



مقدمه‌ای بر

کلون‌سازی ژن‌ها و آنالیز DNA

پروفسور براون - ویرایش ششم 2010

مترجمین:

دکتر مجتبی طباطبایی یزدی

(استاد بیوتکنولوژی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران)

دکتر غلامرضا زرینی

(استادیار میکروبیولوژی، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز)

دکتر ضرغام سپهری زاده

(دانشیار بیوتکنولوژی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران)

دکتر عبدا... قاسمیان

(استادیار بیوتکنولوژی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز)

دکتر آرمان همت

(رئیس‌دنت بیوتکنولوژی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران)



نازیت‌شناسی

... در هر حرفه‌ای که هستید نه اجازه دهید که به بدبینی‌های بی‌حاصل آلوده شوید و نه بگذارید که بعضی از لحظات تأسفبار که برای هر ملتی پیش می‌آید شما را به یأس و ناامیدی بکشاند. در آرامش حاکم بر آزمایشگاه‌ها و کتابخانه‌هایتان زندگی کنید. نخست از خود بپرسید: **«برای یادگیری و خودآموزی چه کرده‌ام؟»** سپس همچنان که پیش‌تر می‌روید، بپرسید: **«من برای کشورم چه کرده‌ام؟»** و این پرسش را آنقدر ادامه دهید تا به این احساس شادی بخش و هیجان‌انگیز برسید که: **«شاید سهم کوچکی در پیشرفت و اعتلای بشريت داشته‌اید.»** اما هر پاسخی که زندگی به تلاش‌هایمان بدهد یا ندهد، هنگامی که به پایان تلاش‌هایمان نزدیک می‌شویم هر کدامان باید حق آن را داشته باشیم که با صدای بلند بگوییم:

«من آنچه در توان داشته‌ام انجام داده‌ام.»

لوئی پاستور

(۱۸۶۵-۱۸۲۲)

پیشگفتار

زیست‌شناسی مولکولی و مهندسی ژنتیک از شاخه‌های مهم علوم زیستی نوین محسوب می‌شوند که در چند دهه اخیر پیشرفت‌های چشمگیری در آن صورت گرفته است و این گسترش با پیشرفت‌های ابزاری در این زمینه شتاب مضاعفی پیدا کرده است. مهندسی ژنتیک به واسطه کاربردهای مختلفی که در علوم پایه، تولید فراورده‌های کشاورزی، دارویی و پزشکی داشته است از اهمیت و توجه ویژه‌ای برخوردار است. امروزه دیگر تنها متخصصین این رشته نیستند که بر اهمیت آن واقف می‌باشند و کمتر کسی است که از محصولات این علم بطور مستقیم یا غیرمستقیم برخوردار نشده باشد. البته بیان این نکته نیز خالی از لطف نیست که با وجود بهره‌مندی از جنبه‌های مثبت این علم عدم رعایت اصول اخلاقی در استفاده از آن می‌تواند نگرانی‌هایی را در پی داشته باشد.

وجود چنین حیطه وسیعی از کاربردها و شتاب بالای پیشرفت در این زمینه سبب شده است که احساس نیاز به آگاهی از این علم و تربیت متخصصین در این رشته جزء اولویتهای قرار داده شود. کتاب‌های بسیاری در زمینه مهندسی ژنتیک و روش‌های مختلف آن به رشته تحریر درآمده است ولی در هر زمینه علمی بعضی نوشته‌ها از شیوایی و محتوای غنی‌تری برخوردار است که به نحوه بیان نگارنده آن مربوط می‌شود. کتاب حاضر ترجمه ویرایش ششم *Gene Cloning* نوشته پروفیسور *تی. ای. براون* است. وی علاوه بر این کتاب، کتاب‌های بسیاری را در زمینه ژنتیک به رشته تحریر درآورده است. به جرات می‌توان گفت که این کتاب یکی از بهترین کتاب‌ها در زمینه مهندسی ژنتیک است که می‌تواند مورد استفاده دانشجویان و پژوهشگران رشته‌های مختلف علوم زیستی، کشاورزی، پزشکی و علاقه‌مندان به مطالعه در زمینه مهندسی ژنتیک و کاربردهای آن قرار گیرد. کتاب در ۳ بخش تنظیم شده است که هر بخش نیز در فصول جداگانه‌ای موضوعات مربوطه را ارائه می‌دهد. بخش اول با ۹ فصل اصول اولیه و روش‌های مختلف مورد استفاده در کلون‌سازی ژن و PCR را توضیح می‌دهد. بخش دوم کتاب با ۳ فصل روش‌های مطالعه ژن‌ها و ژنوم را بیان می‌کند و نهایتاً در بخش سوم کاربردهای کلون‌سازی ژن و PCR را در بیوتکنولوژی، پزشکی، کشاورزی، علوم جنایی و باستان‌شناسی مطرح می‌کند.

