

۱۳۸۹۱۲۸
۹۹,۵,۲.

کاربرد عملی مبانی

PCR



آیپژ

فرهاد گوهرزاد

الهام محمدی

این اثر، مشمول قانون حمایت مؤلفان و مصنفان و هنرمندان مصوب ۱۳۴۸ است، هرکس تمام یا قسمتی از این اثر را بدون اجازه ناشر، نشر یا پخش کند، مورد پیگرد قانونی قرار خواهد گرفت.



کتابخانه علمی میانی PCR

سرشناسه	محمّدی، الهام، ۱۳۵۴ -
عنوان و نام پدیدآور	کاربرد عملی میانی PCR / مولفان الهام محمدی، فرهاد گوهرزاد.
مشخصات نشر	تهران: آبیژ، ۱۳۹۴.
مشخصات ظاهری	دوازده، ۲۰۴ ص: مصور، جدول، نمودار.
شابک	978-964-970-550-7 :
وضعیت فهرست نویسی	فیبا :
داشت	کتابنامه.
موضوع	واکنش زنجیره‌ای پلیمرز
مناسه افزوده	گوهرزاد، فرهاد، ۱۳۵۰ -
رده‌بندی ده	۱۳۹۴ م ۲۶ و ۸ / RB۴۳
رده‌بندی دیویی	۶۱۶ / ۰۷۵۶ :
شماره کتابشناسی	۴۰۸۳۵۶۴ :
تألیف	الهام محمدی، فرهاد گوهرزاد
ناشر	آبیژ
قطع	وزیری
نوبت چاپ	اول
تاریخ چاپ	۱۳۹۶
تیراژ	۱۰۰۰
صفحات	۲۱۶
شابک	۹۷۸-۹۶۴-۹۷۰-۵۵۰-۷
دفتر انتشارات	تهران، خیابان کارگر جنوبی، خیابان لبافی نژاد غربی، پلاک ۲۱۵
تلفن	۶۶۵۶۸۰۹۶ - ۸

مرکز پخش کتابیران: تهران، خیابان لبافی نژاد، بین اردیبهشت و فروردین، پلاک ۲۳۸

تلفن: ۶۶۴۱۳۴۷۴ - ۶۶۴۱۴۵۱۵ - ۶۶۴۱۱۱۷۳ - ۶۶۴۹۴۴۰۹

WWW.Ketabiran.ir

فروش اینترنتی

پیش‌گفتار

از جمله عوامل متعددی که توانسته توسعه‌ی زیست‌شناسی مولکولی و مهندسی ژنتیک را به حد چشمگیری تحت تأثیر قرار دهد؛ معرفی واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR) به عنوان سریع‌ترین روش تکثیر و جداسازی ژنوم موجودات زنده می‌باشد. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز علی‌رغم سادگی اصول آن، نیازمند آگاهی از نکات تعیین‌کننده‌ای است که اجرای آنها برای دستیابی به نتایج قابل اعتماد کاملاً ضروری می‌باشد. کتاب کاربرد عملی مبانی PCR، برگرفته از منابع مختلف علمی این حوزه و همچنین حاصل تجارب علمی و فنی نگارندگان آن است تا بتواند به نحو مطلوب، شرایط درک اصول پایه و کاربردی PCR را برای احاطه کامل با دقت و دانشجویان محترم بر مفاهیم این روش آزمایشگاهی، فراهم آورد. لذا سعی شده است تا علاوه بر تریخ مبانی PCR به زبان ساده، با استفاده از تصاویر، اشکال متعدد و ارائه‌ی مثال‌های کاربردی به اجزای این روش آزمایشگاهی کمک نماید. همچنین در این کتاب کلیه‌ی تمهیدات و اقدامات مورد نیاز برای انجام آزمون PCR به نحوی گنجانده شده است که در صورت نیاز به تأسیس و تکمیل آزمایشگاه‌های تشخیصی، ستاد ای قرنطینه‌ی کشور و کلینیک‌های تحت گرایش‌های علوم پایه‌ی پزشکی، زیست‌شناسی و کشاورزی، راه‌تی بتوان از مطالب آن بهره‌برداری نمود.

بدین‌وسیله بر خود لازم می‌دانیم تا مراتب تشکر و ویژه‌ی خود را از استاد ارجمند جناب آقای دکتر محمد جوان نیکخواه، عضو هیئت علمی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران که زحمات بازخوانی و ویرایش علمی این اثر را به بهترین شکل ممکن برعهده گرفتند و با نظرات ارزنده، ما را در ارائه‌ی کتاب حاضر راهنمایی نمودند؛ ابراز نماییم. همچنین از خانم دکتر ثمین‌السادات حسینی، عضو هیئت علمی دانشگاه ولیعصر رفسنجان، به دلیل در اختیار قرار دادن برخی از مطالب مورد نیاز و همکاری صمیمانه ایشان کمال تشکر را داریم.

