
مبانی الکتروفورز

9

کاربرد آن در میکروب شناسی پزشکی

نویسندگان:

حمید لواحمسه

(دانشجوی کارشناسی ارشد باکتری شناسی دانشگاه علوم پزشکی کردستان)

عباس فراهانی

(دانشجوی دکترای تخصصی باکتری شناسی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز)

دکتر پرویز مهاجری

(استادیار دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه)

فرزان جراحی خامنه

(کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی دانشگاه فرگوسن و محقق مرکز ATG LAB هندوستان)

عنوان و نام پدیدآور	مبانی الکتروفورز و کاربرد آن در میکروپزشناسی پزشکی / نویسندگان حمید لواخمسه... و دیگران.
مشخصات نشر	تهران: انتشارات عمارت، ۱۳۹۳.
مشخصات ظاهری	۱۰۴ص: مصور (رنگی)، جدول.
شابک	۹۷۸-۹۶۴-۹۰۹۲۹-۲-۸
وضعیت فهرست نویسی	فیبا
یادداشت	نویسندگان حمید لواخمسه، عباس فراهانی، پرویز مهاجری، فرزانه جراحی خامنه.
یادداشت	کتابنامه.
موضوع	الکتروفورز
شناسه افزوده	لواخمسه، حمید، ۱۳۶۴ -
رده بندی کنگره	۷۹۹QD الف / ۱۳۹۳۸ ۲م
رده بندی دیویی	۵۴۱/۳۷
شماره کتابشناسی ملی	۳۶۵۰۳۰۶



مبانی الکتروفورز و کاربرد آن در میکروپزشناسی پزشکی

تألیف:	حمید لواخمسه - عباس فراهانی - دکتر پرویز مهاجری - فرزانه جراحی خامنه
ناشر:	انتشارات عمارت
نوبت چاپ:	اول / ۱۳۹۳
تیراژ:	۲۰۰ نسخه
حروفچینی:	موسسه مهراد
لیتوگراف:	باختر
چاپخانه:	مهر
مصحافی:	مهر
شابک:	۹۷۸-۹۶۴-۹۰۹۲۹-۲-۸
قیمت:	۷۵۰۰ تومان

کلیه حقوق این اثر برای انتشارات عمارت محفوظ است.

انتشارات عمارت: خیابان انقلاب - ابتدای خیابان فخررازی

پلاک ۸۵ - واحد ۷ - تلفن: ۱۷۲۰-۶۶۳۱-۶۶۴۸۸۵

مقدمه استاد:

در طی بیست سال گذشته پیشرفت های شگرفی در زمینه های مختلف علوم زیستی حادث شده است. در این بین ابزار مبتنی بر روش های ملکولی، کلیدی بر قفل های مطالعات اپیدمیولوژیک بوده است. PCR، سکونسیک، کلونینگ، PFGE و سایر تکنیک های ملکولی تحول عظیمی در علم میکروب شناسی ایجاد کرده اند. البته جهت انجام برخی از این روش ها نیاز به افراد با تجربه ضروری است و در کنار آن هزینه های بالا نسبت به روش های دیگر، مشکل ساز شده است ولی نمی بایست مزایای شگرف آنها را دور از ذهن تصور کرد. PFGE و سایر روش های مبتنی بر این تکنیک چند سالی است که با وجود اعمال تحریم های ناعادلانه از سوی غرب و اروپا در کشور عزیزمان ایران، جایگاه واقعی خود را یافته و نتایج مطالعات مربوطه در مجلات معتبر علمی توسط همکاران محترم به چاپ رسیده است. پیش بینی می شود که مشکلات پیش رو در به کارگیری این روش با همت جامعه علمی کشور به مرور زمان کاهش یابد. ارتباط بین صاحب نظران علوم مختلف زیستی و مهندسی در آینده نزدیک می تواند مشکلات مربوط به طراحی و ساخت دستگاه، تامین مواد اولیه آزمایش و نیز نرم افزارهای تجزیه و تحلیل داده را با توکل به خدا حل نماید.

