

بسم الله الرحمن الرحيم



مرکز تحقیقات ژنتیک پزشکی



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی
شهید صدوقی یزد

راهنمای و سترن بلات

نویسندگان:

Ayaz Najafov

Gerta Hoxhaj

مترجمان:

دکتر محمد یحیی وحیدی مهرجردی

دکترای ژنتیک مولکولی، مرکز تحقیقات ژنتیک

سید محسن آقایی (دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک پزشکی)

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد

سرشناسه : نجف اف، ایاز: Najafov, Ayaz و وحیدی مهرجردی، محمد یحیی ۱۳۶۵ مترجم
عنوان و نام پدیدآور: راهنمای وسترن بلات / نویسندگان Ayaz Najafov, Gerta Hoxhaj, Ayaz Najafov, Gerta مترجمان
محمد یحیی وحیدی مهرجردی، سید محسن آقایی.
مشخصات نشر: یزد: طب گستر: دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، ۱۳۹۷
مشخصات ظاهری: ۹۲ ص، مصور، جدول.
شابک: ۹۷۸-۹۶۴-۸۴۴۴-۸۷-۲

وضعیت فهرست نویسی: فیپا

یادداشت: عنوان اصلی: Western blotting guru, 2017

یادداشت: کتاب حاضر نخستین بار تحت عنوان «راهنمای جامع وسترن بلات» با ترجمه ی زهره قمبری، فاطمه غضبان زاده توسط انتشارات میعاد اندیشه فیپا دریافت کرده است.

موضوع: وسترن. ایمنوبلاتینگ--دستنامه های آزمایشگاهی

موضوع: Western immunoblotting—Laboratory manuals

موضوع: ریست شناسی مولکولی Molecular biology

شناسه افزوده: هوجای، گرتا Hoxhaj, Gereta

شناسه افزوده: وحیدی مهرجردی، محمد یحیی، ۱۳۶۵- مترجم

شناسه افزوده: آقایی، سید محسن ۱۳۷۲ مترجم Aghaee, Seyed Mohsen

شناسه افزوده: دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد

رده بندی کنگره: ۱۲۹۷ ق ۵۱۹/۹۰۵ QP

رده بندی دیویی: ۷۷۲/۸۲

شماره کتابشناسی ملی: ۵۵۰۱۱۷۹



انتشارات کتبر

نام کتاب: راهنمای وسترن بلات

مولفان: Ayaz Najafov, Gerta Hoxhaj

مترجمان: دکتر محمد یحیی وحیدی مهرجردی، سید محسن آقایی

ناشر: انتشارات طب گستر با همکاری دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد

چاپ اول: ۱۳۹۹

تیراژ: ۱۰۰۰ نسخه

لیتوگرافی: یاس

چاپ: یاس

قیمت: ۲۰۰۰۰۰ ریال

شماره مجوز: ۹۷-۵۴۹

شابک: ۹۷۸-۹۶۴-۸۴۴۴-۸۷-۲

ISBN: 978-964-8444-87-2

کلیه حقوق این اثر برای مؤلفین و دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد محفوظ است.

فهرست مطالب

الف.....	مقدمه.....
ب.....	نکاتی برای خوانندگان.....
۱.....	فصل اول : معرفی.....
۱.....	۱,۱ وسترن بلات چیست؟.....
۲.....	۱,۲ تاریخچه ای کوتاه.....
۵.....	فصل دوم : روش.....
۶.....	2.1 آماده سازی نمونه.....
۶.....	2.2 ژل الکتروفورز.....
۱۰.....	2.3 انتقال پروتئین.....
۱۳.....	2.4 مسدود نمودن غشاء.....
۱۴.....	2.5 آنتی بادی اولیه.....
۱۷.....	2.6 آنتی بادی ثانویه.....
۱۸.....	2.7 شستشوی بلات.....
۱۸.....	2.8 توسعه وسترن بلات.....
۲۱.....	فصل سوم : نکات.....
۲۹.....	فصل چهارم : بهینه سازی و عیب یابی.....
۲۹.....	4.1 قوانین بهینه سازی.....
۳۰.....	4.2 راهکارهای بهینه سازی عمومی General Optimization Strategies.....
۳۳.....	4.3 عیب یابی مشکلات خاص.....
۴۱.....	فصل پنجم : ترفندها و روشها.....
۵۱.....	فصل ششم : موارد خاص.....
۵۱.....	6.1 وسترن بلاتینگ کمی.....

6.2	سنجشهای overlay.....	۵۲
6.3	آنتی بادی های اختصاصی فسفری.....	۵۲
6.4	تگهای فسفری.....	۵۳
6.5	PAGE غیر احیاکننده.....	۵۴
6.6	دات بلات.....	۵۵
	فصل هفتم: آنالیز ، ذخیره و بازیابی اطلاعات.....	۵۷
	پیوست A : بافرها و محلولها.....	۶۳
	پیوست B : جدول ژل SDS-PAGE.....	۶۷
	پیوست C : پروتکل SDS-PAGE.....	۶۹
	پیوست D : انتقال رطوبت ، پروتکل ایمونوبلاتینگ.....	۷۱
	پیوست E : کمی آمونو اسیدها ، تقا یافته (ECL) home made.....	
	تشخیص.....	۷۳
	پیوست F : پروتکل استرپتینک.....	۷۵
	پیوست G : پروتکل رنگ آمیزی کرامسکی.....	۷۷
	پیوست H : لیز سلول با استفاده از شرایط هوم.....	۷۹
	پیوست I : پروتکل لیز سریع دنا تورا سیون.....	۸۱
	پیوست J : تگهای پروتئینی.....	۸۳
	پیوست K : اتصال کووالان آنتی بادیها به دانه ها.....	۸۷
	منابع.....	۸۹

نکاتی برای خوانندگان

لفظ "وسترن بلاتینگ"^۱ و "ایمنوبلاتینگ"^۲ در متن بجای همدیگر بکار میروند. لفظ "پروتئین هدف"^۳ برای پروتئین های استفاده می شود که در وسترن بلاتینگ آنها را آنالیز می کنیم استفاده. دمای اتاق را بطور خلاصه بصورت "RT" و وزن مولکولی را به صورت "MW" می نویسیم.

تمام انکوباسیون هایی که در مورد غشاءهای وسترن بلاتینگ استفاده می کنیم باید ترجیحا بر روی شیکر/راکر^۴ رفت و برگشتی صورت بگیرد. بدلیل آنکه شیکر/راکرهای شعاعی^۵ غشاء را بطور نامناسب می شورند، بنابراین به عنوان بهترین گزینه شناخته نمی شوند.

در متن به آنتی بادی های اختصاصی فوسفور توجه ویژه ای شده است. با این حال عمده مفاهیم که در اینجا به آن پرداخته شده است نیز می توانیم به آنتی بادی هایی که برای سایر تغییرات پساترجمه ای پروتئین از قبیل فسفوریلاسیون و استیلاسیون تعمیم دهیم.

همواره تجهیزات حفاظتی شخصی مناسبی بپوشید

نکته: آکریل آمید یک ترکیب سمی است که برای سلامتی خطرناک است.



نکته: چون Ponceau S یک ترکیب حساسیت زاست، برای پدیده های در برابر آن از محافظ شخصی لازم استفاده کنید.



نکته: استیک اسید قابل اشتعال و قابلیت خوردگی دارد.



1. western blotting

2. immuno blotting

3. target protein

4. shaker/rocker

5. radial