

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

مقدمه ای بر اصول و روش های زیست شناسی مولکولی

(با تأکید بر پژوهش های حشره شناسی)

تألیف

دکتر رضا حسینی

استادیار دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان

انتشارات دانشگاه گیلان

۱۳۸۹

سرشناسه	حسینی، رضا
عنوان و نام پدیدآور	مقدمه‌ای بر اصول و روش‌های زیست‌شناسی مولکولی (با تأکید بر پژوهش‌های حشره‌شناسی) / رضا حسینی؛ ویراستار علمی: علی اعلمی
مشخصات نشر	رشت: دانشگاه گیلان، ۱۳۸۹.
مشخصات ظاهری	ج. ۲۴۱ ص-؛ مصور، جدول.
شابک	978-600-153-029-6
وضعیت فهرست‌نویسی	فیا
پادداشت	کتابخانه: ص. [۲۲۸] - ۲۴۱.
موضوع	مولکولها -- زیست‌شناسی.
موضوع	پاخت‌شناسی.
موضوع	حشره‌شناسی.
شناسه افزوده	اعلمی، علی، ویراستار.
شناسه افزوده	دانشگاه گیلان.
رده بندی کنگره	۵۷۴/ح۵۰۶ HQ
رده بندی دیویی	۵۷۷/۸
شماره کتبشناسی ملی	۱۲۱۳۸۸۷



دانشگاه گیلان

شابک: ۹۷۸ - ۶۰۰ - ۱۵۳ - ۰۲۹ - ۶

انتشارات دانشگاه گیلان

نام کتاب	مقدمه‌ای بر اصول و روش‌های زیست‌شناسی مولکولی (با تأکید بر پژوهش‌های حشره‌شناسی)
مؤلف	دکتر رضا حسینی
ویراستار علمی	دکتر علی اعلمی
طرح روی جلد	زهرا فره‌وشی
نوبت چاپ	اول، ۱۳۸۹
چاپ جلد و متن	شرکت چاپ پیام سبحان
ناشر	انتشارات دانشگاه گیلان
شمار	جلد ۱۰۰۰
قیمت	۵۵۰۰۰ ریال

* هر گونه چاپ و تکثیر فقط در اختیار انتشارات دانشگاه گیلان است.*

فهرست

۱	پیشگفتار
۳	فصل اول
۳	کلیات سلول‌شناسی
۳	پروکاریوت‌ها
۴	یوکاریوت‌ها
۵	میتوکندری
۶	ریبوزوم‌ها
۸	کلروپلاست
۹	کروماتین و کروموزوم
۱۱	ساختمان کروموزوم
۱۴	DNA به عنوان یک درشت‌مولکول
۱۵	ویژگی‌های شیمیایی DNA
۱۶	قند دزوکسی ریبوز
۱۶	باز آلی نیتروژن‌دار
۱۷	فسفات
۲۰	مواد ژنتیکی در سلول
۲۰	۱) DNA هسته
۲۰	۲) DNA میتوکندری
۲۲	۳) DNA کلروپلاست
۲۳	ژن‌ها
۲۶	RNA
۲۹	همانندسازی در DNA
۳۰	نسخه‌برداری: کپی پیام DNA به زبان RNA
۳۱	نسخه‌برداری در پروکاریوت‌ها
۳۴	نسخه‌برداری در یوکاریوت‌ها
۳۷	کد ژنتیکی

