

R DNA A

اصول و روش های کاربردی استخراج اسیدهای نوکلئیک (DNA و RNA)

دکتر فاطمه واحدی
دکترای تخصصی ایمونولوژی

فاطمه کیفی
کارشناس ارشد بیوتکنولوژی

سرشناسه: واحدی، فاطمه، ۱۳۴۹ -

عنوان و نام پدیدآور: اصول و روشهای کاربردی استخراج اسیدهای
نوکلئیک (DNA و RNA)

پدیدآورندگان: فاطمه واحدی، فاطمه کیفی

مشخصات نشر: مشهد: وارستگان، ۱۳۹۰

مشخصات ظاهری: ۱۰۳ ص.: مصور (رنگی)؛ ۱۱×۱۷ س.م.

فروست: راهنمای والدین؛ الفبای علوم؛ ۱۳

شابک: ۹۷۸-۶۰۰-۶۲۵۲-۰-۱

وضعیت فهرست نویسی بر اساس اطلاعات فیبا

موضوع: اسیدهای نوکلئیک -- تجزیه و تحلیل

موضوع: دی.ان.ا.

موضوع: آر.ان.ا.

موضوع: ژنتیک -- مهندسی

شناسه افزوده: کیفی، فاطمه، ۱۳۶۰ -

رده بندی کنگره: QP ۶۲۰/۲الف ۶ ۱۳۹۰

رده بندی دیویی: ۵۷۲/۸۴

شماره کتابشناسی ملی: ۲۱۳۲۷۲۲

اصول و روشهای کاربردی استخراج
اسیدهای نوکلئیک (DNA و RNA)
دکتر فاطمه واحدی / فاطمه کیفی

انتشارات وارستان (وابسته به مرکز آموزش عالی علوم پزشکی وارستان)

الهه نوری / نسرين شقانی

الهه نوری

جیبی

تابستان ۱۳۹۰

۵۰۰ نسخه

۹۷۸-۶۰۰-۶۲۵۲-۰۰-۱

www.varapress.com

چاپ دقت

۲۰۰۰۰ ریال

نام کتاب

پدیده آوری و نوآوری

نشر

طراح و صفحه آر

ناظر فنی چاپ

نقش

تاریخ چاپ

شماره

شابک

سایت

نشر و چاپ وارستان

بنا

حق چاپ برای انتشارات وارستان محفوظ می باشد.

ناشر از همکاری آزمایشگاه تشخیص طبی پردیس مشهد در چاپ این کتاب به
منظور کمک به توسعه فرهنگ کتابخوانی در کشور قدردانی می کند.

مرکز پخش: مشهد، خیابان احمدآباد، بابک ۱، مرکز آموزش عالی علوم پزشکی وارستان
تلفن: ۰۵۱۱ ۸۴۶۲۱۴۱-۶ (واحد انتشارات)

مقدمه ناشر

ای که با نامت جهان آغاز شد دفتر ما هم به نامت باز شد

کیست که نداند، کتاب یک دوست همیشگی است و کیست که بتواند بیش از عدد انگشتان یک دست بشمارد دوستان این چینی را، دوستانی که پس از گذشت سال‌ها، اگر ببینیمشان نه لب به گالیه می‌گشایند و نه روی برمی‌گردانند، بلکه آغوش گرمشان را به نشانه استقبال می‌گشایند.

با وجود چنین دوستانی، چرا ما کمتر سراغ آن‌ها می‌رویم و کمتر با آن‌ها انس می‌گیریم؟ ممکن است این پاسخ به ذهن بیاید که لحظات به سرعت از ما می‌گریزند، و فرصت مطالعه را از ما می‌ستانند.

به نظر می‌رسد اگر قدر ثایه‌های بدون بازگشت را می‌دانستیم و از لحظه‌های با شکوه موفقیت چیزی شنیده بودیم، وقتی را برای با کتاب بودن کنار می‌گذاشتیم، و با خواندن کتاب، انگیزه بیشتری برای پیمودن قله‌های موفقیت یکی پس از دیگری کسب می‌کردیم، اما هنوز دیر نشده است. بدون شک هیچ‌گاه برای یک شروع دوباره و آن هم خواندن کتاب دیر نیست. اگر به جای تلاش دوباره، حسرت ایام از دست رفته را بخوریم مانند این است که تمام شب را برای از دست دادن خورشید گریه کنیم که در این صورت، لذت دیدن ستاره‌ها را از دست خواهیم داد.

اینک برای گریز از این بن بست، انتشارات وارستگان قصد دارد دریچه‌ای نو به سوی خوانندگان خود بگشاید و مجموعه کتاب‌های الفبای علوم را با وزن علمی بالا، حجم پایین و بهای اندک منتشر نماید.

خواندن کتاب‌های الفبای علوم وقت چندانی از خوانندگان نمی‌گیرد و چون به زبان ساده‌ای نگاشته شده است، آن‌ها را در پیچ و خم دشواری‌های متن گرفتار نمی‌کند، با توجه به اندازه جیبی آن، در همه زمان‌ها و مکان‌ها قابل خواندن است و به دلیل راحتی حمل و نقل، همراه همیشگی خوانندگان خواهد بود.

کتاب‌های الفبای علوم در قالبی فشرده، موضوعات و مطالب تخصصی را به شیوه‌ای نوین به مخاطبانش انتقال می‌دهد. از آن‌جا که این مجموعه موضوعات گوناگونی را شامل می‌شود، در کنار هم، دایره‌المعارف علوم را برای استفاده همگان تشکیل می‌دهند.

در انتها، انتشارات وارستگان دست همه نگارندگانی که تمایل به انتقال یک پیام، کلام، تجربه و مهارت را در قالب مجموعه الفبای علوم دارند به گرمی می‌فشارد. امید بر آن می‌رود که به فضل الهی الفبای علوم مقبول خاطر دوستان افتد و باشد که کوچه باغ‌های خاطری را طراوت بخشد.