در خاتمه لازم می‌دانیم که از آقای دکتر سیدعباس میرزایی و خانم دکتر فاطمه الهیان که زحمت بازخوانی این کتاب را بر عهده داشتند صمیمانه تشکر و قدردانی نماییم. از آن جایی که هیچ کاری عاری از خطا نیست لذا از اساتید محترم و دانشجویان عزیز سپاسگزار خواهیم بود که ما را از این خطاها آگاه سازند.

گروه مترجمین / بهار ۱۳۹۰

سرفصل‌ها

I - مبانی کلون‌سازی ژن و آنالیز DNA

فصل ۱	چرا کلون‌سازی ژن و آنالیز DNA مهم است؟	۱۹
فصل ۲	حامل‌های کلون‌سازی ژن: پلاسمیدها و باکتریوفاژها	۳۳
فصل ۳	خالص‌سازی DNA از سلول‌های زنده	۴۹
فصل ۴	دستکاری DNA خالص شده	۷۵
فصل ۵	وارد کردن DNA به سلول‌های زنده	۱۱۱
فصل ۶	حامل‌های کلون‌سازی <i>E. coli</i>	۱۳۳
فصل ۷	حامل‌های کلون‌سازی برای یوکاریوت‌ها	۱۵۷
فصل ۸	چگونه از یک ژن خاص کلون به دست بیاوریم	۱۸۷
فصل ۹	واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرال	۲۱۵

II - کاربردهای کلون‌سازی ژن و آنالیز DNA در تحقیقات

فصل ۱۰	توالی‌یابی ژن‌ها و ژنوم‌ها	۲۳۷
فصل ۱۱	مطالعه بیان و عملکرد ژن	۲۶۳
فصل ۱۲	مطالعه ژنوم	۲۹۳

III - کاربردهای کلون‌سازی ژن و آنالیز DNA در بیوتکنولوژی

فصل ۱۳	تولید پروتئین از ژن‌های کلون شده	۳۱۷
فصل ۱۴	کلون‌سازی ژن‌ها و آنالیز DNA در پزشکی	۳۴۳
فصل ۱۵	کلون‌سازی ژن‌ها و آنالیز DNA در کشاورزی	۳۶۷
فصل ۱۶	کلون‌سازی ژن‌ها و آنالیز DNA در علوم جنایی و باستان‌شناسی	۳۹۱
واژه‌نامه		۴۱۱

I : مبانی کلون سازی ژن و آنالیز DNA

فصل اول: چرا کلون سازی ژن و آنالیز DNA مهم است؟

- ۱-۱- توسعه ابتدایی علم ژنتیک ۱۹
- ۲-۱- پیدایش کلون سازی ژن و چاکش (نمونه های پلی مرزا) ۲۰
- ۳-۱- کلون سازی ژن چیست؟ ۲۱
- ۴-۱- PCR چیست؟ ۲۳
- ۵-۱- چرا کلون سازی ژن و PCR این قدر اهمیت دارند؟ ۲۵
- ۱-۵-۱- بدست آوردن نمونه خالصی از ژن با کلون سازی ۲۵
- ۲-۵-۱- از PCR نیز می توان برای خالص سازی ژن استفاده کرد ۲۸
- ۶-۱- چگونه می توانیم از این کتاب استفاده کنیم؟ ۳۰

فصل دوم: حامل های کلون سازی ژن: پلاسمیدها و باکتریوفاژها

- ۱-۲- پلاسمیدها ۳۳
- ۱-۱-۲- اندازه و تعداد نسخه ۳۶
- ۳-۱-۲- انتقال پذیری و سازگاری ۳۷
- ۳-۱-۲- گروه بندی پلاسمیدها ۳۸
- ۳-۱-۲- پلاسمیدها در موجوداتی غیر از باکتری ها ۳۹
- ۲-۲- باکتریوفاژها ۳۹
- ۱-۲-۲- چرخه آلوده کنندگی فاژ ۴۰
- ۲-۲-۲- فاژهای لیزوژن ۴۰
- سازماندهی ژنی در مولکول DNA فاژ ۴۲
- اشکال خطی و حلقوی DNA فاژ ۴۲
- M13- یک فاژ رشته ای ۴۶
- ۳-۲-۲- ویروس ها به عنوان حامل کلون سازی برای سایر موجودات ۴۸

