



راهنمای آزمایشگاهی

کار با اسیدهای نوکلئیک

(DNA & RNA)

تألیف

دکتر فرهاد نظرین فرهنگ‌آبادی

دانشیار بیوتکنولوژی دانشگاه لرستان



سرشناسه	: نظریان فیروزآبادی، فرهاد، ۱۳۵۱
عنوان و نام پدیدآور	: راهنمای آزمایشگاهی کار با اسیدهای نوکلئیک / RNA & DNA
مشخصات نشر	: تألیف فرهاد نظریان فیروزآبادی.
مشخصات ظاهری	: خرم‌آباد، دانشگاه لرستان، ۱۳۹۴
شابک	: ۱۸۰ ص، مصور، جدول، نمودار
وضعیت فهرست‌نویسی	: فیا
یادداشت	: کتاب‌نامه
یادداشت	: واژه‌نامه
موضوع	: اسیدهای نوکلئیک
موضوع	: اسیدهای نوکلئیک -- تجزیه و آزمایش
شناسه اف	: دانشگاه لرستان
ردمک کنگ	: ۱۳۹۴ ۲ ر ۶ ن / ۵۵۱ QP
رده‌بندی یویی	: ۵۷۴ / ۸۷۶۱
شماره کتاب‌شناسی	: ۴۱۲۶۲ ۳



دانشگاه لرستان

راهنمای آزمایشگاهی کار با اسیدهای نوکلئیک / RNA & DNA

تألیف

دکتر فرهاد نظریان فیروزآبادی

(دانشیار بیوتکنولوژی دانشگاه لرستان)

ویراستار ادبی: دکتر علی حیدری

انتشارات دانشگاه لرستان

شمارگان: ۵۰۰ نسخه، چاپ اول ۱۳۹۴

أمور رایانه‌ای و طرح جلد: سهمیه اسدزاده

شابک: ۹۷۸-۶۰۰-۶۲۱۷-۳۱-۴

بها: ۱۴۰۰۰۰ ریال

فهرست

صفحه	عنوان
۱۵	پیش‌گفتار
فصل ۱	
۱۷	مرورنی بر ساختار و مبانی مولکولی اسیدهای نوکلئیک
۱۹	بسته‌بندی DNA در موجودات عالی
۲۰	ساختمان و بیان ژن
۲۰	ساختمان و بیان ژن در یک ژن یوکاریوتی
۲۲	ترجمه mRNA و پروتئین‌سازی
۲۴	تغییرات پس از ترجمه‌ی یک پروتئین
فصل ۲	
۲۷	باکتری‌ها، تواریزش و نگهداری آنها
۲۸	مراحل آزمایش
۳۰	کشت باکتری‌ها
۳۱	مراحل آزمایش کشت باکتری

- ۳۲ مراحل کشت و نگهداری باکتری‌ها
- ۳۲ مراحل کشت مجدد باکتری‌ها
- ۳۳ لیوفیلیز کردن باکتری‌ها
- ۳۳ مراحل آزمایش

فصل ۳

- ۳۵ فناوری ته‌الی‌یابی DNA
- ۳۶ تفسیر نتایج ته‌الی‌یابی
- ۳۹ مراحل آزمایش
- ۴۱ ته‌الی‌یابی ژن‌های با

فصل ۴

- ۴۳ فناوری واکنش زنجیره‌ای پدیدار
- ۴۶ آغازگرهای PCR
- ۴۷ تجربه و پیشنهاد
- ۴۹ بررسی آغازگرها
- ۴۹ چگونگی استفاده از Primer-BLAST
- ۵۱ انجام BLAST برای آغازگرهای طراحی شده
- ۵۱ مراحل آزمایش

فصل ۵

- ۵۳ جداسازی DNA
- ۵۶ استخراج DNA ژنومی به روش CTAB
- ۵۷ مواد مورد نیاز

۵۷	وسایل مورد نیاز
۵۷	طرز تهیه مواد و بافرها
۵۷	طرز تهیه بافر (۲٪) CTAB
۵۸	طرز تهیه بافر (۵×) TBE
۵۸	مراحل استخراج DNA ژنومی به روش CTAB
۶۱	راهکارهای سنجش غلظت DNA و بررسی خلوص آن
۶۲	روش الکتروفرز ژل آگارز
۶۲	مواد مورد نیاز
۶۲	وسایل مورد نیاز
۶۲	مراحل آزمایش
۶۴	روش استفاده از جذب اشعه UV (اسپکتروفتومتری)
۶۵	مراحل آزمایش
۶۶	الکتروفرز ژل آگارز
۶۶	مراحل آزمایش
۶۸	تفسیر تصویر ژل DNA ژنومی
۶۹	مشکلات الکتروفرز و راه حل آنها
۷۱	تجربه و پیشنهاد
۷۲	جلوگیری از شکستگی DNA ژنومی
۷۲	تجربه و پیشنهاد
۷۳	جداسازی DNA ژنومی از باکتری‌ها
۷۴	مواد مورد نیاز
۷۴	وسایل مورد نیاز
۷۴	مراحل استخراج DNA ژنومی از باکتری‌ها در مقیاس کوچک
۷۵	مراحل آزمایش

