

واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR) به زبان ساده و کاربردی

(همراه با آموزش اختصاصی تکنیک
(Tetra-ARMs-PCR)

عنوان و نام پدیدآور	واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) به زبان ساده و کاربردی : همراه با آموزش اختصاصی تکنیک Tetra-ARMs-PCR / محمدسعید غلامی... [و دیگران] : [به سفارش مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی ایران].
مشخصات نشر	تهران: محمدسعید غلامی، ۱۳۹۷.
مشخصات ظاهری	۱۷۵ص.
شابک	978-622-00-1390-7
وضعیت فهرست	فبیا
نویسی	
یادداشت	محمدسعید غلامی، رسول عزیزاده، معصومه محمدپور، آرش رضایی، حامد جعفرپور، رضا علیپورچوکامی، علی داوودی
موضوع	واکنش زنجیره‌ای پلیمراز
موضوع	Polymerase chain reaction
موضوع	واکنش زنجیره‌ای پلیمراز -- روش‌ها
موضوع	Polymerase chain reaction-- methods
موضوع	پایان زن
موضوع	Gene expression
شناسه افزوده	غلامی، محمدسعید، ۱۳۶۶ -
شناسه افزوده	دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی ایران. مرکز تحقیقات علوم اعصاب
رده بندی کنگره	۱۷ (۲۰۲۱) و ۶۰۱ (Q1)
رده بندی دیویی	۶۲۳
شماره کتابشناسی	۵۳۸۰۲۳۵
ملی	

عنوان	واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) به زبان ساده و کاربردی : همراه با آموزش اختصاصی تکنیک Tetra-ARMs-PCR / [به سفارش مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی ایران].
مؤلفین	تألیف و گردآوری: محمدسعید غلامی، رسول عزیزاده، معصومه محمدپور، آرش رضایی، حامد جعفرپور، رضا علیپورچوکامی، علی داوودی؛ تحت نظارت سید بهنام الدین جامعی
مشخصات نشر	تهران: محمد سعید غلامی، ۱۳۹۷.
قطع	رقعی
نوبت چاپ	اول ۱۳۹۷
تیراژ	۱۰۰۰
شابک	978-622-00-1390-7
قیمت	۲۴۹۰۰۰ ریال

○ پیشگفتار

بنام خداوند جان و خرد

بدون تحقیق، هرگونه تصمیم‌گیری می‌تواند غلط و یا حتی بسیار مضر باشد. بدون تحقیق در هیچ زمینه‌ای نباید تصمیم‌گیری کرد. هرچند که این گفتار برای تمام حوزه‌های مختلف علوم صادق است، اما بدون شک در حوزه علوم زیستی و به‌ویژه علوم پزشکی اهمیت حیاتی‌تری برخوردار است. تحقیق پایه و اساس تمام روش‌های تشخیصی درمانی می‌باشد. پژوهش دارای ارکان مختلفی است که از شکل‌گیری ایده و سؤال پژوهشی تا تولید محصول پژوهشی گسترش دارد.

آنچه ایده یا سؤال پژوهشی را به نوبه‌ای آزمایش قرار می‌دهد، روش کار و تکنیک‌های مختلف پژوهشی است. روش کار از چنان اهمیت برخوردار است که هرگونه عدم تناسب و اشکال در طراحی و اجرای آن، کل پژوهش و نتایج آن را زیر سؤال می‌برد؛ بنابراین انتخاب روش کار و آشنایی با تکنیک مناسب هر تحقیقی، از ضروریات یک تحقیق موفق می‌باشد.

هرچند که سابقه مطالعات میکروسکوپی به حدود قرن هفدهم و زمان اختراع میکروسکوپ توسط Antonie van Leeuwenhoek می‌رسد، اما تا اواسط قرن چهاردهم اخیر با رشد چشمگیر تکنولوژی، روش‌ها و ابزارهای تحقیقات در آزمایشگاه دستخوش تغییرات شگرفی گردیده‌اند. تحقیقات از سطح بافتی و سلولی تا سطح شایستگی ژن‌ها، بیان پروتئین‌ها و گیرنده‌ها ارتقا یافته است. تکنیک‌ها و ابزارهای تازه و بسیار تخصصی به مجموعه‌های تحقیقاتی اضافه شده‌اند. کار با این ابزارهای بسیار دقیق نه تنها آشنایی با این سیستم‌ها که نیازمند داشتن دانش تئوری لازم برای تفسیر نتایج به دست آمده از آن‌ها نیز می‌باشد.

