۱۶S rRNA).....
۳۷	چرا از ژن ۱۶SrRNA برای شناسایی سویه های باکتری استفاده می شود؟.....
۳۷	الکتروفورز ژل آگارز.....
۳۸	محلول های لازم جهت الکتروفورز روی ژل آگارز.....
۳۸	محلول 50X TAE (Bio-Rad) (جدول ۲-۳).....
۳۸	محلول 1X TAE.....
۳۸	تهیه ژل آگارز یک درصد (w/v).....
۳۹	بافر لودینگ.....
۳۹	مرحله لودینگ.....
۳۹	الکتروفورز.....
۴۰	تکثیر منطقه ITS.....
۴۰	کلونینگ کل قطعه 16S rRNA با استفاده از کیت کلونینگ TOPO TA.....
۴۱	لود تمام فرآورده PCR روی ژل ۱٪ درصد و تخلیص DNA از ژل.....
۴۲	استخراج DNA از ژل.....
۴۴	تعیین غلظت DNA استخراج شده از ژل با نانودراپ.....
۴۴	لود کردن DNA خالص شده روی ژل آگارز برای تایید اندازه.....
۴۵	تهیه محیط کشت LB.....
۴۶	واکنش کلونینگ TOPO در حجم ۶ میکرولیتر.....
۴۷	انتقال DNA به باکتری.....
۴۸	غربال گری کلنی های واجد پلاسمیدهای نو ترکیب.....
۴۸	مشاهده کلنی های سفید و آبی روی ظرف پتری.....
۵۰	انجام واکنش PCR و استفاده از کلنی ها به عنوان الگو.....
۵۲	الکتروفورز ژل آگارز.....
۵۳	فصل سوم: روش های عملی توالی یابی محصول PCR به کمک دستگاه توالی یاب.....
۵۳	مقدمه.....
۵۳	تمیز کردن فرآورده PCR با کیت E.Z.N.A.® MicroElute Clean-up.....
۵۴	تمیز کردن فرآورده PCR با کیت GeneClean® Turbo.....
۵۷	تعیین غلظت DNA (فرآورده PCR) تمیز شده با نانودراپ (جدول ۳-۱).....
۵۷	برنامه PCR برای توالی یابی فرآورده PCR تمیز شده.....
۶۰	رسوب گیری فرآورده PCR.....

۶۰	رسوب گیری با اتانول (۹۱/۶ درصد).....
۶۱	توالی یابی با استفاده از دستگاه توالی یاب.....
۶۲	نکات مهم و مفید در توالی یابی.....
۶۳	تفسیر کروماتوگرام های حاصل از توالی یابی.....
۶۳	توالی های آغازین کروماتوگرام.....
۶۴	توالی های اواسط کروماتوگرام.....
۶۴	توالی های انتهای کروماتوگرام.....
۶۵	برخی از توالی های به دست آمده از دستگاه توالی یاب.....
۶۶	مشکلات و عیب یابی توالی ها.....
۶۶	۱- هیچ توالی در نتایج توالی یابی وجود ندارد.....
۶۷	۲- چندین پیک درون توالی.....
۶۸	۳- الگوی دندانانه دندانانه.....
۶۸	۴- پیک های اضافی حباب مانند.....
۶۹	۵- توالی های کوتاه و بریده پزیده.....
۷۰	۶- توالی های نویز دار با $S/N > 20$ پایین.....
۷۱	۷- توالی های نویز دار با میزان $S/N (20-500)$
۷۲	نقصان در تفکیک پذیری.....
۷۳	پدیدار شدن پیک های سیاه گوانین.....

فصل چهارم: روش های عملی استفاده از برنامه BioEdit..... ۷۵

۷۵	مقدمه.....
۷۶	هم جهت سازی توالی های فوروارد و ریورس.....
۸۱	هم ردیف سازی جفتی.....
۸۲	توالی اجماع.....
۸۳	ایجاد توالی حاصل از همپوشانی توالی فوروارد و ریورس.....

فصل پنجم: روش های عملی جستجوی Blast..... ۸۵

۸۵	انواع Blast.....
۸۶	جستجو برای یافتن توالی های مشابه در پایگاه داده های GenBank TM
۸۷	متنوی Description.....
۸۸	متنوی Graphic summary.....

۸۹	 منوی Alignment
۹۳	 فصل ششم: جستجوی توالی های نوکلئوتیدی و پروتئینی در سایت NCBI
۹۹	 فصل هفتم: تبدیل توالی نوکلئوتیدی به توالی پروتئینی و بالعکس
۹۹	 تبدیل توالی نوکلئوتیدی به پروتئینی
۱۰۱	 چارچوب آزاد خواندن (ORF)
۱۰۴	 تبدیل توالی پروتئینی به نوکلئوتیدی
۱۰۷	 فصل هشتم: مشاهده ساختمان سه بعدی پروتئین ها
۱۰۷	 استفاده از بانک اطلاعاتی پروتئینی (Pdb)
۱۱۰	 برنامه Cn3D
۱۱۱	 سایت Expasy
۱۱۳	 فصل نهم: ثبت ژن در بانک ژن
۱۱۳	 ثبت توالی های نوکلئوتیدی در بانک ژن
۱۲۲	 لیست کدهای دسترسی نوکلئوتیدی موجود در بانک ژن توسط نویسنده
۱۲۹	 ثبت توالی های نوکلئوتیدی کد کننده ترکیبات پروتئینی در بانک ژن
۱۳۸	 لیست کدهای دسترسی توالی های پروتئینی موجود در بانک ژن توسط نویسنده
۱۴۳	 فصل دهم: روش های عملی رسم و ویرایش درختان فیلوژنتیک
۱۴۳	 روش عملی رسم درختان فیلوژنتیک با استفاده از برنامه Mega
۱۴۳	 هم ردیف سازی توالی ها
۱۴۵	 هم ردیف سازی توالی ها به کمک Clustal W
۱۴۷	 انتخاب بهترین مدل برای رسم درخت فیلوژنتیک به کمک برنامه Mega6
۱۴۹	 انواع آنالیزهای رسم درخت فیلوژنتیک
۱۴۹	 روش Neighbor-Joining
۱۵۰	 روش Maximum parsimony
۱۵۱	 روش Maximum likelihood
۱۵۲	 روش Bootstrapping
۱۵۲	 رسم درخت فیلوژنتیک با ریشه و بدون ریشه
۱۵۶	 رسم عملی درخت فیلوژنتیک به کمک برنامه Iq tree