بی‌تردید علی‌رغم دقت‌نظر نگارندگان در ویرایش علمی و ادبی مطالب ارائه شده، ممکن است کتاب حاضر دارای کاستی‌هایی باشد. لذا درخواست صمیمانه‌ی نگارندگان بر آن است که استادان گرامی و دانشجویان عزیز با ارائه‌ی رهنمودها و پیشنهادات خود موجب رفع نقایص و بالا بردن سطح علمی مطالب کتاب گردند.

الهام محمدی فرهاد گوه‌ر‌زاد

فهرست مطالب

فصل اول	مقدمه‌ای بر واکنش زنجیره‌ای پلیمراز	۱
۱-۱	واکنش زنجیره‌ای پلیمراز	۲
۲-۱	کاربردهای واکنش زنجیره‌ای پلیمراز	۷
فصل دوم	طرح کلی واکنش زنجیره‌ای پلیمراز	۹
۱-۲	ترکیبات مورد استفاده در آزمون PCR	۹
۲-۲	مراحل PCR	۱۱
۱-۲-۲	واسرشتگی DNA	۱۱
۲-۲-۲	اتصال آغازگرهای الیگونوکلوئیدی	۱۲
۳-۲-۲	مرحله‌ی توسعه یا بسط آغازگر	۱۳
۴-۲-۲	تکثیر نهایی DNA	۱۴
۳-۲	چرخه‌های حرارتی در واکنش PCR	۱۴
۴-۲	محصولات واکنش PCR	۱۶
۵-۲	شرایط کلی واکنش PCR	۱۷
۶-۲	بررسی کارایی واکنش PCR	۱۸
۱-۶-۲	فاز ابتدایی یا تصاعدی	۱۸
۲-۶-۲	فاز میانی یا خطی	۱۹
۳-۶-۲	فاز پایانی یا مرحله‌ی سکون	۱۹
فصل سوم	مواد مورد نیاز در واکنش PCR	۲۱
۱-۳	بافر PCR	۲۱

۲۳	۱-۱-۳	تریس هیدروکلراید
۲۳	۲-۱-۳	پتاسیم کلراید
۲۳	۳-۱-۳	ژلاتین و BSA
۲۴	۲-۳	منیزیم کلراید
۲۴	۳-۳	داکسی نوکلئوزیدتری فسفات ها
۲۹	۴-۳	مخلوط آغازگرها
۲۹	۱-۴-۳	تعریف آغازگر
۳۰	۲-۴-۳	طراحی آغازگر
۳۳	۳-۴-۳	نحوه نوشتن توالی الیگونوکلئوتیدی جهت ارسال به شرکت سازنده ی آغازگر
۳۴	۴-۴-۱	طراحی آغازگر
۴۶	۵-۳	آنزیم پامراز Taq DNA
۴۹	۱-۵-۳	انواع آنزیم ها مقاوم به حرارت
۵۱	۶-۳	DNA الگو
۵۳	۱-۶-۳	دمای ذوب مولکول DNA
۵۴	۷-۳	آب دیونیزه و دوبار استریل مورد استفاده در PCR
۵۵	۸-۳	بهبوددهنده های PCR

۵۷	فصل چهارم	اقدامات لازم در تجهیز و راه اندازی آزمایشگاه PCR
۵۸	۱-۴	دستگاه های مورد استفاده در روش PCR
۶۹	۲-۴	منابع بالقوه ی آلودگی در واکنش PCR

۷۱	فصل پنجم	استخراج DNA
۷۱	۱-۵	اصول کلی استخراج DNA
۷۳	۲-۵	انواع روش های استخراج DNA
۷۵	۳-۵	اصول استخراج DNA بر پایه ی CTAB
۷۵	۱-۳-۵	ترکیبات مورد استفاده در استخراج DNA بر پایه ی CTAB
۸۰	۲-۳-۵	دستورالعمل استخراج DNA بر پایه ی CTAB