۳۹.....	ترجمه کد ژنتیکی
۴۱.....	گروه ترجمه
۴۸.....	فصل دوم
۴۸.....	واکنش زنجیره‌ای پلیمراز PCR (POLYMERASE CHAIN REACTION)
۵۲.....	واکنش‌های اصلی در PCR
۵۲.....	مراحل واکنش زنجیره‌ای پلیمراز
۵۴.....	DNA الگو
۵۵.....	روش‌های استخراج DNA
۵۶.....	مشکلات عمومی و محدودیت‌های موجود در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز
۵۶.....	محصولات مصنوعی واکنش زنجیره‌ای پلیمراز
۵۷.....	اختلال در عملکرد واکنش زنجیره‌ای پلیمراز
۵۷.....	آلودگی واکنش زنجیره‌ای پلیمراز
۵۸.....	راه‌حل‌های موجود برای رفع مشکلات ایجاد شده در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز
۶۱.....	آشنایی با انواع واکنش زنجیره‌ای پلیمراز
۶۱.....	آرتی پی سی آر (RT-PCR (Reverse Transcribed PCR))
۶۲.....	کاربرد RT-PCR
۶۲.....	تاج‌داون پی سی آر (Touch Down PCR)
۶۴.....	پی سی آر آشیانه‌ای (Nested PCR)
۶۶.....	مالتی پلکس پی سی آر (Multiplex PCR)
۷۱.....	واکنش زنجیره‌ای پلیمراز کمی (Q-PCR یا Quantitative-PCR)
۷۲.....	پی سی آر گرم‌آغاز (Hot-Start PCR)
۷۳.....	فصل سوم
۷۳.....	اجزای واکنش زنجیره‌ای پلیمراز
۷۳.....	آغازگرها (پرایمرها)
۷۳.....	غلظت آغازگرها در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز
۷۳.....	طراحی آغازگر
۷۴.....	فلوجارت جهت طراحی آغازگر

۸۰	 بسط آغازگر
۸۰	 نگهداری آغازگرها
۸۱	 فرمول‌های مفید در محاسبه غلظت آغازگرها
۸۲	 بافرها و سایر ترکیبات
۸۲	 غلظت منیزیم
۸۳	 نوکلئوتیدها (dNTP's)
۸۳	 آنزیم‌ها و غلظت آن
۸۵	 صحت عملکرد آنزیم‌های پلیمراز
۸۶	 منبع آنزیم‌های DNA پلیمراز
۸۶	 بهینه‌سازی واکنش زنجیره‌ای پلیمراز
۸۷	 چرخه‌های واکنش زنجیره‌ای پلیمراز
۸۹	 فصل چهارم
۸۹	 ارزیابی و بازیابی محصولات واکنش زنجیره‌ای پلیمراز
۸۹	 الکتروفورز ژل آگارز
۹۰	 الکتروفورز ژل پلی آکریل آمید (PAGE)
۹۱	 بافرهای مورد استفاده در الکتروفورز
۹۱	 الف) بافر الکتروفورز
۹۲	 ب) بافر بارگذاری
۹۲	 روئیت قطعه DNA
۹۳	 شرایط الکتروفورز
۹۴	 تهیه ژل آگارز و مشاهده قطعه تکثیر شده
۹۴	 روش کار برای تهیه ژل آگارز
۹۸	 بازیابی ژل
۱۰۰	 رنگ‌آمیزی ژل آگارز
۱۰۱	 فصل پنجم

۱۰۱	تعیین کمیت اسیدهای نوکلئیک
۱۰۱	تجزیه اسپکتروفترومتری اسیدهای نوکلئیک
۱۰۲	میزان فلوئورسنت حاصله از اتیدیوم بروماید
۱۰۳	فصل ششم
۱۰۳	نشانگرهای مولکولی
۱۰۳	الف) نشانگرهای همباز
۱۰۴	نشانگر آرافال پی RFLP
۱۰۴	RE (آنزیم‌های محدودالانتر)
۱۰۶	هضم DNA توسط اندونوکلازهای محدودالانتر
۱۰۶	نحوه برش DNA در آنزیم‌های محدودالانتر
۱۰۸	کاربردهای آنزیم‌های محدودالانتر
۱۱۰	نحوه نامگذاری آنزیم‌های محدودالانتر
۱۱۴	نشانگر تی آرافال پی T-RFLP
۱۱۵	چند شکلی نوکلئوتید منفرد SNP
۱۱۶	توالی‌های ساده تکرار شونده یا میکروستلایت‌ها
۱۱۸	نشانگر اسکار SCAR
۱۱۸	ب) نشانگرهای غالب
۱۱۹	نشانگر راپید RAPD
۱۲۰	نشانگر ای اف ال پی AFLP
۱۲۲	نقاط نشانمند از ردیف STS
۱۲۲	نشانگر ای ال پی ALP
۱۲۳	نشانگر پی اس تی EST
۱۲۳	هیبریداسیون
۱۲۴	ساترن بلات DNA-DNA
۱۲۵	نورترین بلات DNA-RNA