فصل سوم: خالص سازی DNA از سلول های زنده

- ۱-۳- تهیه کل DNA سلول ۵۰
- ۱-۱-۳- کشت دادن و برداشت باکتری ها ۵۰
- ۲-۱-۳- تهیه عصاره سلولی ۵۲
- ۳-۱-۳- خالص سازی DNA از عصاره سلولی ۵۴
- خارج کردن آلودگی ها با استفاده از حلال های آلی و هضم آنزیمی ۵۵
- استفاده از کروماتوگرافی تمویض یونی برای تخلیص DNA از عصاره سلولی ۵۶
- ۴-۱-۳- تغلیظ نمونه های DNA ۵۷
- ۵-۱-۳- اندازه گیری غلظت DNA ۵۸
- ۶-۱-۳- سایر روش ها برای تهیه کل DNA سلول ۵۸

۶۰.....	۳-۲ تهیه DNA پلاسمیدی.....
۶۲.....	۳-۲-۱ جداسازی براساس اندازه.....
۶۴.....	۳-۲-۲ جداسازی براساس ساختار فضایی.....
۶۵.....	دنا توره کردن قلیایی.....
۶۵.....	سانتریفوژ در شیب چگالی اتیدیوم بروماید- سزیم کلرید.....
۶۸.....	۳-۲-۳ تکثیر پلاسمید.....
۶۸.....	۳-۳ تهیه DNA باکتریوهاژ.....
۶۹.....	۳-۳-۱ کشت باکتری‌ها برای تهیه مقادیر زیاد فاز لامبدا.....
۷۰.....	۳-۳-۲ تهیه فازهای لامبدا غیر لیزوژن.....
۷۱.....	۳-۳-۳ جمع آوری فازها از کشت آلوده.....
۷۲.....	۳-۳-۲ تهیه DNA خالص از ذرات فاز لامبدا.....
۷۳.....	۳-۳-۵ خالص سازی DNA فاز M13 مشکلات کمی دارد.....

فصل چهارم: دستکاری DNA خالص شده

۷۷.....	۴-۱ آلزیمهای مورد استفاده برای دستکاری DNA.....
۷۷.....	۴-۱-۱ نوکلئازها.....
۷۹.....	۴-۱-۲ لیگازها.....
۷۹.....	۴-۱-۳ پلی‌مرازها.....
۸۱.....	۴-۱-۴ آنزیمهای تغییر دهنده DNA.....
۸۲.....	۴-۲ آلزیمهایی برای بریدن DNA- اندونوکلیزهای محدودگر.....
۸۴.....	۴-۲-۱ کشف و عملکرد اندونوکلیزهای محدودگر.....
۸۵.....	۴-۲-۲ اندونوکلیزهای محدودگر نوع II DNA را در توالیهای نوکلئوتیدی خاصی برش می‌دهند.....
۸۷.....	۴-۲-۳ انتهای تراز و چسبیده.....
۸۸.....	۴-۲-۴ فراوانی توالیهای شناسایی در یک مولکول DNA.....
۸۹.....	۴-۲-۵ انجام واکنش برش با آنزیمهای محدودگر در آزمایشگاه.....
۹۱.....	۴-۲-۶ بررسی نتیجه برش با اندونوکلیز محدودگر.....
۹۱.....	جداسازی مولکولها با ژل الکتروفورز.....
۹۲.....	آشکار سازی مولکولهای DNA روی ژل آگارز.....
۹۳.....	۴-۲-۷ تخمین اندازه مولکولهای DNA.....
۹۵.....	۴-۲-۸ نقشه برداری محل‌های برش آنزیمهای محدودگر متفاوت روی یک مولکول DNA.....
۸۶.....	۴-۲-۹ روش‌های ژل الکتروفورز خاص برای جداسازی مولکولهای بزرگتر.....
۹۹.....	۴-۳ متصل کردن مولکولهای DNA به یکدیگر.....
۱۰۰.....	۴-۳-۱ نحوه عمل DNA لیگاز.....
۱۰۰.....	۴-۳-۲ انتهای چسبیده کارایی اتصال را افزایش می‌دهند.....
۱۰۱.....	۴-۳-۳ قرار دادن انتهای چسبیده روی مولکول با انتهای تراز.....
۱۰۱.....	اتصال دهنده‌ها.....
۱۰۱.....	سازگار کننده‌ها.....
۱۰۶.....	ایجاد انتهای چسبیده با افزودن هموپلیمر.....
۱۰۸.....	۴-۳-۴ اتصال انتهای صاف به وسیله DNA توپوایزومراز.....