در حال حاضر کتابی که در دسترس شما عزیزان است حاصل تلاش اساتید و دانشجویان علاقمند در زمینه PFGE است که بر خود واجب دانستند نتیجه تجربیات خود را به جامعه علمی ایران عرضه نمایند تا همکاران و علاقمندان محترم بتوانند در مدت زمانی کوتاه با مجموعه ای کامل از فوت و فن کار آشنا شوند. البته پر واضح است که این مقوله دارای کم و کاستی هایی نیز هست که انعکاس این موارد به نویسندگان کتاب می تواند این کتاب را در نسخه های بعدی کامل تر نماید. در پایان ضمن تقدیم این کتاب به شما عزیزان، امیدواریم رضایت شما را در خصوص آشنایی با PFGE و رفع مشکلات احتمالی کار با این تکنیک فراهم نماییم.

دکتر پرویز مهاجری

عضو هیات علمی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه

دیباچه:

آنان که ما به عنوان بزرگ و صاحب سبک می‌شناسیم تمام تلاششان این بود که به ما بگویند علم خریدنی نیست، فروشی نیست، کالایی برای داد و ستد نیست بلکه گوهری نفیس است که انسان را برای رسیدن به سعادت حقیقی راهنمایی می‌کند و نه تنها الگو، بلکه قانون را در زندگی انسان امروزی جاری می‌سازد، همانگونه که در گذشته جاری ساخت و در آینده نیز خواهد ساخت. به خاطر بسیار - زندگی بدون چالش، مزرعه بدون حاصل است و بدان که انسان برای حرکت آفریده شده است. زندگی ما با تولد شروع نمی‌شود؛ با تحول آغاز می‌شود - لازم نیست بزرگ باشی تا شروع کنی، شروع کن تا بزرگ شوی ... اگر قبل از رفتن کسی خوشبخت بودید؛ بعد از رفتنش هم می‌توانید خوشبخت باشید...

براستی که بلد با چراغ خاموش کاری ندارد؛ اگر در سختی هستی بدان که روشنی ... ما فقط برای یکبار جوان هستیم؛ ولی با یک تفکر غلط می‌توانیم برای همیشه نابالغ بمانیم. بخشش؛ گذشته را دگرگون نمی‌سازد؛ ولی سبب گشایش آینده می‌شود ... و در آخر؛ ما نمی‌توانیم تعیین کنیم چند سال زنده خواهیم بود؛ اما می‌توانیم تعیین کنیم چه مقدار از زندگی بهره ببریم. نمی‌توانیم تک تک اعضاء صورتمان را انتخاب کنیم اما می‌توانیم انتخاب کنیم که چهره مان چگونه به نظر برسد ... نمی‌توانیم پیش آمدن لحظات دشوار زندگی را متوقف کنیم؛ اما می‌توانیم تصمیم بگیریم زندگی را کمتر سخت بگیریم...

چگونه پیدایش باکتری سبب شکل گیری حیات شد؟

در دنیای قدیم تصور غالب این بود که در شرایط معینی موجود زنده از غیر زنده بوجود می‌آید ولی دانشمندان با آزمایش‌های خود نشان دادند که از غیر زنده موجود زنده ایجاد نمی‌شود و برای زایش موجود زنده حتماً موجود زنده لازم است. در این جا این پرسش پیش می‌آید که در ابتدای پیدایش زمین مسلماً زندگی وجود نداشته است و در آن زمان باید موجود زنده از غیر زنده بوجود آمده باشد، پس این چگونه بوده است؟!

در یک بیلیون سال اول دوران زندگی 4/5 تا ۵ بیلیون ساله زمین، هیچ گونه زندگی وجود نداشته است و در لایه‌های زمین اولین آثار یاخته‌های اولیه در حدود 3/8 بیلیون سال پیش پیدا شده است. در آن زمان جو زمین با شرایط کنونی کاملاً تفاوت داشت. محیط، احیاء کننده بوده و اثری از اکسیژن وجود نداشته است. جو زمین شامل متان، اتیدرید کربنیک (دی اکسید کربن)، آمونیاک، هیدروژن، ازت، و بخار آب بود. اکسیژن اگر بوجود می‌آمد توسط این مواد احیاء کننده خنثی شده و اگر چیزی می‌ماند به وسیله مواد زمینی مانند آهن و غیره جذب می‌گشت. در آن دوران رعد و برق در هوا فراوان بوده که به همراه پرتوهای ماوراء بنفش باعث ایجاد ترکیبات خاصی در جو زمین می‌شد.