۷۷	تجربه و پیشنهاد
۷۸	سنجش کمیت و کیفیت DNA باکتریایی
۷۸	جداسازی DNA پلاسمیدی
۷۹	جداسازی DNA پلاسمیدی از باکتری‌ها
۷۹	جداسازی DNA پلاسمید
۷۹	وسایل مورد نیاز
۷۹	مواد مورد نیاز
۸۰	طرز تهیه محلول‌ها و بافرها
۸۳	مراحل آزمایش
۸۶	بررسی پلاسمید به کمک الکتروفورز ژل آگارز
۸۷	اندازه‌گیری کمیت و کیفیت DNA پلاسمیدی

فصل ۶

۸۹	جداسازی DNA از اندامک‌ها
۹۱	جداسازی DNA کلروپلاستی به روش ریبوزیمی در نمک
۹۱	مواد مورد نیاز
۹۲	وسایل مورد نیاز
۹۲	مراحل آزمایش
۹۴	بررسی کمیت و کیفیت DNA پلاستی

فصل ۷

۹۵	جداسازی RNA
۹۶	روش‌های جداسازی RNA کل
۹۶	روش فتل/SDS

۹۶	مواد مورد نیاز
۹۷	وسایل مورد نیاز
۱۰۰	جداسازی RNA کلی به روش TRIZOL
۱۰۲	مواد مورد نیاز
۱۰۲	وسایل مورد نیاز
۱۰۲	مراحل آزمایش
۱۰۵	مراحل آزمایش جداسازی با تریزول
۱۰۷	بررسی سمیت و کیفیت RNA

فصل ۸

۱۰۹	فناوری RT-PCR
۱۱۱	طراحی آزمایش
۱۱۲	طراحی آغازگرها
۱۱۴	طراحی آغازگرهای RT-PCR به کمک نرم افزار
۱۱۵	ساخت cDNA
۱۱۵	مراحل ساخت cDNA
۱۲۲	رنگ‌های مورد استفاده در qRT-PCR
۱۲۴	مراحل آزمایش
۱۲۶	RT-PCR نیمه کمی
۱۲۶	انجام RT-PCR نیمه کمی در مقابل یک ژن کنترل داخلی
۱۲۷	انجام RT-PCR نیمه کمی با استفاده یک استاندارد بیرونی
۱۲۸	تجربه و پیشنهاد
۱۲۹	نرمال‌سازی داده‌های RT-PCR
۱۳۱	انتخاب یک ژن رفرانس مناسب

۱۳۴	 نرمال کردن داده‌ها
۱۳۵	 تجزیه و تحلیل داده‌ها
۱۳۵	 $\Delta\Delta C_t$ روش
۱۳۸	 روش پافل
۱۳۹	 رسم منحنی استاندارد برای ژن مالتوزاستیل ترانسفراز (Maa)
۱۴۰	 مراحل آزمایش
۱۴۴	 انتشار داده‌های آزمایش‌های RT-PCR

فصل ۹

۱۴۹	 آنزیم‌های محدودگر و واکنش هضم DNA
۱۵۰	 ماهیت آنزیم‌های محدودگر
۱۵۱	 آنزیم‌های محدودگر تیپ یک
۱۵۲	 آنزیم‌های محدودگر تیپ دو
۱۵۲	 آنزیم‌های محدودگر تیپ سه
۱۵۵	 نحوه‌ی نامگذاری آنزیم‌های محدودگر
۱۵۵	 چگونگی برش DNAی دو رشته‌ای توسط آنزیم‌ها
۱۵۷	 استار اکتیویتی
۱۵۸	 ایزوشیزومرها
۱۵۹	 هضم تک آنزیمی
۱۵۹	 شرایط واکنش هضم تک آنزیمی
۱۵۹	 مراحل آزمایش
۱۶۰	 شرایط واکنش برای هضم دو آنزیمی
۱۶۲	 هضم ناقص
۱۶۳	 مراحل آزمایش

۱۶۴	تجربه و پیشنهاد
۱۶۵	لیگازها
۱۶۶	نحوه‌ی فعالیت لیگازها
۱۶۹	مراحل آزمایش
۱۶۹	منبع تولید لیگازها
۱۶۹	لیگاسیون
۱۷۳	فرهنگ واژه‌ها
۱۷۷	کتابنامه

پیش‌گفتار

پروردگارا! از صمیم قلب تو را سپاس می‌گویم که به من فرصت دادی تا بتوانم گوشه‌ای از آموخته‌ها و تجربیاتم را بنگارم تا به وسیله‌ی آن، جویندگان علم و دانش از آن بهره‌مند شوند. امیدوارم با این نوشتار توانسته باشم گوشه‌ای از الطاف بی‌سزاات را جبران کنم.

این کتاب حاصل تجربیات شخصی من در آزمایشگاه‌های ژنتیک مولکولی، مهندسی ژنتیک و بیوتکنولوژی است. تمام تلاشم را به کار گرفته‌ام تا راهنمایی درخبر و ترجمه برای علاقه‌مندان کار با اسیدهای نوکلئیک (DNA و RNA) بنگارم. این راهنما کامل نیست، اما بخش‌هایی را پوشش می‌دهد که من با آن سروکار داشته و دارم. به جز چند مورد محدود، تمام اشکال، نمودارها و جداول حاصل کار شخصی اینجانب یا مقالات و کتاب‌هایی است که قبلاً به چاپ رسانده‌ام. تمام تلاش خود را به خرج داده‌ام تا از تجربه‌های شخصی خود و دانشجویانم استفاده کنم و نکات و تجربه‌هایی را در قسمت‌هایی به نام "تجربه و پیشنهاد" ارائه کنم.