فصل پنجم: وارد کردن DNA به سلول‌های زنده

- ۱-۵ کوانسفورم کردن- برداشت DNA توسط سلول‌های باکتریایی ۱۱۴
- ۱-۱-۵ توانایی همه گونه‌های باکتریایی در برداشت DNA یکسان نیست ۱۱۲
- ۲-۱-۵ تهیه سلول‌های *E. coli* مستعد ۱۱۵
- ۳-۱-۵ انتخاب سلول‌های ترانسفورم شده ۱۱۵
- ۲-۵ شل‌سازی سلول‌های ماهی DNA لیزوتیک ۱۱۷
- ۱-۲-۵ انتخاب DNA نو ترکیب با pBR322- غیرفعال‌سازی الحاقی یک ژن مقاومت به آنتی‌بیوتیک ۱۱۸
- ۲-۲-۵ غیرفعال‌سازی الحاقی همیشه مستلزم ژن مقاومت به آنتی‌بیوتیک نیست ۱۱۹
- ۳-۵ وارد کردن DNA فاز به سلول‌های باکتریایی ۱۲۳
- ۱-۳-۵ ترانس فکشن ۱۲۳
- ۲-۳-۵ بستن‌بندی حامل‌های کلون سازی *in vitro* ۱۲۳
- ۳-۳-۵ آلوده‌سازی فاز با تشکیل پلاک روی محیط کشت آگاردار مشخص می‌گردد ۱۲۳
- ۴-۵ شل‌سازی فازهای لیزوتیک ۱۲۶
- ۱-۴-۵ غیرفعال‌سازی الحاقی ژن lacZ' موجود در حامل فازی ۱۲۶
- ۲-۴-۵ غیر فعال‌سازی الحاقی ژن cI فاز λ ۱۲۷
- ۳-۲-۵ انتخاب با استفاده از فنوتیپ Spi ۱۲۷
- ۴-۲-۵ انتخاب بر اساس اندازه ژنوم λ ۱۲۷
- ۵-۵ وارد کردن DNA به سلول‌های غیر باکتریایی ۱۲۸
- ۱-۵-۵ ترانسفورم کردن سلول‌های خاص ۱۲۹
- ۲-۵-۵ ترانسفورم کردن موجودات کامل ۱۳۱

فصل ششم: حامل‌های کلون‌سازی *E. coli*

- ۱-۶ حامل‌های کلون‌سازی براساس پلاسمیدهای *E. coli* ۱۳۴
- ۱-۱-۶ نام‌گذاری حامل‌های پلاسمیدی کلون‌سازی ۱۳۲
- ۲-۱-۶ خصوصیات مفید pBR322 ۱۳۵
- ۳-۱-۶ شجره‌نامه pBR322 ۱۳۶
- ۴-۱-۶ حامل‌های پلاسمیدی پیچیده‌تر برای کلون‌سازی در *E. coli* ۱۳۶
- pUC8 پلاسمیدی با شاخص انتخاب Lac ۱۳۸
- pGEM3Z- رونوشت‌برداری DNA کلون‌شده در *in vitro* ۱۴۰
- ۲-۶ حامل‌های کلون‌سازی براساس باکتریوفاز M13 ۱۴۱
- ۱-۲-۶ چگونگی ساخت حامل کلون‌سازی فازی ۱۴۲
- ۲-۲-۶ حامل‌های دورگه پلاسمید-M13 ۱۴۲
- ۳-۶ حامل‌های کلون‌سازی بر اساس باکتریوفاز λ ۱۴۵
- ۱-۳-۶ بخش‌هایی از ژنوم فاز λ را بدون تأثیر بر حیات آن می‌توان حذف کرد ۱۴۶
- ۲-۳-۶ برای جداسازی λ تغییر یافته فاقد محل‌های شناسایی ویژه، از انتخاب طبیعی می‌توان استفاده کرد ۱۴۷
- ۳-۳-۶ حامل‌های الحاقی و جایگزینی ۱۴۸
- حامل‌های الحاقی ۱۴۸
- حامل‌های جایگزینی ۱۴۹

۱۵۰	۳-۲ چگونگی کلون سازی با استفاده از حامل های الحاقی یا جایگزینی λ
۱۵۱	۳-۵ قطعات بسیار بزرگ DNA را می توان با استفاده از کاسمید کلون کرد
۱۵۲	۴-۴ فاز λ و دیگر حامل های با ظرفیت بالا، سافت کتابخانه های ژنی را ممکن می سازد
۱۵۵	۵-۵ حامل هایی برای دیگر باکتری ها

