

ژنتیک عملی

انتقالی، انسانی، مولکولی

کتاب درسی برای دانشجویان ژنتیک، گرایش های مختلف
زیست شناسی، پزشکی، بیوتکنولوژی، دام پزشکی و
کشاورزی

تألیف:

مهندس فرشته سلیمانی

عضو هیأت علمی دانشگاه شهید چمران اهواز

(ویرایش دوم)

ژنتیک عملی: انتقالی، انسانی، مولکولی. (ویرایش دوم)

تألیف: خانم مهندس فرشته سلیمانی.

اعضای شورای کمیسیون تخصصی علوم پایه، فنی و مهندسی، دکتر ناهید پوررضا، دکتر مرتضی زرگرشوشتری، دکتر منوچهر چیت‌سازان، دکتر مرتضی رزاق، دکتر فضل‌الله عزیزی، دکتر علی رضایی علی‌آباد، دکتر خلیل رنجبر.

ویراستار علمی: دکتر عباس جلودار.

ویراستار ادبی: دکتر عادل سواعدی.

چاپ اول: ۱۳۸۹

تیراژ: ۱۰۰۰ نسخه

لیتوگرافی چاپ و صحافی: اداره چاپ و انتشارات دانشگاه شهید چمران اهواز.

سرشناسه	: سلیمانی، فرشته، ۱۳۳۷ -
عنوان و نام پدیدآور	: ژنتیک عملی: انتقالی، انسانی، مولکولی: کتاب درسی برای دانشجویان ژنتیک، گرایش‌های مختلف زیست‌شناسی، پزشکی، بیوتکنولوژی، دام‌پزشکی و کشاورزی.
وضعیت ویراست	: ویراست دوم.
مشخصات نشر	: اهواز: دانشگاه شهید چمران، ۱۳۸۹.
مشخصات ظاهری	: ۱۳، ۲۰۸ ص:، مسمور.
فروست	: انتشارات دانشگاه شهید چمران: ۴۷۹.
شابک	: ۹۷۸-۶۰۰-۱۲۱-۰۱۲-۳
وضعیت فهرست نویسی	: فیبا
یادداشت	: نمایه.
موضوع	: ژنتیک.
موضوع	: ژنتیک مولکولی.
موضوع	: ژنتیک انسانی.
شناسه افزوده	: دانشگاه شهید چمران اهواز.
رده بندی کنگره	: ۱۳۸۹: ۹ ز ۸ / س / QII ۴۲۰
رده بندی دیویی	: ۵۷۶/۵
شماره کتابشناسی ملی	: ۹۳۹۷۱۱۲

محل های فروش کتاب

اهواز: گلستان - شهر دانشگاهی - کتابفروشی دانشگاه شهید چمران اهواز.

تلفاکس: ۰۶۱۱-۳۳۳۱۰۷۲

تهران: خ. کارگر شمالی، خ. نصرت، خ. دکتر قریب نرسیده به خ. فرصت، پلاک ۱۱ - مؤسسه کتابیران

تلفن: ۰۲۱-۶۶۵۶۶۵۱۰-۱۵

قیمت: ۴۰/۰۰۰ ریال

کلیه حقوق برای ناشر محفوظ است.

پیش گفتار چاپ اول

سپاس فراوان به درگاه ایزد توانا که به خواست و یاری اش امکان به پایان رسانیدن تألیف این کتاب را به بنده عنایت فرمود و امید این که با توکل به او بتوانم کتاب‌های دیگری را به شما تقدیم نمایم.

علم ژنتیک در اواخر قرن نوزدهم با آزمایش‌های گریگور مندل که پدر علم ژنتیک خوانده می‌شود بر روی نخود فرنگی شروع گردید و پایه‌های اصلی این علم را تشکیل داد. سپس مورگان آزمایش‌های ژنتیکی متعددی بر روی مگس دروزوفیلا ملانوگاستر (مگس میوه) انجام داد و نظریه‌ی مجرد بودن ژن‌ها را پیشنهاد نمود. مولر سیتولوژی و ژنتیک را با یکدیگر تلفیق کرد و علم سیتوژنتیک را بنیان نهاد.

کشف DNA به عنوان ماده‌ی ژنتیکی و شناخت ساختار مولکولی و ویژگی‌های این ماده نقطه‌ی عطفی در علم زیست‌شناسی شد و به این ترتیب علم جدیدی به نام ژنتیک مولکولی پا به عرصه‌ی دانش بسری نهاد.