در این راستا مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی ایران با همکاری جمعی از محققین جوان و توانمند، گردآوری و تألیف مجموعه‌های آموزشی تکنیک‌های آزمایشگاهی را در دستور کار خود قرار داده است. کتاب حاضر که حاصل تلاش گروهی از این عزیزان می‌باشد، به معرفی کاربردی یکی از پراستفاده‌ترین روش‌های آزمایشگاهی مولکولی، PCR پرداخته است. نویسندگان انتظار دارند که این کتاب دانش تئوری و عملی لازم و پایه برای به کار بردن این روش‌ها در اختیار محققین قرار دهد. دریافت نظرات و انتقادات و پیشنهادات خوانندگان و محققین عزیز در ارتقاء این مجموعه راهگشا خواهد بود.

با احترام

دکتر سید بهنام الدین جامعی

استاد آناتومی،

مدیر گروه علوم پایه دانشکده پیراپزشکی،

رئیس مرکز تحقیقات علوم اعصاب و

مشاور و مسئول کمیته مشاوران جوان ریاست

دانشگاه علوم پزشکی ایران

○ مقدمه مؤلفین

مسئله اصلی در بررسی یک ژن خاص مشکل هدفگیری آن در یک ژنوم پیچیده که ممکن است بیش از صد هزار ژن داشته باشد، است. بسیاری از روش‌ها در ژنتیک مولکولی به این مشکل فائق آمده‌اند. تکنیک PCR در اواسط دهه ۱۹۸۰ در دپارتمان ژنتیک انسانی به وسیله Karu Mullis ابداع و برای تکثیر ژن کم‌خونی داسی شکل و بتاگلوبین انسانی مورد استفاده قرار گرفت. (Saiki 1985) از پژوهشگران شرکت مهندسی ستوس، اشکالات موجود را رفع کرد و روش متداول کنونی را ابداع نمود.

حقوق تجاری این اختراع ایستادگی شرکت هافمن - روچت تعلق دارد. Karu Mullis در سال ۱۹۹۳ موفق به کسب جایزه نوبل شیمی گردید. واکنش زنجیره‌ای پلیمرار یک روش آزمایشگاهی است که به منظور تکثیر یک انبوه قطعه خاص و انتخابی از DNA به کار می‌رود. واکنش مبتنی بر تکثیر آنزیمی قطعه‌ای از DNA است که با استفاده از دو پرایمر چند نوکلئوتیدی که مکمل پایانه ۳' هر رشته مورد نظر هستند، صورت می‌گیرد تا کپی شدن الگوی DNA توسط آنزیم پلیمرر امکان‌پذیر شود. در سال ۱۹۸۵ تنها سه مقاله علمی در زمینه PCR گزارش شده بود. پنج سال بعد از آن این روش در هزاران آزمایشگاه استفاده گردید و تاکنون هزاران مقاله و ده‌ها کتاب مستقل به این موضوع اختصاص داده شده است به گونه‌ای که دانشگاه آکسفورد حتی مقاله‌ای به نام PCR منتشر می‌سازد.

به عقیده بیولوژیست‌ها PCR وسیله‌ای است که سوزنی را در کاه پیدا می‌کند. PCR از نظر اصولی و عملی تشابه زیادی به همانندسازی DNA دارد و در واقع برگرفته از آن است. به‌طور کلی دو فرق بین PCR و همانندسازی وجود دارد: همانندسازی در بدن در دمای ۳۷°C با آنزیم DNA پلیمرار و آنزیم‌های دیگر صورت می‌گیرد ولی در PCR به علت نیاز به درجه حرارت بالا جهت دناتوره شدن، از آنزیم مقاوم به حرارت

همانند Taq پلیمراز استفاده می‌شود و به‌جای سایر آنزیم‌ها از تغییرات درجه حرارت در دستگاه ترموسایکلر، استفاده می‌شود.

کتاب حاضر که با کوشش بسیار جمعی از دانشجویان فعال سابق و حاضر، کمیته تحقیقات دانشجویی دانشگاه علوم پزشکی ایران و دانشجویان پژوهشگر و عضو کمیته تحقیقات دانشجویی دانشگاه‌های علوم پزشکی و زیر نظر دکتر سید بهنام الدین جامعی به رشته تحریر درآمده است، افق تازه و روشن به تکنیک PCR است که با زبان ساده برای کسانی که به تازگی تصمیم گرفته‌اند پژوهش‌های مولکولی انجام دهند یا در پایان‌نامه خود از روش‌های مولکولی استفاده کنند، بسیار مفید است. این کتاب با زبانی ساده و دربردی به شما خواهد گفت که چطور تکنیک مولکولی PCR را به لذت‌بخش‌ترین بخش از راه‌ور زندگی خود تبدیل کنید. این کتاب رویکردی کاملاً کاربردی و حرفه‌ای دارد که می‌تواند به همه کسانی که قصد انجام پژوهش‌های مولکولی را دارند و در نقطه آدرین هستند، کمک کند.