فصل هفتم: حامل های کلون سازی برای یوکاریوت ها

۱۵۷	۱-۷ حامل هایی برای مخمر و دیگر قارچ ها
۱۵۸	۱-۱-۷ شاخص های انتخاب برای پلاسמיד 2 μm
۱۵۹	۲-۱-۷ حامل های بر اساس پلاسמיד 2 μm- پلاسמיד های اپی زومی مخمر
۱۶۱	۳-۱-۷ YEP ممکن است وارد DNA کروموزومی مخمر شود
۱۶۱	۴-۱-۷ انواع دیگر حامل های کلون سازی مخمر
۱۶۲	۵-۱-۷ کروموزوم های مصنوعی می توانند برای کلون سازی قطعات بزرگ DNA در مخمر استفاده شوند
۱۶۵	ساختار و روش استفاده از یک حامل YAC
۱۶۶	موارد کاربرد حامل های YAC
۱۶۷	۶-۱-۷ حامل هایی برای مخمرها و قارچ های دیگر
۱۶۷	۲-۷ حامل های کلون سازی برای گیاهان عالی
۱۶۸	۱-۲-۷ آگروباکتریوم توموفاشینس- کوچک ترین مهندس ژنتیک طبیعت
۱۶۹	استفاده از پلاسמיד Ti برای وارد کردن ژن های جدید به سلول گیاهی
۱۷۱	تولید گیاهان ترانسفورم شده با پلاسמיד Ti
۱۷۳	پلاسמיד Ri
۱۷۴	محدودیت های کلون سازی با پلاسמיד های آگروباکتریوم
۱۷۵	۲-۲-۷ کلون سازی ژن ها در گیاهان با انتقال مستقیم ژن
۱۷۵	انتقال مستقیم ژن به درون هسته
۱۷۶	انتقال ژن ها به ژنوم کلروپلاست
۱۷۷	۳-۲-۷ تلاش هایی برای استفاده از ویروس های گیاهی به عنوان حامل های کلون سازی
۱۷۸	حامل های کالیموویروسی
۱۷۸	حامل های جمینی ویروسی
۱۷۹	۳-۷ حامل های کلون سازی در پلانودان
۱۸۰	۱-۳-۷ حامل های کلون سازی در حشرات
۱۸۰	عناصر P به عنوان حامل های کلون سازی برای دروزوفیلا
۱۸۲	حامل های کلون سازی بر اساس ویروس های حشرات
۱۸۲	۲-۳-۷ کلون سازی در پستانداران
۱۸۳	ویروس ها به عنوان حامل های کلون سازی برای پستانداران
۱۸۴	کلون سازی ژن بدون حامل

فصل هشتم: چگونه از یک ژن خاص کلون به دست بیاوریم

۱۸۷	۱-۸ مشکل انتخاب
۱۸۸	۱-۱-۸ دو روش اساسی برای به دست آوردن کلون نو ترکیب دلخواه وجود دارد

۱۸۹	۲-۸ انتخاب مستقیم
۱۹۱	۱-۲-۸ شاخص‌های رهایی‌بخش ۱، محدوده استفاده از روش انتخاب مستقیم را گسترش می‌دهند
۱۹۲	۲-۲-۸ محدوده و محدودیت‌های شاخص رهایی‌بخش
۱۹۳	۳-۸ شناسایی یک کلون از کتابخانه ژنی
۱۹۳	۱-۳-۸ کتابخانه‌های ژنی
۱۹۴	۲-۳-۸ تمام ژن‌ها در یک زمان بیان نمی‌شوند
۱۹۵	۳-۳-۸ mRNA را می‌توان به صورت DNA مکمل کلون کرد
۱۹۵	۴-۸ روش‌هایی برای شناسایی کلون‌ها
۱۹۶	۱-۴-۸ رشته‌های اسید نوکلئیک مکمل با یکدیگر هیبرید می‌شوند
۱۹۶	۲-۴-۸ هیبرید شدن جستجوگر در کلونی و پلاک
۱۹۷	نشاندن کردن با نشانگرهای رادیواکتیو
۲۰۰	روش‌های نشاندار کردن غیررادیواکتیو
۲۰۱	۳-۴-۸ مثال‌هایی از استفاده عملی روش هیبرید کردن جستجوگر
۲۰۱	جستجو بر اساس فرآیند برای بررسی یک کتابخانه cDNA
۲۰۲	جستجوگرهای الیگونوکلئوتیدی برای ژن‌هایی که محصول ترجمه آن‌ها مشخص شده است
۲۰۶	جستجوی هورنلوک اجازه شناسایی ژن‌های وابسته را می‌دهد
۲۰۸	هیبریداسیون ساثرل امکان شناسایی قلمه محدودگر محتوی ژن خاص را فراهم می‌آورد
۲۱۰	۴-۴-۸ روش‌های شناسایی بر اساس تشخیص محصول ترجمه ژن کلون شده
۲۱۱	برای روش‌های تشخیصی الیگونوکلئیدی آنتی‌بادی‌ها مورد نیازند
۲۱۱	استفاده از آنتی‌بادی خالص شده برای شناسایی پروتئین در کلونی‌های نوترکیب
۲۱۳	مشکل بیان ژن