مقدمه پدید آورنده

مولکول‌های DNA و RNA در تکنیک‌های مهندسی ژنتیک و روش‌های نوتر گویی، به عنوان ماده اولیه محسوب می‌شوند. انجام واکنش‌های PCR، تعیین توالی قطعات DNA و ژن‌ها نیاز به DNA به صورت خالص و عاری از آلودگی دارند. استفاده از DNA آلوده و ناخالص، سبب ایجاد خطا در واکنش‌ها می‌گردد. اهمیت این مسأله وقتی چشم‌گیر است که قرار باشد بر مبنای تکنیک انجام شده، قضاوت‌های حیاتی و حیثیتی انجام شود؛ مانند تعیین ناهنجاری‌های شدید ژنتیکی جنین و تصمیم بر دستور توقف ادامه‌ی حیات یک جنین، تشخیص و تعیین بیماری و تصمیم بر نحوه‌ی درمان، بررسی صحنه‌های جرم با استفاده از نمونه‌ی DNA موجود در محل و تشخیص مجرم و اثبات روابط فرزندان و والدین.

تنوع منابع حاوی DNA سبب ابداع روش‌های متنوعی برای خالص سازی اسیدهای نوکلئیک شده است. فهم خصوصیات بیوشیمیایی اسیدهای نوکلئیک و درک مکانیسم روش‌های مختلف، سبب تصمیم‌گیری منطقی‌تر و راحت‌تر در روش استخراج DNA می‌شود.

از آن جا که آشنایی با روش های مختلف استخراج DNA گام اول برای شروع فعالیت در آزمایشگاه های بیولوژی مولکولی می باشد، این کتاب به طور مختصر به ارائه ی این روش ها و بیان مشکلات می پردازد. با توجه به این که دانستن علت استفاده از مواد شیمیایی و درک واکنش آن ها، منجر به خلایق و ارائه ی روش های دیگر و تصمیم گیری منطقی تر در روش استخراج می شود، در این کتاب بر مکانیسم عمل مواد و روش های ارائه شده تاکید شده است.

امید است این نوشتار مختصر بتواند پاسخ گوی سؤالات ذهن مشتاقان، کارشناسان آزمایشگاه های بیولوژی مولکولی و تشخیص طبی و نیز دانشجویان علاقه مند به رشته های زیست شناسی باشد، دریافت نظرات خوانندگان موجب سپاس گزاری پدیدآورندگان این تلاش مختصر می باشد.

فرصت را مغتنم شمرده از همکاری های صمیمانه تک تک دوستان گرامی، جناب آقای دکتر ابوالحسنی مدیر انتشارات وارستگان، خانم الهه نوری ناظر فنی و کارشناس مسئول انتشارات و خانم نسreen شفائی صفحه آرای کتاب تشکر و قدر دانی می نمائیم.

من هستم و این هستی موحی است ز دریایی

کان را نبود قعری و کان را نبود ساحل!

پدیدآورندگان

تایستان ۹۰

فهرست

فصل	عنوان	صفحه
	DNA	
	استخراج DNA	۱۶
	منابع استخراج DNA	۱۷
	میزان بازیابی DNA	۲۲
	میزان مورد نیاز DNA	۲۲
	اهداف اصلی استخراج DNA	۲۲
	مراحل کلی استخراج DNA	۲۳
	حذف RNA از DNA خالص	۴۳
اول ...	جداسازی انواع DNA	۴۳
	جداسازی DNA اندامک‌ها	۴۸
	تغلیظ DNA	۴۸
	حذف پروتئین‌ها از محلول‌های نوکلئیک اسید	۵۰
	حذف آب از DNA خالص‌شده	۵۰
	دیالیز	۵۰
	نگهداری و ذخیره‌سازی DNA	۵۱

صفحه

عنوان

فصل

DNA ...

- ۵۳ اهمیت بافر TE (Tris-EDTA)
- ۵۳ استخراج DNA در خانه
- ۵۵ تعیین غلظت DNA
- ۵۶ استخراج DNA از خون تام به روش غیر آنزیمی
- ۶۱ استخراج DNA از خون با روش جوشاندن
- ۶۳ استخراج DNA از خون با استفاده از سیلیکا ژل
- ۶۴ استخراج DNA از ژل آگارز
- ۶۵ روش الکتروالیز
- ۶۶ استخراج DNA از ژل آگارز با استفاده از سیلیکا ژل
- ۶۸ جداسازی مقادیر بسیار کم DNA از مقاطع بافتی به روش سیلیکا ژل
- ۷۱ روش الکتروفورز بر روی غشاهای سلولری DEAE
- ۷۳ روش استفاده از ژل آگارز با نقطه ذوب پایین
- ۷۳ استخراج DNA از ژل اکریل آمید
- ۷۴ روش استفاده از استخراج DNA از اسپرم و ریشه مو
- ۷۴ استخراج پلاسمید
- ۸۴ خالص سازی DNA از ذرات فاز

... اول

صفحه	عنوان	فصل
DNA ...		
۸۵	بازیابی DNA از واکنش های PCR	... اول
۸۶	عیب یابی در روش های استخراج از ژل	
RNA		
۹۰	استخراج RNA	دوم
۹۵	روش های حذف و غیر فعال کردن ریبونوکلازها	
۹۶	تهیه ی آب فاقد RNase	
۹۷	استفاده از ممانعت کننده های ریبونوکلازها	
۹۸	عیب یابی در استخراج RNA	
۹۹	بررسی RNA استخراج شده	
۱۰۰	نکات ایمنی	
۱۰۱	منابع و مآخذ	