۱۵۶	هم ردیف سازی توالی ها به کمک برنامه MAFFT version 7
۱۵۹	روش کار با برنامه Mesquite
۱۶۲	انتخاب بهترین مدل برای رسم درختان فیلوژنتیک با برنامه Iqtree server
۱۶۳	رسم درخت فیلوژنتیک به کمک برنامه Iq tree
۱۶۶	ویرایش فایل درخت فیلوژنتیک با برنامه ویرایشگر Inkscape و Fig tree
۱۷۵	فصل یازدهم: آنالیز ساختار ثانویه ITS به منظور تشخیص گونه و جنس های جدید
۱۷۵	منطقه ITS و ساختار
۱۷۷	پیشگویی حضور ژن های tRNA Ile و tRNA Ale
۱۸۰	مناطق حفاظت شده ITS
۱۸۱	رسم ساختارهای ثانویه ITS با استفاده از برنامه Mfold
۱۹۵	فصل دوازدهم: آنالیز توالی ژن های NRPS و PKS کد کننده محصولات طبیعی
۱۹۵	مقدمه
۱۹۵	مکانیسم بیوسنتزی NRPS ها
۱۹۶	دامین های اصلی سیستم بیوسنتزی غیر ریویزومی NRPS
۱۹۶	دامین آدنیل شده (A)
۱۹۸	دامین T (دامین حامل پپتیدیل)
۱۹۸	دامین تراکمی (C)
۱۹۹	دامین تیواستراز (Te)
۲۰۱	مکانیسم بیوسنتزی PKS ها
۲۰۲	دامین های اصلی سیستم بیوسنتزی غیر ریویزومی پلی کتیدها (PKS)
۲۰۲	دامین آسیل ترانسفراز (AT)
۲۰۴	دامین کتوستاز (KS)
۲۰۴	دامین نیوله کننده
۲۰۴	آنالیز PKS/NRPS
۲۰۹	محاسبه میزان واگرایی ژن های تولید کننده ترکیبات طبیعی
۲۱۷	فصل سیزدهم: آموزش عملی استفاده از برنامه Biodiversity Pro
۲۱۷	مقدمه
۲۱۸	پرایمرها و برنامه PCR تکثیر ژن های HIP، ERIC و STRR

پیشگفتار

امروزه آموزش روش عملی کاربرد بیوانفورماتیک در آنالیز ژن‌ها و مخصوصاً علم فیلوژنتیک، از اهمیت بسیاری برخوردار است. پس از دستیابی به توالی DNA پروکاریوت‌ها و یوکاریوت‌ها توسط دستگاه‌های پیشرفته توالی‌یاب، ضرورت حضور دانش جدید و متفاوتی در کنار زیست‌شناسی برای ذخیره‌سازی و آنالیز این داده‌ها بوجود آمد. با وجود آمدن چنین نیازی و همزمان شدن آن با رشد رو به افزایش حجم داده‌های زیستی، دانش بیوانفورماتیک و کاربرد آن در فیلوژنی مولکولی موجودات پا به عرصه دانش بشری نهاد. این علم با بهره‌گیری هم‌زمان از علوم کامپیوتر، ریاضیات و آمار به بررسی و تفسیر داده‌های زیست‌شناختی می‌پردازد.

شناسایی جنس و گونه‌های جدید سیانوباکتری‌ها، بر پایه اطلاعات حاصل از توالی ژنومیک در ابعاد وسیع می‌تواند در آینده نقش چشمگیری در بسیاری از صنایع داشته باشد. ابعاد علمی و عملی این علم در آنالیز و ثبت ژن مارکرهای مولکولی محافظت شده، در صورتی که در مسیر اصولی و کاربردی هدایت شود، می‌تواند به طور حساب شده‌ای از حالت بالقوه به بالفعل تبدیل گردد و آنقدر کارایی خواهد داشت تا تعداد قابل توجهی از دانشجویان کارشناسی ارشد و دکتری را در آینده‌ای نزدیک به خود جذب کرده و از ثمره تلاش آن‌ها و حصول نتایج جدید، چاپ بسیاری از مقالات علمی را در ژورنال‌های معتبر دنیا به همراه داشته باشد که این خود در بالا بردن سطح علمی دانشگاه‌ها نیز بسیار تاثیر گذار خواهد بود. لذا در تالیف این کتاب کوشش شده است تا در قالب سیزده فصل، با بیان جزییات کامل به کاربرد این علم در ابعاد مختلف پرداخته شود.