فصل نهم: واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز

۲۱۴	۱-۹ نگاهی کلی بر واکنش (پلی‌مراز)
۲۱۹	۶-۹ PCR با جزئیات بیشتر
۲۱۹	۱-۲-۹ طراحی پرایمر برای PCR
۲۲۱	۲-۲-۹ تعیین دمای صحیح برای استفاده در PCR
۲۲۳	۳-۹ پس از PCR، مطالعه محصولات PCR
۲۲۴	۱-۳-۹ ژل الکتروفورز محصولات PCR
۲۲۵	۲-۳-۹ کلون‌سازی محصولات PCR
۲۲۷	۳-۳-۹ مشکلات ناشی از میزان اشتباهات آنزیم Taq پلی‌مراز
۲۲۹	۴-۹ Real-time PCR می‌توان مقدار مواد آغازگر واکنش را برآورد کرد
۲۲۹	۱-۴-۹ انجام آزمایش PCR کمی
۲۳۲	۲-۴-۹ Real-time PCR می‌توان مقدار RNA را هم برآورد کرد

II : کاربردهای کلون‌سازی ژن و آنالیز DNA در تحقیقات

فصل دهم: توالی‌یابی ژن‌ها و ژنوم‌ها

۲۳۸	۱-۱۰ شناسایی روش‌های توالی‌یابی DNA
۲۳۸	۱-۱-۱۰ توالی‌یابی DNA به روش خاتمه زنجیره
۲۳۲	توالی‌یابی به روش خاتمه زنجیره نیاز به یک DNA الگوی تک‌رشته‌ای دارد
۲۳۳	پرایمر می‌تواند ناحیه‌ای از DNA الگو را که قرار است مورد توالی‌یابی قرار گیرد مشخص کند

۲۴۵	۲-۱-۱۰ پاپروسکاتسینگ
۲۴۵	پاپروسکاتسینگ با تشخیص پالس‌های شیمیولومینسانس کار می‌کند
۲۴۶	پاپروسکاتسینگ همزمان و گسترده
۲۴۷	۲-۱۰ هکونگی توالی‌یابی ژنوم
۲۴۹	۱-۲-۱۰ روش ضربیتی برای توالی‌یابی ژنوم
۲۵۰	پروژه توالی‌یابی ژنوم هموفیلوس آنفلوانزا
۲۵۲	مشکلات موجود در کلون کردن ضربیتی
۲۵۳	۲-۲-۱۰ روش کلون کانتینگ
۲۵۳	چیدمان کلون کانتینگ با گام‌زنی کروموزوم
۲۵۴	روش‌های سریع برای چیدمان کلون کانتینگ
۲۵۵	چیدمان کلون کانتینگ از طریق آنالیز وجود توالی برجسته‌شده
۲۵۷	۳-۲-۱۰ استفاده از نقشه برای کمک به چیدمان توالی
۲۵۷	نقشه‌های ژنتیکی
	نقشه‌های فیزیکی
۲۶۰	اهمیت نقشه در چیدمان توالی

فصل یازدهم: مطالعه بیان و عملکرد ژن

۲۶۵	۱-۱۱ مطالعه رونوشت RNA یک ژن
۲۶۵	۱-۱-۱۱ تعیین حضور رونوشت و مشخص کردن توالی نوکلئوتیدی آن
۲۶۶	۲-۱-۱۱ نقشه‌برداری رونوشت با هیبریداسیون بین ژن و RNA
۲۶۸	۳-۱-۱۱ آنالیز رونوشت با گسترش دادن پرایمر
۲۷۰	۳-۱-۱۱ آنالیز رونوشت با PCR
۲۷۱	۲-۱۱ مطالعه تنظیم بیان ژن
۲۷۳	۱-۲-۱۱ تعیین محل‌های اتصال پروتئین روی مولکول DNA
۲۷۳	تاخیر حرکتی کمپلکس‌های DNA - پروتئین در ژل
۲۷۳	روش ردپا با آنزیم DNaseI
۲۷۵	سنجش تداخل ناشی از تغییر
۲۷۸	۲-۲-۱۱ تعیین توالی‌های کنترلی به وسیله آنالیز حذفی
۲۷۹	ژن‌های گزارشگر
۲۸۰	روش انجام آنالیز حذفی
۲۸۱	۳-۱۱ تشخیص و مطالعه محصول ترجمه یک ژن کلون‌شده
۲۸۲	۱-۳-۱۱ HRT و HART می‌توانند محصول ترجمه یک ژن کلون‌شده را تشخیص دهند
۲۸۴	۲-۳-۱۱ ارزیابی پروتئین‌ها به وسیله جهش‌زایی <i>in vitro</i>
	روش‌های مختلف جهش‌زایی <i>in vitro</i>
۲۸۶	استفاده از الیگونوکلوئید برای ایجاد جهش نقطه‌ای در ژن کلون‌شده
۲۸۹	روش‌های دیگر ایجاد جهش نقطه‌ای در ژن کلون‌شده
۲۹۰	قابلیت جهش‌زایی <i>in vitro</i>