۱۲۶.....	وسترن بلات (WESTERN BLOT).....
۱۲۷.....	ریزآرایه.....
۱۳۰.....	فصل هفتم.....
۱۳۰.....	همسانه سازی.....
۱۳۱.....	همسانه سازی از طریق DNA مکمل یا cDNA.....
۱۳۳.....	فصل هشتم.....
۱۳۳.....	توالی یابی.....
۱۳۳.....	قواعد توالی یابی.....
۱۳۴.....	واکنش توالی یابی.....
۱۳۸.....	جداسازی مولکول ها در توالی یابی.....
۱۴۰.....	ردیابی روی یک توالی یاب اتوماتیک.....
۱۴۱.....	تجمع بخش های یک ژن توالی یابی شده.....
۱۴۵.....	هم ردیفی توالی ها.....
۱۴۸.....	فصل نهم.....
۱۴۸.....	کاربردهای اصلی نشانگرهای مولکولی در مطالعات اکولوژی حشرات.....
۱۴۸.....	برهم کنش حشرات و گیاهان میزبان.....
۱۵۱.....	برهم کنش حشرات و پاتوژن ها.....
۱۵۲.....	مقاومت به حشره کش ها.....
۱۵۳.....	روابط شکار - شکارگر - پارازیتوئید.....
۱۵۴.....	سیستماتیک مولکولی.....
۱۵۵.....	حشرات تراریخته (ترانسژنیک).....
۱۵۶.....	بررسی چند مقاله.....
۱۶۶.....	ضمایم.....
۱۶۶.....	بعضی از محاسبات و نکات لازم در آزمایشگاه زیست شناسی مولکولی.....
۱۶۶.....	تهیه محلول ها.....

الف: محاسبه مولار	۱۶۶
ب: محلول‌های درصدی	۱۶۶
ج: محلول‌های غلیظ (چند برابر غلظت)	۱۶۶
محاسبه ملاریته	۱۶۷
تهیه محلول‌های مورد استفاده در آزمایش‌ها از محلول‌های اولیه غلیظ	۱۶۸
نکات عمومی که در آزمایشگاه‌های زیست‌شناسی مولکولی بایستی به آنها توجه شود	۱۶۹
آشنایی با خطرات ناشی از کار با مواد شیمیایی مورد استفاده در آزمایشگاه‌های زیست‌شناسی مولکولی	۱۶۹
اشعه ماورای بنفش	۱۷۰
الکتریسته	۱۷۰
لوازم و وسایل پلاستیکی و شیشه‌ای	۱۷۰
دفع بافرها و مواد شیمیایی	۱۷۱
نکاتی که در حین کار با اسیدهای نوکلئیک بایستی توجه نمود	۱۷۱
آنزیم‌های محدودالانر	۱۷۲
تثبیت موجودات برای استفاده جهت بررسی‌های ژنتیک مولکولی	۱۷۲
بعضی از محلول‌ها و بافرهای مورد نیاز در آزمایشگاه‌های بیولوژی مولکولی	۱۷۳
روش‌های استخراج DNA	۱۹۸
استخراج و خالص‌سازی قطعه DNA از ژل آگارز	۲۱۱
مواد مورد نیاز و روش همسانه‌سازی	۲۱۴
رنگ‌آمیزی قطعه تکثیر شده جهت توالی‌یابی	۲۱۸
GLOSSARY	۲۲۰
منابع مورد استفاده	۲۲۸