در سال ۱۹۵۰ استانیلی میلر در امریکا برای بررسی این که چگونه ترکیبات زاینده زندگی در شرایط اولیه زمین می‌توانند بوجود آید، در یک محفظه، محیطی را که در جو آن زمان تصور می‌شد وجود داشته باشد، وارد کرده و در آن جرقه‌های الکتریکی ایجاد نمود که مانند رعد و برق‌های آن دوران زمین، در نظر گرفته می‌شد. پس از آزمایش، معلوم گردید که در آن محیط ترکیبات آلی متعدد؛ مانند سیانور، فرمالدئید، استالدئید و پروپیون آلدئید ایجاد گشته است. وقتی این مواد در آب حل شدند به اسیدهای آمینه، اسیدهای ساده، پورین‌ها و پیریمیدین‌ها که مصالح زندگی هستند، تبدیل شدند.

در واقع این اتمسفری بود که در ابتدای پیدایش زمین وجود داشت. در آن زمان آب بصورت بخار از منافذ زمین به فضا پاشیده و جو مملو بخار گشته که به علت وجود رعد و برق فراوان، مواد آلی که در آن ایجاد شده بودند همراه باران‌های فراوان طلائی رنگ به زمین رسیده و دریاها و به تدریج اقیانوس‌ها شکل گرفتند.

این مواد در آن زمان به سبب نبود اکسیژن و نیز فقدان موجود زنده که باعث تخریب آن‌ها شود دوامشان بسیار زیاد بوده و می‌توانستند با شکل‌گیری مکرر و حل شدن در آب، بسیار متراکم شده و به دلیل پلیمریزه شدن ملکول‌های بسیار بزرگ و به ویژه اسیدهای هسته‌ای را تشکیل دهند. قندها نیز که از مواد تشکیل دهنده یاخته هستند نیز از پلیمریزه شدن آلدئیدها ایجاد شدند. ترکیب با فسفات (فسفریلزاسیون) باعث ثبات بیشتر ترکیبات و تسهیل پولیمریزاسیون شد.

به تدریج، جمع شدن آب در برکه‌ها و بنجران باعث تراکم شدید مواد در آن‌ها گردیده که خود سبب ایجاد ترکیبات بیشتر و ایجاد ملکول‌های بزرگتر شد. به طور کلی می‌توان گفت پیش درآمد زندگی از جایی ایجاد شد که ملکول‌های هسته‌ای توانستند نمونه خود را ایجاد کنند. برای تکثیر اسیدهای هسته‌ای نیاز به آنزیم‌های ویژه‌ای است و از طرفی اسیدهای هسته‌ای باید وجود داشته باشد تا آنزیم‌ها از روی آن ساخته شود و این پرسش پیش می‌آید که به راستی کدام یک زودتر ایجاد شده است؟

دانشمندان دریافته‌اند که ملکول RNA می‌تواند نقش کاتالیزور را نیز ایفاء کند. حدس زده می‌شود که اولین اسیدهای هسته‌ای حامل اطلاعات RNA بوده اند که هم در تکثیر خود و هم در ایجاد سایر ترکیبات نقش داشتند به طور مثال با ایجاد ملکول‌های شبه چربی مواد سازنده پوسته را ساخته و نیز با ایجاد پروتئین، آنزیم‌های لازم را ساختند. RNA در محلول‌ها ثبات بیشتری از DNA دارد ولی پس از این که پوسته‌ای پیرامون یاخته را فرا گرفت و محیط داخلی یاخته از خارج جدا شد DNA جای RNA را می‌گیرد زیرا با ساختمان ویژه خود و دوگانگی مارپیچش ثبات بیشتری برای در برگیری اطلاعات ارثی دارد که سبب ایجاد وضعیت امروزی انتقال جریان اطلاعات از DNA به RNA و از آن به پروتئین می‌شود.