فصل دوازدهم: مطالعه ژنوم

۲۹۴	۱-۱۲ تفسیر ژنوم
۲۹۴	۱-۱-۱۲ شناسایی ژن‌ها در توالی ژنوم

۲۹۴	جستجوی چارچوب‌های خواندن باز
۲۹۸	تشخیص محل ژن با کمک جستجوی همولوژی
۲۹۹	مقایسه توالی ژنوم‌های مرتبط
۳۰۰	۱-۲ تعیین عملکرد یک ژن ناشناخته
۳۰۱	تیمین عملکرد ژن با روش آنالیز تجزیه، نیازمند رویکرد معکوس به ژنتیک است
۳۰۳	۱-۲ مطالعات ترانسکریپتوم و پروتئوم
۳۰۴	۱-۲ مطالعه ترانسکریپتوم
۳۰۳	مطالعه ترانسکریپتوم با آنالیز توالی
۳۰۵	مطالعه ترانسکریپتوم به وسیله آنالیز تراشه یا ریزآرایه
۳۰۷	۲-۲ مطالعه پروتئوم
۳۰۸	جداسازی پروتئین‌ها در یک پروتئوم
۳۰۹	شناسایی پروتئین‌های منفرد بعد از جداسازی
۳۱۰	۳-۲ مطالعه میان‌رشته‌های پروتئین - پروتئین
۳۱۱	نمایش فازی
۳۱۲	سیستم هیبرید نوکانه در مخمر

III : کاربردهای کلون‌سازی ژن و آنالیز DNA در بیوتکنولوژی

فصل سیزدهم: تولید پروتئین از ژن‌های کلون‌شده

۳۱۹	۱-۱۳ حامل‌های مخصوص بیان ژن‌های غاربی در <i>E. coli</i>
۳۲۲	۱-۱۳ پروموتور جزء حیاتی یک حامل بیانی است
۳۲۲	انتخاب پروموتور باید با دقت صورت گیرد
۳۲۳	مثال‌هایی از پروموتورهای استفاده‌شده در حامل‌های بیانی
۳۲۶	۲-۱۳ کاست‌ها و فیوزن‌های ژنی
۳۲۸	۲-۱۳ مشکلات معمول تولید پروتئین لوترکپ در <i>E. coli</i>
۳۲۸	۱-۲ مشکلات ناشی از توالی ژن بیگانه
۳۳۰	۲-۲ مشکلات ناشی از <i>E. coli</i>
۳۳۳	۳-۱۳ تولید پروتئین لوترکپ با سلول‌های یوکاریوتی
۳۳۳	۱-۳ پروتئین نوترکیب از مخمر و قارچ‌های رشته‌ای
۳۳۳	ساکارومیسس سرویزیه میزبانی برای تولید پروتئین‌های نوترکیب
۳۳۳	دیگر مخمرها و قارچ‌ها
۳۳۶	۲-۱۳ استفاده از سلول‌های جانوری برای تولید پروتئین‌های نوترکیب
۳۳۶	تولید پروتئین در سلول‌های پستانداران
۳۳۷	تولید پروتئین در سلول‌های حشرات
۳۳۸	۳-۳ فارمینگ - پروتئین نوترکیب حاصل از حیوانات و گیاهان زنده
۳۳۸	فارمینگ در جانوران
۳۴۰	پروتئین‌های نوترکیب حاصل از گیاهان
۳۴۱	جنبه‌های اخلاقی فارمینگ

فصل چهاردهم: کلون سازی ژن ها و آنالیز DNA در پزشکی

۳۴۳	۱-۱۴ کلنید داروهای نو ترکیب
۳۴۴	۱-۱-۱۲ انسولین نو ترکیب
۳۴۵	ساخت و بیان ژن های مصنوعی انسولین
۳۴۷	۲-۱-۱۲ سنتز هورمون های رشد انسان در <i>E. coli</i>
۳۴۸	۳-۱-۱۲ فاکتور VIII نو ترکیب
۳۵۱	۴-۱-۱۲ ساخت دیگر پروتئین های انسانی نو ترکیب
۳۵۱	۵-۱-۱۲ واکسن های نو ترکیب
۳۵۲	واکسن های تولیدی به صورت پروتئین های نو ترکیب
۳۵۳	واکسن های نو ترکیب در گیاهان ترانس ژن
۳۵۵	واکسن های ویروسی زنده نو ترکیب
۳۵۶	۲-۱۴ شناسایی ژن های مشکل بیماری های انسان
۳۵۸	۱-۲-۱۲ چگونه ژن یک بیماری ژنتیکی را شناسایی می کنند؟
۳۵۸	شناسایی جایگاه تقریبی ژن در ژنوم انسان
۳۶۱	شناسایی کاندیدهای برای ژن بیماری
۳۶۲	۳-۱۴ ژن درمانی
۳۶۲	۱-۳-۱۲ ژن درمانی بیماری های ارثی
۳۶۳	۲-۳-۱۴ ژن درمانی و سرطان
۳۶۵	۳-۳-۱۴ ملاحظات اخلاقی ژن درمانی