از اوایل دهه‌ی ۱۹۷۰ میلادی به تدریج محققان ابزار و تکنیک‌های پیشرفته‌ای را ابداع و ارائه کردند و در این زمان بود که پژوهشگران توانستند قطعه‌ای از DNA یک ارگانیسم را وارد یک پلاسمید یا ویروس نموده و DNA نو ترکیب حاصل *in vitro* را وارد یک باکتری نمایند. و به این ترتیب کلونینگ مولکولی و مهندسی ژنتیک مطرح گردید و طیف این دانش گسترده‌تر شد. با پیشرفت مهندسی ژنتیک، علوم پزشکی، میکروبیولوژی، بیوتکنولوژی، کشاورزی و دام پروری نیز توسعه یافته است.

در این کتاب با توجه به تجربیات آموزشی چندین ساله‌ی خود و این که تا کنون کتابی به عنوان روش‌های آزمایشگاهی ژنتیک به خصوص در بخش مولکولی به زبان فارسی وجود نداشته است، مطالب و بعضی از سرفصل‌های کاربردی و عملی درس ژنتیک، به نحوی جمع‌آوری و بیان شده است که مورد استفاده‌ی شما دوستان و دانشجویان گرایش‌های مختلف رشته‌ی زیست‌شناسی (سلولی و مولکولی، ژنتیک، میکروبیولوژی، جانوری و گیاهی)، بیوتکنولوژی، پزشکی و پیراپزشکی قرار گیرد.

در تألیف این کتاب از مجموعه کتاب‌های معتبر دانشگاهی به زبان انگلیسی و فارسی و نیز مقالات چاپ شده و موجود در شبکه‌ی اینترنت استفاده شده است. بخش اول کتاب به ژنتیک کلاسیک و مندلی، بخش دوم به چند آزمایش در زمینه‌ی انسانی و سیتوژنتیک و بخش سوم به تعدادی از روش‌های آزمایشگاهی مولکولی اختصاص دارد.

چنان چه در کتاب‌های نظری مشاهده می‌کنید بخش مولکولی ژنتیک بسیار وسیع می‌باشد که در این مجموعه سعی شده است چند پروتکل مهم و کاربردی در زمینه‌ی ژنتیک و کلونینگ مولکولی ارائه گردد. البته یک روش کروماتوگرافی و القای جهش که اساس مولکولی دارد و به نحوی به این مبحث مربوط می‌باشد در ابتدای این فصل گنجانده شده است.

بخش پایانی کتاب به روش تهیه‌ی مواد و محلول‌های مورد نیاز در آزمایش‌های مختلف که در متن آن آزمایش توضیح داده نشده، اختصاص دارد. نظریات و پیشنهاد‌های شما صاحب نظران، خوانندگان، دانشجویان، دوستان و همکاران محترم دانشگاهی موجب خشنودی و سپاس این جانب می‌شود. با سپاس از استادان و همکاران گرامی در دانشگاه شهید چمران اهواز و دانشگاه تهران که تا کنون با بنده همکاری داشته‌اند.

با تشکر از تمام دوستانی که در چاپ این کتاب مرا یاری نموده‌اند. از پدر بزرگوار و مادر گرامی و برادران و خواهران عزیزم که مرا همواره مشوق من بوده‌اند، قدردانی می‌نمایم. از همسر عزیز و مهربانم و فرزندان دلبندم که همیشه و به خصوص در مدت تهیه‌ی کتاب با همکاری، تحمل و تشویق‌های خود باعث دلگرمی من شده‌اند، سپاس گزارم.

فرشته سلیمانی

پاییز ۸۲

پیش گفتار چاپ دوم

سپاس پروردگار یکتا را که توفیق چاپ دوم این کتاب را به بنده ارزانی داشت. با توجه به این که علم ژنتیک با سرعت زیاد در حال پیشرفت و توسعه می باشد به نظر می رسد که لازم است تجدید نظر کافی در متن بعضی از عناوین کتاب به عمل آید. این تجدید نظر به صورت فصل جدید مطرح نشده بلکه مطالب جدید لابلای متن کتاب گنجانیده شده است.

علاوه بر آن روش آزمایش های چهارم (تخلیص DNA پلاسمید) و ششم (استخراج DNA ژنومی بافت گیاهی) فصل سوم با توجه به امکانات موجود در آزمایشگاه ها تغییر داده شد.

در چاپ دوم کتاب حتی الامکان سعی شده اصلاحات لازم انجام گیرد و به لحاظ حروف چینی مجدد، غلط ها و اشتباهات برطرف شود. نظرات و پیشنهادهای شما خوانندگان عزیز ما را در اصلاح هرچه بیش تر چاپ های بعدی راهنمایی خواهد کرد. در پایان پیش از همه از معاونت محترم پژوهشی و مدیریت و پرسنل محترم اداره ی چاپ و انتشارات دانشگاه که در امر چاپ دوم کتاب اهتمام داشته اند سپاس گزاری می شود.

