

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه علوم پزشکی مشهد

شمارات دانشگاه علوم پزشکی مشهد، شماره ۳۲۴

طراحی پراکنش به زبان ساده

(راهنمای نظری و عملی)

تألیف

دکتر خدیجه جامی لاجانی
استادیار دانشکده پزشکی و مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی
دانشگاه علوم پزشکی مشهد

دکتر محسن فتحی نجفی

عضو هیئت علمی موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی مشهد

بهجت مجیدی

کارشناس ارشد بخش تحقیقات بیوتکنولوژی
موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی مشهد

غزاله محمدی

دانشجوی دکترای PhD پزشکی مولکولی، دانشکده پزشکی،
دانشگاه علوم پزشکی قزوین

عنوان و نام پدیدآور:	طراحی پرایمر به زبان ساده (راهنمای نظری و عملی) / تألیف خدیجه جامی الاحمدی... [و دیگران].
مشخصات نشر:	مشهد: دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی مشهد، ۱۳۹۳.
مشخصات ظاهری:	۲۶۰ ص.: مصور.
ثروست:	(انتشارات دانشگاه علوم پزشکی مشهد؛ شماره ۳۲۴).
شابک:	(ISBN: 978-964-5627-19-3)
وضعیت فهرست نویسی:	فیا.
یادداشت:	PCR primers design in simple language (theoretical and practical guide).
یادداشت:	تألیف خدیجه جامی الاحمدی، محسن فتحی نجفی، بهجت مجیدی، غزاله محمدی، واکنش زنجیره ای پلیمراز، واکنش زنجیره ای پلیمراز، روش ها، ژنتیک -- مهندسی -- نرم افزار، جامی الاحمدی، ۱۳۵۳، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی مشهد.
ردیف:	۱۳۹۳ ط ۴ و ۲ / QP ۶۰۶
رده بندی دیویی:	۵۷۲.۳
شماره کتابخانه ملی:	۳۲۰۷



انتشارات دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ۱۳۹۳

طراحی پرایمر به زبان ساده
(راهنمای نظری و عملی)

تألیف

دکتر خدیجه جامی الاحمدی - دکتر محسن فتحی نجفی

بهجت مجیدی - غزاله محمدی

وزیری، ۲۶۰ صفحه، ۳۲۰ نسخه، چاپ اول، پاییز ۱۳۹۳

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

بها: ۱۰۰۰۰۰ ریال

بسمه تعالی

انتشارات دانشگاه علوم پزشکی مشهد - به عنوان یک نهاد علمی - فرهنگی، چاپ و نشر، کتبی و غیر کتبی مردم استفاده استادان و دانشجویان رشته‌های علوم پزشکی را از وظایف اساسی خود دانند. بر آن است تا با انتشار متون مربوط به علوم پزشکی، هم بر اعتبار و اعتلای آنها بیفزاید و هم بجات دل گرمی و شوق و نشاط امر تحقیق را در پی جوییهای 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 دستیابی به منابعی که در قلمرو ناشران خصوصی، نه تنها از مسؤولیت مواکز معتبر دانشگاهی، بلکه بخش در این زمینه‌ها با تکیه بر جنبه‌های علمی و فرهنگی موضوع نمی‌گاهد، بلکه به دلایل گوناگون، از جمله لزوم بررسیهای دقیق کارشناسی، ویرایشهای علمی و فنی، و نیز توجه بیشتر به توانایی مخاطبان آثار، به‌ویژه دانشجویان، ایجاب می‌کند که دانشگاههای دولتی دامپزشکی خود را با تکیه بر جنبه‌های کیفی، و گاه صرف‌نظر از بازده اقتصادی گسترش دهند.

مسئولان انتشارات دانشگاه علوم پزشکی مشهد، با اشتیاق و خالص تمام می‌خواهند تا جدیدترین آثار مربوط به دانشهای پزشکی را به بهترین شیوه چاپ کنند 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 به کمال آثار منتشره خویش بیفزاید.

معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد با استعانت از الطاف خدایوندی و با درایت 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	پیش گفتار
۱۱	فصل اول: واکنش زنجیره‌ای مولی (PCR)
۱۱	مقدمه
۱۲	واکنش زنجیره‌ای پلی مولی (PCR)
۱۴	ترکیبات مورد نیاز در واکنش PCR
۱۶	طراحی پرایمر
۱۶	انتخاب پرایمر
۲۷	فصل دوم: نرم افزار Gene Runner
۲۷	مقدمه
۲۸	گذری سریع بر نرم افزار Gene Runner
۳۱	۱-۲- آنالیز فراوانی کدون (Codon Frequency Analysis)
۳۳	۲-۲- جداول فراوانی کدون (Codon Frequency Tables)
۳۵	۳-۲- آنالیز کلونینگ (Cloning Analysis)
۴۲	۴-۲- فونت‌ها و رنگ
۴۴	۵-۲- ترکیب توالی (Sequence Composition)
۴۵	۶-۲- کادر محاوره پیش فرضها (Defaults Dialog Box)
۴۵	۷-۲- دایرکتوریهای پیش فرض (Default Directories)
۴۶	۸-۲- رنگها و فونت‌های پیش فرض (Default Fonts and Colors)
۴۶	۹-۲- ویرایش توالی (Sequence Editing)
۵۳	۱۰-۲- مشاهده ویژگیها (View Features)
۵۵	۱۱-۲- فونت‌ها و رنگ
۵۵	۱۲-۲- قطعات محدود کننده (Restriction Fragments)
۶۱	۱۳-۲- هندسه توالی (Sequence Geometry)
۶۱	۱۴-۲- رفتن به (Go To)