سیر مطالعاتی کتاب به این شکل است که در فصل اول به کلیات و ترمینولوژی روش‌های مولکولی پرداخته شده است که می‌تواند به افراد مبتدی کمک کند که با الفبای روش‌های مولکولی آشنا شوند و یا در پژوهشگران با مراجعه به این بخش می‌توانند ایرادات جزئی کار خود را بیابند. فصل دوم کتاب به کلیات و انواع روش‌های PCR پرداخته و اصول علمی و عملی مراحل PCR را شرح داده و نیز کلیات اصولی اکثر روش‌های مبتنی بر PCR را بیان نموده است، اهتمام و توجه به آن می‌تواند منجر به توانایی شما در طراحی هر چه بهتر پرایمر و نهایتاً طراحی یک تکنیک اختصاصی شود. در فصل سوم اصول طراحی، آماده‌سازی و سفارش پرایمر به صورت اختصاصی توضیح داده شده است، موضوعی که می‌تواند به پژوهشگران عزیز کمک کند که به چه صورت توالی ژن خود را در پایگاه‌های علمی پیدا کنند و همچنین به صورت مرحله به مرحله و مصور تکنیک‌های طراحی پرایمر را به صورت اختصاصی و منحصر به فرد توضیح داده است. همچنین به دلیل اینکه یکی از چالش‌های مهم پژوهشگران نحوه آماده‌سازی و سفارش پرایمر می‌باشد، در انتهای این فصل این موارد به صورت کاربردی و همراه با فرمت کلی اکثر شرکت‌های بیوانفورماتیکی که سفارش ساخت پرایمر را قبول می‌کنند، توضیح داده شده است. در فصل چهارم نحوه آماده‌سازی و

انجام PCR در آزمایشگاه توضیح داده شده است تا بتوان با دستگاه‌ها و روند انجام کار آشنا شد. سرانجام در فصل پنجم، مشکلات و ارائه راه حل در PCR توضیح داده شده است. با استفاده از این بخش می‌توان بر بسیاری از مشکلات فائق آمد و از روند طولانی پروژه‌های تحقیقاتی خود جلوگیری کنیم. البته بسیاری از موارد بعد از کسب تجربه حاصل می‌شود و نمی‌توان آن دانشی که تجربه به ما می‌افزاید با ساعت‌ها آموزش تئوری آموخت!

بی‌شک امکان خطا در کتاب حاضر وجود دارد، لذا از کلیه پژوهشگران و خوانندگان، صمیمانه خواهشمندیم تا از اظهار اشتباهات احتمالی و ارائه راهنمایی‌های سودمند دریغ ننمایند. در ارتقاء سطح کیفی این کتاب و کارهای علمی آتی سهیم باشند. موارد را می‌توانید به این آدرس ایمیل انعکاس دهید.

M_s_ghomi@yahoo.com

در آخر از دکتر سید بهنام آدین جامعی که نظارت این کتاب را به عهده گرفتند و راهنمایی‌های بسیار ارزنده‌ای جهت کیفیت هر چه بهتر کتاب داشتند و همچنین سایر نویسندگان که تجربیات ارزنده خود در روش‌های مولکولی را جهت کامل کردن این کتاب در اختیار این‌جانب قرار دادند، مال، تشکر و سپاس‌گذاری را دارم.

با تشکر، محمد سعید غلامی (کارشناس ارشد هماتولوژی و طب انتقال خون د ع پ ایران)

سایر نویسندگان: دانشجویان فعال سابق و حاضر محو کمیته تحقیقات دانشجویی

رسول علیزاده (کارشناس ارشد ژنتیک پزشکی د ع پ ایران)
معصومه محمد پور دشتابی (دکتری تخصصی علوم پزشکی و عضو هیئت علمی مرکز تحقیقات علوم اعصاب د ع پ ایران)

آرش رضایی شه میرزادی (دانشجوی دکتری حرفه‌ای پزشکی د ع پ مازندران)

حامد جعفر پور کلوری (دانشجوی دکتری حرفه‌ای پزشکی د ع پ مازندران)

رضا علیپور چوکامی (دانشجوی کارشناسی ارشد بیوشیمی د ع پ هرمزگان)

علی داوودی (دانشجوی دکتری حرفه‌ای پزشکی د ع پ فسا)