از آقای دکتر عباس جلودار ویراستار علمی محترم که با همت و توجه ایشان تغییرات و اصلاحات لازم صورت گرفت بسیار سپاس گزارم. از همکاری صمیمانه خانم صفارشمشیرگر در تایپ و صفحه بندی این کتاب تشکر می شود.

از آقای مهندس محمد عزیزی پور که تصاویر روی جلد را طراحی و تنظیم نموده اند کمال تشکر را دارم.

امید است بتوانسته باشم قدمی هرچند کوچک در ارتقای سطح علمی دانشگاه ها بردارم.

فرشته سلیمانی

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
پیش گفتار چاپ اول.....	۵
پیش گفتار چاپ دوم.....	ز
فصل اول: ژنتیک مندلی.....	۱
آزمایش اول: بررسی مرفولوژی مگس میوه (نژاد وحشی).....	۱
دوره‌ی زندگی مگس سرکه.....	۱
تخم (egg).....	۲
لارو (Larva).....	۲
شفیره (Pupa).....	۳
حشره‌ی بالغ (adult).....	۳
روش بررسی مگس‌های بالغ.....	۴
اختصاصات ظاهری مگس‌های میوه نژاد وحشی یا تیپ وحشی (Wild type).....	۱۰
آزمایش دوم: مطالعه‌ی چند مگس میوه جهش یافته.....	۱۳
روش کار.....	۱۴
آزمایش سوم: آمیزش مونوهیبریدیسم در مگس میوه.....	۱۷
روش کار.....	۱۹
آزمون تست کراس.....	۲۰
گزارش کار.....	۲۱
آزمایش چهارم: آمیزش دی هیبریدیسم و بررسی F_2 و نسبت‌های ۹:۳:۳:۱ در	
مگس میوه.....	۲۳
آزمایش پنجم: تری هیبریدیسم.....	۲۴

آزمایش ششم: مطالعه‌ی توارث صفات وابسته به جنس در مگس میوه.....	۲۶
مشاهده و بررسی نتایج در نسل اول و دوم.....	۲۶
روش کار.....	۲۹
گزارش کار.....	۳۰
آزمایش هفتم: پیوستگی، کراسینگ اورو نقشه‌ی ژنی با استفاده از سوس‌های مناسب مگس میوه.....	۳۱
کراسینگ اور.....	۳۲
پیوستگی.....	۳۲
نقشه‌ی ژنی و تعیین مکان ژن‌های پیوسته و فاصله‌ی نسبی ژن‌ها نسبت به یک دیگر.....	۳۶
روش کار.....	۳۷
گزارش کار.....	۳۸
آزمایش هشتم: تعیین فراوانی نوترکیبی در ژن‌های وابسته به جنس هتروگامتیک.....	۴۱
آزمایش نهم: آمیزش سه فاکتوره و پیوستگی.....	۴۳
روش کار.....	۴۳
گزارش کار.....	۴۴
تداخل و تصادف.....	۴۹
آزمایش دهم: بررسی کروموزوم‌های پلی تن.....	۵۱
روش کار.....	۵۳
آزمایش یازدهم: بررسی کروموزوم‌های متافازی (کروموزوم‌های سوماتیک).....	۵۷
روش کار.....	۵۷
آزمایش دوازدهم: تهیه‌ی اسلاید میکروسکوپی برای دیدن کروموزوم‌های گیاهی.....	۵۸
تهیه‌ی اسلاید برای مطالعه میوز.....	۵۸

فصل دوم: ژنتیک انسانی.....	۶۳
آزمایش اول: مطالعه‌ی صفات کمی.....	۶۳
مقایسه‌ی یک صفت کمی (طول قد) در دو جمعیت با یک دیگر.....	۶۵
روش کار.....	۶۶
گزارش کار.....	۶۶
آزمایش دوم: بررسی کروماتین جنسی یا جسم بار در انسان.....	۶۹
روش کار.....	۷۲
گزارش کار.....	۷۳
آزمایش سوم: بررسی زائده‌های هسته‌ی لکوسیت‌ها (تست درام استیک).....	۷۴
روش کار.....	۷۶
آزمایش چهارم: سیستم‌های گروه خونی BO , Rh , Secretor , nonssecretor ..	۷۷
ژنتیک گروه‌های خونی.....	۷۷
کشف سیستم Rh.....	۸۰
ساختمان شیمیایی گروه‌های خونی A و B و H.....	۸۱
فنوتیپ‌های دیگر خون: سیستم‌های مترشح و غیر مترشح.....	۸۲
روش آزمایش تعیین گروه خونی سیستم ABO و Rh در انسان.....	۸۴
روش آزمایش تعیین سیستم مترشح و غیر مترشح در انسان.....	۸۵
گزارش کار.....	۸۶
آزمایش پنجم: بررسی و آنالیز کروموزومی در انسان (Karyotyping).....	۸۷
مفهوم کاریوتیپ.....	۸۷
معیار تشخیص کروموزوم‌های همولوگ.....	۸۹
روش کار.....	۹۳
طرز تهیه‌ی مواد لازم.....	۹۳