۶۲	۱۵-۲ نمودارها (Graphs)
۶۳	۱۶-۲ آنالیز دمای ذوب (Melting Temperature Analysis)
۶۴	۱۷-۲ جداول متیلاز (Methylase Tables)
۶۵	۱۸-۲ کادر محاوره پارامترهای تطبیق (Alignment Parameters Dialog Box)
۷۰	۱۹-۲ اولیگوهای جهش‌زایی (Mutagenesis Oligos)
۸۳	۲۰-۲ موتیفهای اسید نوکلئیک (Nucleic Acid Motifs)
۸۶	۲۱-۲ جداول موتیف اسید نوکلئیک (Nucleic Acid Motif Tables)
۸۷	۲۲-۲ جداول جستجوی موتیف اسید نوکلئیک (Nucleic Acid Motif Search Tables)
۸۸	۲۳-۲ آنالیز خصوصیات اسید نوکلئیک (Nucleic Acid Properties Analysis)
۹۱	۲۴-۲ آنالیز الیگونوکلئوتید (Oligonucleotide Analysis)
۹۸	۲۵-۲ باز کردن فایل (Opening a File)
۱۰۱	۲۶-۲ قاب خوانش (Open Reading Frames)
۱۰۵	۲۷-۲ جهت‌یابی (Sequence Orientation)
۱۰۷	۲۸-۲ انتخاب پرایمر (PCR Primer Selection)
۱۲۲	۲۹-۲ چاپ کردن (Printing)
۱۲۴	۳۰-۲ کادر محاوره چاپ الیگو (Print Oligo Dialog Box)
۱۲۴	۳۱-۲ پروب‌های ترجمه معکوس (Reverse Translation Probe)
۱۲۸	۳۲-۲ پروژه‌ها (Projects)
۱۳۰	۳۳-۲ آنالیز آنزیم محدودکننده (Restriction Enzyme Analysis)
۱۴۰	۳۴-۲ جدول آنزیم محدودکننده (Restriction Enzyme Table)
۱۴۴	۳۵-۲ جداول جستجوی آنزیم محدودکننده (Restriction Enzyme Search Tables)
۱۴۶	۳۶-۲ ترجمه معکوس توالی پروتئینی (Reverse Translation a Protein Sequence)
۱۴۸	۳۷-۲ ذخیره کردن فایلها (Saving Files)
۱۵۱	۳۸-۲ یافتن (Find)
۱۵۶	۳۹-۲ پرایمرهای تعیین توالی (Sequencing Primers)
۱۶۰	۴۰-۲ مرتب نمودن (Sorting)
۱۶۱	۴۱-۲ ویرایش توالی (Sequence Editing)
۱۶۸	۴۲-۲ سبک‌های توالی (Sequence Styles)
۱۷۰	۴۳-۲ نوار ابزار (Toolbar)
۱۷۲	۴۴-۲ ترجمه یک توالی (Translating a Sequence)
۱۷۴	۴۵-۲ جداول ترجمه (Translation Tables)
۱۷۷	۴۶-۲ سبک‌های توالی (Sequence Styles)
۱۷۹	طراحی پرایمر با استفاده از نرم افزار Gene Runner

۱۷۹	استفاده از واکنش PCR برای تشخیص میکروارگانیسم‌ها
۱۸۸	PCR-RFLP
۱۹۷	فصل سوم: نرم افزار Primer-Blast در پایگاه داده NCBI
۱۹۹	۳-۱- کادر پارامترهای پرایمر (Primer Parameters)
۱۹۹	۳-۲- کادر گزینش اگزون - اینترون (Exon/Intron Selection)
۲۰۰	۳-۳- کادر پارامترهای کنترل اختصاصیت جفت پرایمر (Primer Pair Specificity Checking Parameters)
۲۰۴	۳-۴- کادر گزارش مشخصات جزئی پرایمر (Detailed Primer Reports)
۲۰۷	فصل چهارم: طراحی پرایمر با کمک نرم افزار CLC Main Workbench
۲۰۹	مفاهیم کلی
۲۱۱	۴-۱- امتیازدهی یا نمره‌بندی پرایمرها (Scoring Primers)
۲۱۱	۴-۲- تنظیم پارامترها بر روی پروب‌ها
۲۱۵	۴-۳- نمایش گرافیکی اطلاعات پرایمرها
۲۱۸	۴-۴- اطلاعات خروجی مربوط به طراحی پرایمر
۲۱۹	۴-۵- PCR استاندارد
۲۲۴	۴-۶- Nested PCR
۲۲۶	۴-۷- TaqMan PCR
۲۲۹	۴-۸- پرایمرهای تعیین توالی (Sequencing Primers)
۲۳۱	۴-۹- طراحی پرایمر و پروب بر اساس Alignment یا تطبیق توالی‌ها (Alignment-based Primer and Probe Design)
۲۳۹	۴-۱۰- آنالیز ویژگی‌های پرایمر (Analyze Primer Properties)
۲۴۱	۴-۱۱- پیدا کردن جایگاههای اتصال و تولید قطعات
۲۴۷	۴-۱۲- سفارش پرایمرها (Order Primers)
۲۴۸	راهنمای طراحی پرایمر با استفاده از نرم افزار CLC Main
۲۴۸	اختصاص دادن یک توالی برای پرایمر مستقیم
۲۵۲	محاسبه و به دست آوردن یک جفت پرایمر
۲۵۷	منابع