به طور کلی می‌توان گفت اولین یاخته از نوع ابتدایی در حدود 3/8 بلیون سال پیش ایجاد شد. باکتری‌ها از این گونه یاخته‌ها هستند. این یک مرحله سرنوشت ساز در زندگی زمین است. یاخته‌ها انرژی لازم برای بقا و تکثیر خود را از ملکول‌های آلی که در محیط وجود داشت بدست می‌آوردند. بوجود آمدن سبزینه بسیار مهم بوده و به این وسیله یاخته می‌توانست از انرژی خورشید برای اعمال حیاتی خود استفاده کند. در ابتدا، فتوسنتز، غیر هوازی بوده و البته هنوز بعضی از این یاخته‌های اولیه با فتوسنتز غیر هوازی باقی مانده اند. اکسیژن برای این‌ها سم است. سبزینه در این‌ها که به سبزینه باکتریایی معروف است با سبزینه عادی فرق داشته و رنگش نیز متفاوت می‌باشد.

باکتری‌های بی‌هوازی که وجود دارند عبارتند از باکتری‌های گوگردی سبز، باکتری‌های گوگردی ارغوانی و باکتری غیر گوگردی ارغوانی. باکتری‌های گوگردی برای احیاء CO_2 ، هیدروژن را از سولفید هیدروژن (SH_2) می‌گرفتند و گوگرد را آزاد می‌کردند ولی نوع غیر گوگردی از مواد دیگر مانند اتانول، اسید لاکتیک یا پیروویک و یا مستقیماً از هیدروژن آزاد استفاده می‌کنند. بسیاری از این یاخته‌ها، انرژی خورشید را گرفته و در جهت تولید ATP و سایر ملکول‌های مورد نیاز خود مصرف می‌نمایند. این گونه یاخته‌ها در ۳/۴ بلیون سال پیش بسیار فراوان بودند.

به وجود آمدن فتوسنتز هوازی در حدود ۲/۵ بلیون سال پیش رخداد سرنوشت ساز دیگر بود. در این پدیده سبزینه از هیدروژن آب استفاده می‌کند به این ترتیب که هیدروژن آن را می‌گیرد و اکسیژن را به عنوان یک ماده دافعه دفع می‌کند. یاخته‌های اولیه که فتوسنتز هوازی را آغاز کردند "سیانوباکترها" بودند. این پدیده باعث ایجاد اکسیژن در جو شده و هر چه زمان پیش رفت بر تراکم اکسیژن افزوده و در نتیجه وضع جهان کاملاً تغییر کرد. بسیاری از یاخته‌های موجود که اکسیژن برایشان سم بود از بین رفتند و یا تکامل پیدا کردند و به اکسیژن مقاوم شدند و حتی از اکسیژن برای سوخت و ساز کارآمدتر استفاده کردند.

در حدود ۱/۵ بلیون سال پیش افزایش اکسیژن در جو زمین باعث تکامل یاخته‌های کامل که خیلی بزرگتر بودند، شد. DNA در یاخته‌های ابتدایی بصورت دایره و بسته بوده است. در یاخته‌های تکامل یافته اگر DNA به همان صورت باشد و در موقع تکثیر بخواهد از یک نقطه شروع کند ساعت‌ها این فرایند طول می‌کشد. به این جهت در یاخته‌های تکامل یافته DNA بصورت کروموزوم‌های جدا از هم در آمده تا ضمن اینکه تقسیم سریع‌تر صورت می‌گیرد از گیر کردن آن‌ها نیز جلوگیری به عمل آید. این یاخته‌ها به دنبال مواد غذایی، ملکول‌های دیگر و نیز یاخته‌های کوچک ابتدایی را می‌بلعیدند و در حقیقت می‌توان آن را اولین شکارچی‌ها دانست. در ضمن بلعیدن یاخته‌های کوچک کشته شده به ندرت اتفاق می‌افتاد و به صورتی بود که یاخته بلعیده شده با یاخته بزرگ سازگاری برقرار کرده و به جای از بین رفتن در داخل یاخته بزرگ به زندگی خود ادامه می‌داد و به این ترتیب هر دو از وجود هم سود می‌بردند. میتوکندری و کلروپلاست را از

همین گونه می‌دانند. با ایجاد اکسیژن در جو در حدود ۱۳۰۰ میلیون سال پیش به دلیل تابیدن پرتوی ماوراء بنفش لایه ازن در طبقات بالا تشکیل شد. این لایه باعث جذب پرتوی ماوراء بنفش که مخرب DNA است و بر زندگی اثر کشنده دارد شده و به این ترتیب سبب شد که موجودات بتوانند در خشکی بوجود آیند و به این ترتیب می‌توان تشکیل اولین آثار موجودات پریاخته‌ای را در حدود یک بلیون سال پیش تخمین زد. بتدریج این موجودات متنوع شده و ضمن تحول و تکامل بیشتر توانستند با حرکت به سمت خشکی به شرایط امروزی برسند.