۸۵	محاسبات مورد نیاز در انجام واکنش PCR	فصل هشتم
۸۵	محاسبه‌ی تهیه محلول‌ها	۱-۶
۸۵	پیشوندهای متریک	۱-۱-۶
۸۵	تبدیل واحدها	۲-۱-۶
۸۶	فاکتور تبدیل	۳-۱-۶
۸۷	تبدیل غلظت‌ها	۴-۱-۶
۸۷	محلول‌های درصدی	۵-۱-۶
۸۸	غلظت برحسب فاکتور X	۶-۱-۶
۸۸	رقت‌سازی سریالی	۷-۱-۶
۸۹	محاسبه‌ی محلول‌ها در واکنش PCR	۲-۶
۸۹	تعیین غلظت 2-Mg	۱-۲-۶
۹۰	تعیین غلظت dNTP Mix	۲-۲-۶
۹۱	تعیین غلظت آمیزگرها	۳-۲-۶
۹۵	تعیین غلظت dNA	۴-۲-۶
۹۷	محلول واکنش PCR	۳-۶
۹۹	وسایل مورد نیاز در تهیه‌ی محلول واکنش PCR	۱-۳-۶
۹۹	مراحل تهیه‌ی محلول واکنش PCR	۲-۳-۶

۱۰۵	الکتروفورز	فصل هفتم
۱۰۵	اصول الکتروفورز	۱-۷
۱۰۸	الکتروفورز اسیدنوکلئیک در ژل آگارز	۲-۷
۱۱۰	وسایل مورد نیاز در الکتروفورز ژل آگارز	۱-۲-۷
۱۱۱	مواد مورد نیاز در الکتروفورز ژل آگارز	۲-۲-۷
۱۱۸	مراحل الکتروفورز ژل آگارز	۳-۲-۷
۱۲۳	انواع رنگ‌آمیزی ژل آگارز	۴-۲-۷
۱۲۸	الکتروفورز اسیدنوکلئیک در ژل پلی‌اکریل‌امید	۳-۷
۱۳۱	وسایل مورد نیاز در الکتروفورز ژل پلی‌اکریل‌امید	۱-۳-۷
۱۳۲	مواد مورد نیاز در الکتروفورز ژل پلی‌اکریل‌امید	۲-۳-۷
۱۳۶	مراحل الکتروفورز ژل پلی‌اکریل‌امید	۳-۳-۷
۱۴۱	انواع رنگ‌آمیزی ژل پلی‌اکریل‌امید	۴-۳-۷

فصل هشتم	راهنمای حل مشکلات آزمون PCR	۱۴۵
۱-۸	مشکلات ناشی از تغییر غلظت مواد واکنش	۱۴۶
۱-۱-۸	کلرید پتاسیم	۱۴۶
۲-۱-۸	داکسی نوکلئوزید تری فسفات‌ها	۱۴۷
۳-۱-۸	کلرید منیزیم	۱۴۸
۴-۱-۸	آنزیم پلیمراز DNA	۱۴۹
۵-۱-۸	آغازگرها	۱۴۹
۶-۱-۸	DNA الگو	۱۵۰
۲-۸	مشکلات ناشی از جرخه‌های دمایی نامناسب در آزمون PCR	۱۵۱
۱-۲-۸	مرحله‌ی واسرشت‌سازی	۱۵۱
۲-۲-۸	مرحله‌ی اتصال	۱۵۲
۳-۲-۸	مرحله‌ی توسعه	۱۵۳
۳-۸	مشکلات ناشی از تغییر نامناسب جرخه‌های دمایی در آزمون PCR	۱۵۴
۴-۸	راهنمای حل مشکلات PCR	۱۵۴
فصل نهم	انواع روش‌های PCR	۱۵۹
۱-۹	PCR با شروع داغ	۱۶۰
۲-۹	PCR نزولی	۱۶۱
۳-۹	PCR داخلی یا آشیانه‌ای	۱۶۱
۴-۹	PCR چندگانه	۱۶۳
۵-۹	PCR نامتقارن	۱۶۵
۶-۹	PCR ترانسکریپتاز معکوس	۱۶۵
۷-۹	IC-PCR و IC-RT-PCR	۱۶۸
۸-۹	PCR کمی در زمان واقعی	۱۶۹
۹-۹	PCR معکوس	۱۷۶
۱۰-۹	PCR ترکیبی نامتقارن	۱۷۷
۱۱-۹	نشانه‌گر رپید یا چندشکلی حاصل از تکثیر تصادفی DNA	۱۸۰
۱۲-۹	PCR با آغازگر اختیاری	۱۸۲

۱۳-۹ نشانگر AFLP یا چند شکلی طولی حاصل از قطعات تکثیر یافته ۱۸۲

۱۴-۹ نشانگر Rep-PCR ۱۸۶

منابع و سایت‌های مورد استفاده ۱۸۹

واژه‌نامه ۱۹۵