پیش‌گفتار

سپاس خداوند لایزال را که به ما توفیق خدمت خلق و تشنگان علم را داد تا بتوانیم هر چند اندک در جهت رفعت دانش بشری و ارتقاء دانشجویان عزیز گام برداریم و تجربیات اندک خود را در زمینه اصول طراحی پرایمر انتخاب عزیزان و بخصوص کسانی که از این علم به صورت روزانه استفاده می‌کنند، قرار دهیم.

در دهه‌های اخیر، علم بی‌درم مولکولی از یک هنر در زمینه کلونینگ یک ژن به یک علم کلیدی و پایه در جهت اندازه‌گیری رابطه تعریفی ژنتیکی و ژنوم تبدیل شده است. روش‌های جدید و پربازده امروزی برای توالی‌یابی ژنوم و مطالعات بر روی سلول در سطوح سیستماتیکی از جمله ترانس کریپتوم، پروتئوم، متابولوم و سایر زمینه‌ها به خدمت تبدیل است. در قلب این روش‌های پربازده و کلیدی، تکنیک واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز یا PCR قرار گرفته است.

واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز یک روش قدرتمند است که به ما اجازه تکثیر توالی‌های خاصی از DNA و تبدیل آنها از واحدهای زیر پیکومول به مقادیر کافی برای آشکارسازی ژن و تعیین کمیت آن را می‌دهد. ترکیبات اساسی و پایه واکنش PCR شامل نمونه الگو، بافر واکنش، پرایمر پلی‌مراز و دو پرایمر هستند که این دو، اختصاصیت تکثیر و کارایی واکنش را تعیین و تضمین می‌کنند. یکی از این اجزا در سال‌های اخیر به طور دقیق مورد مطالعه قرار گرفته و به درستی تعیین کمیت و بهینه شده است.

کتاب حاضر تلاشی است برای پر کردن یک خلاء مهم در زمینه کتابهای علمی که در رابطه با تکنیک PCR در ایران. این کتاب بر هنر طراحی پرایمر تمرکز دارد که برای اختصاصیت و کارآمدی واکنش PCR ضروری است. در واقع اهمیت استراتژی طراحی پرایمر توسط هدف PCR مشخص می‌شود. اگر چه در بسیاری موارد، انتخاب پرایمرهای PCR ممکن است با دانش و آگاهی نسبی نسبت به اصول طراحی پرایمر صورت پذیرد، اما معمولاً یک واکنش PCR موفق تنها با کمک پرایمرهایی حاصل می‌گردد که به درستی و با دقت طراحی و انتخاب شده باشند.

این کتاب به عنوان یک راهنمای عملی تلاش دارد تا برای دانشجویان و محققین مختلف درک بهتری از اصول طراحی پرایمر که جهت کارایی و صحت واکنش PCR حیاتی است را فراهم نماید. در همین راستا در فصول این کتاب پس از تشریح مشخصات یک جفت پرایمر مناسب (بسته به هدف طراح و به تناسب نیاز کاربر)، ابتدا به معرفی چند نرم‌افزار متداول مورد کاربرد در طراحی پرایمر خواهیم پرداخت و سپس

نحوه طراحی پرایمر را با کمک این نرم افزارها به صورت گام به گام آموزش خواهیم داد. امید است این اثر مورد استفاده محققین و دانشجویانی که به گونه‌ای با تکنیکهای مولکولی بخصوص PCR سروکار دارند واقع گردد.

لازم به ذکر است که این اثر نیز همچون تمام آثار برگرفته از علم بشری، خالی از اشکال نبوده و قطعاً نظرات شما خوانندگان محترم در آینده به رفع مشکلات و نواقص آن کمک خواهد نمود و از شما خزانده عزیز درخواست داریم در صورت برخورد با این مشکلات ما را از نظرات و نقد صمیمانه خود بی‌شائب نگه دارید.

در بیان از تمامی عزیزانی که در طول زندگی ما را یاری نموده‌اند و درخت خدمت و تلاش هایشان امروز در نشر این کتاب به بار نشسته است تشکر می‌نمایم.

www.ketab.ir