تمام یاخته‌های ابتدایی به وسیله تقسیم کروموزوم خود، تکثیر می‌شدند. گاه اتفاق می‌افتاد که کروموزوم تقسیم می‌شد ولی یاخته تقسیم نمی‌شد و به ترتیب دارای تعداد زوج کروموزوم می‌شد که به آن دیپلوئید گفته می‌شود (در مقابل تعداد فرد که به آن‌ها هاپلوئید گفته می‌شود). این پدیده سبب ثبات یاخته می‌شود زیرا نقص یک کروموزوم را زوج آن می‌تواند جبران کند. در این رابطه گاه دو یاخته می‌توانند با هم جمع شوند و یک یاخته دیپلوئید درست کنند که باعث قوام بیشتر یاخته شده و این در واقع یک تولید مثل جنسی است. در جانوران بالاتر تولید مثل به صورت جنسی است که باعث تنوع آن و در طول زمان باعث تکامل می‌شود.

این پرسش ممکن است پیش آید که اگر در چند بلیون سال پیش زندگی از غیر زنده بوجود آمده چرا بعداً این کار انجام نشده است؟

پاسخ آن است که اولاً به دلیل وجود اکسیژن، اکسیده شده مواد آلی نمی‌تواند با آن تراکم اولیه به وجود آیند و از بین می‌روند و علت دیگر این که موجودات زنده و به ویژه تک یاخته‌ها، آن‌ها را از بین می‌برند و یا به صورت مواد غذایی از آن‌ها استفاده می‌کنند و به عبارت دیگر زندگی مانع زایش زندگی جدید می‌شود. دوران طولانی آغاز ایجاد زمین تا پیدایش اولین یاخته که به مدت بیش از یک بلیون سال به طول انجامید بر خلاف ظاهر آن نشان از پیچیدگی‌های این پدیده، یاخته و تشکیلات آن دارد.

یک بلیون سال دیگر طول کشید تا فتوسنتز بوجود آمده و در حدود یک بلیون سال دیگر یاخته‌های تکامل یافته به وجود آمدند که مانند یاخته‌های جانوران و گیاهان امروزی است. اولین آثار موجودات پرسلولی در حدود یک بلیون سال پیش پیدا شد و تکامل از آن زمان تا پیدایش موجودات عالی امروزی در ظرف این یک بلیون سال آخر صورت پذیرفت.

با کشف راز DNA مشخص است که رمز تمام این تحویل و تحولات در ملکول DNA نهفته است و این رمز در ترتیب قرار گرفتن فقط چهار پایه در این ملکول است و این بسیار حیرت آور می‌باشد که همانند کامیوتر این همه اطلاعات فقط در دو رقم ۰ و ۱ و ترتیب قرار گرفتن آن‌ها قرار داشته باشد و در یک چنین ترتیب ظاهراً ساده‌ای رمز میلیون‌ها موجود گوناگون و پیچیده نهفته است. خاصیت مهم موجود زنده تولید مثل است که پایه آن بر تکثیر DNA است که می‌تواند مشابه خود را ساخته و در این کار نباید اشتباه کند و DNA نیز در این راه نهایت سعی را دارد ولی به هر

حال این اشتباه در هر چند میلیون تقسیم DNA یک بار بوجود می‌آید و نتیجه آن "جهش" و تغییر صفتی است که DNA معرف آن می‌باشد.

موجودات در طی زمان مدیدی تکامل یافته و به طور کلی قابلیت بالایی در تطابق و سازگاری با محیط اطراف خود دارند. این بدان معنی نیست که DNA آگاهانه تغییری در خود داده است که صفتی مطلوب برای زندگی موجود در محیط بوجود آورد بلکه تغییرات بطور اتفاقی در جهات مختلف بوجود می‌آید و اغلب زیانبخش نیز می‌باشند و چون قابل دوام نبوده و یا صفت ایجاد شده مطلوب محیط نیست از بین می‌روند ولی اگر صفت مطلوب محیط بوده و یا طوری باشد که موجود را برای زندگی در آن محیط کارآمدتر کند خواه ناخواه موجب غلبه موجود بر محیط و بس زدن دیگران می‌شود، بنابراین باید جهش‌های بیشماری انجام شود تا اتفاقاً یکی از آن‌ها مطلوب محیط واقع شده و تشدید شود و به این ترتیب تکامل پیش رود.