فصل پانزدهم: کلون سازی ژن ها و آنالیز DNA در کشاورزی

۳۶۸	۱-۱۵ افزودن ژن ها برای مهندسی ژنتیک گیاهان
۳۶۸	۱-۱-۱۵ گیاهانی که حشره کش مورد نیاز خود را می سازند
۳۶۹	دلتا - اندوتوکسین های باسیلوس تورینجینسیس
۳۷۰	کلون سازی ژن دلتا - اندوتوکسین در ذرت
۳۷۳	کلون سازی ژن های دلتا - اندوتوکسین در کلروپلاست
۳۷۳	مبارزه با مقاومت حشرات به گیاهان زراعی تولیدکننده دلتا - اندوتوکسین
۳۷۶	۲-۱-۱۵ گیاهان مقاوم در برابر علف کش ها
۳۷۶	گیاهان زراعی "Roundup ready"
۳۷۸	نسل جدید گیاهان زراعی مقاوم در برابر گلی فوسفات
۳۷۹	۳-۱-۱۵ دیگر پروژه های افزودن ژن
۳۸۰	۲-۱۵ هدف ژن ها
۳۸۱	۱-۲-۱۵ RNA آنتی سنس و مهندسی برای رسیدن میوه بوجه فرنگی
۳۸۱	استفاده از RNA آنتی سنس برای غیرفعال کردن ژن پلی کالکتورنار
۳۸۲	استفاده از RNA آنتی سنس برای مهار ساخته شدن اتیلن
۳۸۴	۲-۲-۱۵ مثال های دیگری از کاربرد RNA آنتی سنس در مهندسی ژنتیک گیاهان
۳۸۵	۳-۱۵ مشکلات گیاهان مهندسی شده
۳۸۵	۱-۳-۱۵ نکات ایمنی در رابطه با شاخص انتخاب
۳۸۶	۲-۳-۱۵ تکنولوژی خاتمه گر
۳۸۷	۳-۳-۱۵ امکان بروز اثرات مضر در محیط زیست

فصل شانزدهم: کلون سازی زن ها و آنالیز DNA در علوم جنایی و باستان شناسی

- ۱-۱۶ آنالیز DNA برای شناسایی متهمین ۳۹۲
- ۱-۱-۱۶ انگشت نگاری ژنتیکی از طریق هیبرید کردن با DNA جستجوگر ۳۹۳
- ۲-۱-۱۶ پروفایلینگ DNA با PCR توالی های تکراری کوتاه ۳۹۳
- ۳-۱۶ مطالعه روابط فامیلی با پروفایلینگ DNA ۳۹۶
- ۱-۲-۱۶ افراد خویشاوند پروفایل DNA مشابهی دارند ۳۹۶
- ۲-۲-۱۶ پروفایلینگ DNA و بقایای رومانوف ها ۳۹۶
- آنالیز STR روی استخوان های رومانف ها ۳۹۶
- DNA میتوکندریایی جهت بررسی ارتباط استخوان های رومانوف ها با خویشاوندان زنده آنها استفاده شد ۳۹۸
- کودکی گم شده ۳۹۹
- ۳-۱۶ تعیین جنسیت با آنالیز DNA ۴۰۰
- ۱-۳-۱۶ انجام PCR روی توالی های ویژه کروموزوم Y ۴۰۱
- ۲-۳-۱۶ PCR زن املوژنین ۴۰۲
- ۴-۱۶ آرکله ژنتیک - استفاده از DNA برای مطالعه پیشینه تباری انسان ۴۰۳
- ۱-۳-۱۶ منشأ انسان امروزی ۴۰۳
- آنالیز DNA تئوری تکامل چند ناحیه ای ۴۰۴
- آنالیز DNA نشان می دهد که تنگنای ها جد اروپایی های امروزی نیستند ۴۰۵
- ۲-۳-۱۶ برای مطالعه مهاجرت های انسان ما قبل تاریخ نیز می توان از DNA استفاده کرد ۴۰۷
- گسترش کشاورزی در اروپا ۴۰۷
- استفاده از DNA میتوکندریایی برای مطالعه مهاجرت های گذشته در اروپا ۴۰۸