پیشگفتار

پیشرفت‌های شگرف علمی در چند دهه اخیر در علم زیست‌شناسی ملکولی و ورود آن به عرصه‌های مختلف، نظر متخصصین و محققین مربوطه را در جهت بکارگیری این علم به خود جلب کرده است. رشته‌های مختلف کشاورزی از جمله گیاهپزشکی نیز از این قاعده مستثنی نبوده و کاربرد روش‌های این علم در بیماری‌شناسی و حشره‌شناسی کشاورزی به سرعت در حال پیشرفت است. بررسی‌های تاکسونومیک و فیلوژنتیکی، اکولوژیکی و فیزیولوژیکی حشرات بر پایه روش‌های زیست‌شناسی ملکولی چنان رو به گسترش است که امروزه کمتر مقاله‌ای را می‌توان یافت که از چنین تکنیک‌هایی سود نجسته باشد. استفاده از چنین روش‌هایی مستلزم داشتن آشنایی با این علم و نحوه استفاده و کاربرد آن در بخش‌های مربوطه دارد. کتابی که در پیش روست بطور مقدماتی به شرح روش‌های ملکولی و جنبه‌های کاربردی آن با در نظر گرفتن علم حشره‌شناسی می‌پردازد. مراجعات متعدد دانشجویان و پرسش‌های آنان در زمینه روش‌های بیوتکنولوژی نگارنده را بر آن داشت تا کتابی به زبان ساده و بر حسب نیازهای دانشجویانی که به تازگی وارد علم زیست‌شناسی ملکولی شده و اطلاعات اندکی در این زمینه دارند به رشته تحریر درآورد. بنابراین نگارش قسمت اعظم کتاب بر پایه سئوالات مکرری است که برای اغلب دانشجویان در آزمایشگاه درس کاربرد ژنتیک در حشره‌شناسی و سایر دروس مرتبط مطرح می‌شود. از این رو بر خلاف روش کتاب‌های موجود در نوشته حاضر سعی بر آن شده تا از تکرار مطالب پیچیده و بغرنج زیست‌شناسی ملکولی که کاربردی نیز برای این دسته از دانشجویان ندارد اجتناب نموده و صرفاً به کلیات بطور خلاصه و مفید پرداخته شود. کتاب‌های متعددی در زمینه زیست‌شناسی ملکولی به رشته تحریر درآمده است اما نگارنده در نوشته حاضر سعی بر آن داشته که مطالب را به ساده‌ترین وجه ممکن بیان نماید که امید است چنین باشد. کتاب حاضر نه تنها برای دانشجویان حشره‌شناسی بلکه برای سایر دانشجویان مبتدی نیز مفید خواهد بود و می‌تواند به عنوان یک دستورالعمل در کارهای آزمایشگاهی مورد استفاده قرارگیرد. نگارنده خود واقف است که مسلماً کتاب حاضر خالی از نقص نبوده بنابراین از خوانندگان گرامی انتظار دارد تا نظرات و پیشنهادات سازنده خود را جهت رفع نواقص و تکمیل مطالب کتاب منعکس نمایند. امید است در

ویرایش‌های بعدی مطالب جدیدتر و کامل‌تری از موضوعات مختلف به مطالب حاضر افزوده گردد. در پایان جای دارد از همکاران گرامی آقایان دکتر سیداکبر خداپرست، دکتر سالار جمالی و دکتر محمد قدمیاری که مشوق اینجانب در تهیه این کتاب بوده و نظرات اصلاحی خود را ارائه نموده اند تشکر و قدردانی نمایم. از آقایان دکتر بابک عبدالمهی و دکتر علی اعلمی، که زحمت داوری و ویرایش علمی کتاب را بر عهده داشته نیز کمال تشکر و امتنان را دارم.

رضا حسینی

عضو هیات علمی گروه گیاهپزشکی - دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان

پست الکترونیکی: Rhoseini@guilan.ac.ir , R_Hosseini@yahoo.com