www.ketab.ir

مقدمه مولفین:

راستی هیچ فکر کرده ای، یک درخت توی باغ آسمان چه قدر دیدنی است؟ ریشه‌های ما اگرچه سست شده اند، اما حقیقت نزدیک است بسان جزیره‌ای که دریا با تمام عظمت و قدرتش نمی‌تواند آن را بپوشاند...

امروزه علم میکروب شناسی وارد حیطه‌ای از دنیای دانش شده است که علاوه بر مسائل تئوری و عملی روتین نیاز به بیان چشم اندازه‌های فراتر از محدوده تشخیصی است به طوری که امروزه مرزهای جدیدی از جمله پالس فیلد ژل الکتروفورز (PFGE)، بیوفیلیم، نانوباکتر و ... به روی این علم گشوده شده است که دید ما را از فرآیندهای بیولوژیک، فیزیولوژیک و پاتولوژیک به طور بهینه‌ای افزایش داده است.

"روش PFGE" یکی از مهمترین و بهترین روش‌های موجود برای بررسی شیوع بیماری‌ها از لحاظ اپیدمیولوژیک می‌باشد. امروزه این روش، کاربردهای بسیار فراوانی از جمله قدرت تشخیصی بالا در تمایز سویه‌ها دارد. اگرچه کتاب‌های متعددی در زمینه PFGE و کاربردهای آن در سراسر دنیا نگاشته شده است، اما به دلیل نبود کتابی جامع در زمینه اصول این تکنیک و کاربردهای آن در علم پزشکی که در دسترس دانش پژوهان کشور عزیزمان قرار گیرد، بر آن شدیم که کتاب حاضر را با استفاده از بروزترین اطلاعات و منابع در زمینه پالس فیلد به عنوان اولین کتاب فارسی در این حیطه تالیف نماییم. با مطالعه این کتاب خواهید دید که کتاب با زبانی ساده و روان، بیان شده و می‌تواند برای تمام گروه‌های مرتبط با حوزه تکنیک‌های مولکولی و اپیدمیولوژیک قابل فهم و جذاب باشد.

روال کتاب بدین گونه است که ابتدا با مقدمه‌ای از تکنیک الکتروفورز شروع شده، خصوصیات کاربردها و ویژگی‌های آن را تشریح کرده، سپس اجزای دستگاه و تکنیک پالس فیلد به همراه تصاویری که غالباً توسط مولفین هنگام کار با دستگاه گرفته شده را به طور کامل توصیف نموده و در ادامه، انواع کاربردها و مراحل انجام تکنیک PFGE را بیان می‌کند و در نهایت به توضیح بهترین، مناسب ترین و کاربردی ترین پروتوکل‌های قابل اجرا در باکتری‌های گرم مثبت و منفی که یافتن این پروتوکل‌ها یکی از معضلات پژوهشگران است، می‌پردازد. همچنین در انتهای کتاب تلاش مولفین بر این امر بوده است که تعدادی از مشکلات و ابهامات محققین در زمینه تکنیک PFGE را با استفاده از طرح پرسش‌های متنوع و پاسخ به آنها برطرف نماییم.

در پایان از آقایان ایوب رستم زاده و عبدالله خوجه، سرکار خانم پریسا اسماعیلی و برادر خویم حامد لواخمس که پیوسته اینجانب را مورد لطف و عنایت خود قرار داده و بسان خورشید، بنده را راهنمایی فرمودند و همچنین از پیگیری‌های بی‌دریغ جناب آقای دکتر رشید رمضان زاده مدیر گروه محترم دپارتمان میکروب‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی کردستان در امر چاپ و نشر این اثر کمال تشکر و قدردانی را دارم.