تکنیک‌های رنگ آمیزی معمولی و نواری کروموزوم‌ها.....	۹۹
الف) رنگ آمیزی ساده.....	۹۹
ب) روش رنگ آمیزی گیسما باندینگ.....	۹۹
ج) رنگ آمیزی نواری با کیناکرین.....	۱۰۲
د) رنگ آمیزی نواری هتروکروماتین ثابت.....	۱۰۴
هـ) روش رنگ آمیزی نواری معکوس.....	۱۰۵
روش کشت لنفومست‌های خون محیطی.....	۱۰۶
فصل سوم: ژنتیک مولکولی.....	۱۰۹
آزمایش اول: القای جهش در باکتری E.coli توسط اشعه‌ی ماورای بنفش (U.V).....	۱۰۹
مبنای مولکولی جهش.....	۱۰۹
عوامل جهش زا.....	۱۱۱
روش آزمایش.....	۱۱۳
گزارش کار.....	۱۱۵
آزمایش دوم: کروماتوگرافی رنگدانه‌های چشم مگس درووفیل.....	۱۱۶
مقدمه.....	۱۱۶
روش کار.....	۱۱۸
گزارش کار.....	۱۱۸
آزمایش سوم: استخراج و تخلیص DNA پلاسمید.....	۱۲۱
مرحله‌ی اول: کشت و رشد باکتری‌ها.....	۱۲۲
برداشت و لیز کردن باکتری‌ها.....	۱۲۲
روش تهیه‌ی مقدار کم DNA پلاسمید با استفاده از روش لیز کردن با آلکالین.....	۱۲۳
کشت و برداشت باکتری‌ها.....	۱۲۳
آزمایش چهارم: تخلیص DNA پلاسمید (Purification of plasmid DNA).....	۱۲۸

۱۲۹	روش کار
۱۳۱	آزمایش پنجم: استخراج DNA ژنومی باکتری: (DNA پروکاریوتی)
۱۳۱	روش کار
۱۳۴	آزمایش ششم: استخراج DNA ژنومی بافت گیاهی
۱۳۵	روش کار
۱۳۷	آزمایش هفتم: استخراج و تخلیص DNA مگس دروزفیل
۱۳۸	روش کار
۱۴۰	آزمایش هشتم: استخراج DNA از خون (ژنوم انسانی)
۱۴۰	روش کار
	آزمایش نهم: بررسی وجود DNA در محلول و اندازه‌گیری غلظت آن به روش
۱۴۳	اسپکتروفتومتری
۱۴۵	آزمایش دهم: ژل الکتروفورز DNA (Gel Electrophoresis of DNA)
۱۴۶	محیط‌های الکتروفورز
۱۴۷	ژل پلی اکریل آمید
۱۴۸	ژل آگارز
۱۴۹	نشاسته
۱۵۰	چگونگی حرکت قطعات DNA در ژل
۱۵۱	بافرهای الکتروفورز
۱۵۱	بافر بارگذاری
۱۵۲	تهیه ژل آگارز
۱۵۲	روش کار
۱۵۸	آزمایش یازدهم: واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR)
۱۶۲	بازدارنده‌ها و افزایشنده‌های فعالیت واکنش زنجیره‌ای پلیمرز
۱۶۵	پروتکل PCR معمولی

۱۶۷	PCR بعضی از انواع
۱۶۷	PCR آرمز (ARMS-PCR)
۱۶۷	PCR لانه‌ای
	PCR به منظور تقویت تصادفی DNA پلی مورفیک (PCR ت RAPD) به
۱۶۸	کمک رونویسی معکوس
۱۷۰	آزمایش دوازدهم: هم‌سانه سازی ژن (Gene Cloning)
۱۷۰	مراحل کلونینگ ژن
۱۷۲	توضیح چند واژه
۱۷۴	آزمایش سیزدهم: وارد نمودن پلاسمید به داخل سلول باکتری
۱۷۴	روش کار
	آزمایش چهاردهم: بریدن و وصل نمودن قطعات DNA با استفاده از
۱۸۱	اندونوکلازهای محدودالانثر
۱۸۲	الف ت بریدن DNA نمونه با استفاده از یک آنزیم اندونوکلاز محدودالانثر
۱۸۲	روش کار
۱۸۷	ب ت اتصال قطعات DNA با انتهای چسبناک به هم دیگر
۱۸۸	روش کار
۱۹۱	بخش ضمیمه: محلول‌ها و معرف‌های مورد استفاده
۲۰۵	منابع و مآخذ