مولفین

۱۳۹۳/۶/۲۰

فهرست مندرجات

فصل یک.....	۱۵
اصول و مبانی الکتروفورز.....	۱۵
مقدمه:.....	۱۶
آماده سازی و راه اندازی ژل آگارز برای بررسی و تفکیک نمونه ها.....	۱۷
۶- مارکر مولکولی.....	۲۱
کاربرد سایر گرین در مطالعات و بررسی های مولکولی.....	۲۴
معرفی ماده اتیدیوم بروماید.....	۲۵
دفع ژلهای الکتروفورز.....	۲۶
دفع زائادات با غلظت کمتر از ۱٪ درص اتیدیوم بروماید:.....	۲۶
دفع زائادات با غلظت بیش تر یا مساوی ۰/۱ درصد:.....	۲۷
ژل های الکتروفورز که شامل سر سوزن نباشد:.....	۲۷
برچسب گذاری:.....	۲۷
دفع:.....	۲۷
محلول های اتیدیوم بروماید.....	۲۷
ج) خنثی سازی شیمیایی:.....	۲۹
سه روش برای خنثی و غیر فعال سازی وجود دارد:.....	۳۰
دست کش ها، تجهیزات و باقی مانده ها.....	۳۱
لوازم و تجهیزات نوک تیز آلوده آزمایشگاهی.....	۳۱
بودر و اشکال کریستالی.....	۳۱
ویژگی های سایبر گرین.....	۳۱
مزایای استفاده از سایبر گرین.....	۳۲
انواع ژل الکتروفورز.....	۳۳
خصوصیات کلی آگارز و پلی آکریل آمید.....	۳۳

۳۳	الکتروفورز ژل آگارز:
۳۵	الکتروفورز پلی آکریل آمید
۳۷	غلظت ژل
۳۷	غلظت ژل آگارز:
۳۷	غلظت ژل پلی آکریل آمید:
۳۸	سیستم بافرهای الکتروفورز
۳۸	سیستم‌های بافری جداکننده - غیر جداکننده:
۳۹	سیستم بافری پیوسته و ناپیوسته:
۴۰	لودینگ بافر یا لودینگ دای
۴۰	ولتاژ الکتروفورز
۴۱	مشاهده DNA
۴۱	رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید (EBS)
۴۱	رنگ آمیزی نقره (SS):
۴۱	نتیجه گیری نهایی
۴۳	فصل دو
۴۳	الکتروفورز میدان پالسی
۴۳	مقدمه:
۴۴	معرفی تکنیک
۴۵	هدف انجام تکنیک
۴۵	اصول تکنیک
۴۸	کاربردهای تکنیک PFGE
۵۱	انواع روش‌های PFGE
۶۴	ابزار و تجهیزات
۷۵	عوامل مؤثر بر قدرت تفکیک در الکتروفورز میدان پالسی
۷۶	عوامل محیطی:
۷۸	شرایط راه اندازی و عملکرد دستگاه PFGE

۸۳	ارزیابی کیفیت کلی ژل
۸۳	تفسیر ظاهری:
۸۳	معیارهای مورد نیاز برای تفسیر نتایج PFGE
۸۴	آنالیز الگوی حاصل از هضم با آنزیم محدودکننده و قراردادن ایزوله‌ها در طبقات مرتبط
۸۴	طبقه بندی ارتباط اپیدمیولوژیک و ژنتیک
۸۶	تیپ بندی ایزوله‌های اسیتوباکتر بومانی
۸۷	اصول، مقدمات و نحوه انجام تکنیک
۸۷	تهیه نمونه برای انجام روش PFGE
۸۸	پروتوکل و دستورالعمل انجام الکتروفورز میدان پالسی (PFGE)
۸۸	پروتوکل باکتری‌های گرم منفی
۸۹	نحوه انجام و مراحل تکنیک
۹۱	الکتروفورز نمونه ها:
۹۲	پروتکل اختصاصی نمونه‌های اسیتوباکتر، اشرشاکلی و سودوموناس:
۹۲	آماده سازی سوسپانسیون باکتری
۹۲	تهیه پلاگ
۹۳	هضم آنزیمی ایزوله‌های اسیتوباکتر
۹۴	الکتروفورز
۹۴	رنگ آمیزی
۹۴	پروتکل باکتری‌های گرم مثبت
۹۴	مراحل آماده سازی سوسپانسیون باکتری استافیلوکوک:
۹۶	هضم آنزیمی
۹۶	الکتروفورز:
۹۷	رنگ آمیزی ژل با اتیدیوم بروماید:
۹۸	سوالات:
۱۰۵	منابع