

برنام آن که جان را فکرت آموخت  
چراغ دل به نور جان برافروخت

## مبانی PCR و طراحی پرایمر (مقدماتی، پیشرفته)

قابل استفاده برای کلاس:

زیست شناسی مولکولی، آزمایشگاه بیوانفورماتیک، آزمایشگاه ژنتیک، آزمایشگاه کشت بافت و  
بیوتکنولوژی مقدماتی و سایر دروس مرتبط با مباحث مولکولی و بیوانفورماتیک

مؤلفین:

مهندس حسن رسولی

مرکز تحقیقات بیولوژی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کاشان

دکتر مصطفی حاجی ملاحسینی

استادیار گروه ایمونولوژی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

مهندس مهران فلک ناز

دانشجوی دکتری اصلاح نباتات دانشگاه گیلان

مهندس بهمن فاضلی نسب

عضو هیئت علمی پژوهشکده زیست فناوری کشاورزی دانشگاه زابل

معصومه لولایی

کارشناس ارشد ژنتیک دانشگاه علوم تحقیقات تحقیقات تهران

|                     |                                                                                       |
|---------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| عنوان و نام پدیدآور | : مبانی PCR و طراحی پرایمر (مقدماتی، پیشرفته) // مولفین حسن رسولی ... [ و دیگران ] .  |
| مشخصات نشر          | : تهران: آثار سبحان، انتشارات یاررس ۱۳۹۴.                                             |
| مشخصات ظاهری        | : ۳۶۶ ص:، جدول، نمودار.                                                               |
| شابک                | : 978-600-6531-86-1                                                                   |
| وضعیت فهرست نویسی   | : فیا                                                                                 |
| یادداشت             | : مولفین حسن رسولی، مصطفی حاجی ملاحسینی، مهران فلکناز، بهمن فاضلی نسب، معصومه لولایی. |
| موضوع               | : واکنش زنجیره ای پلیمراز                                                             |
| موضوع               | : واکنش زنجیره ای پلیمراز — روش ها                                                    |
| موضوع               | : ژنیک — مهندسی — نرم افزار                                                           |
| شناسه افزوده        | : رسولی، حسن، ۱۳۶۸ -                                                                  |
| ردمبندی کنگره       | : ۱۳۹۴ و ۶۰۶/۲ QP                                                                     |
| ردمبندی دیویی       | : ۴۳/۴۳                                                                               |
| شماره کتابشناسی ملی | : ۴۰۹۰۶                                                                               |

## مبانی PCR و طراحی پرایمر (مقدماتی، پیشرفته)

رسولی، حاجی ملاحسینی، فلکناز، فاضلی نسب، لولایی

انتشارات آثار سبحان (با همکاری انتشارات یاررس)

محمد ایمانی

اول / ۱۳۹۴

۵۰۰ نسخه

سبحان

۲۲۵۰۰ تومان

۹۷۸-۶۰۰-۶۵۳۱-۸۶-

نام کتاب :

مولفان و گردآوردگان:

ناشر:

صفحه آرای:

نوبت و سال چاپ :

تیراژ:

چاپ:

قیمت:

شابک:

www.asaresobhan.com

mail: Info@asaresobhan.com

asaresobhan2000@yahoo.com

## مرکز پخش: انتشارات آثار سبحان و یاررس

تهران: میدان انقلاب، خیابان انقلاب، نرسیده به خیابان ۱۲ فروردین،

ساختمان ولی عصر (عج) پلاک ۱۳۱۴، طبقه دوم

تلفن: ۶۶۴۹۳۷۹۶-۶۶۹۷۱۰۴۰ - ۶۶۹۷۱۱۱۲

## فروشگاه

تهران: میدان انقلاب، خیابان انقلاب، روبروی دبیرخانه دانشگاه تهران،

پاساژ کتابسرای اندیشه، کتابفروشی آثار سبحان

تلفن: ۶۶۴۱۸۱۹۲

تمامی حقوق مادی و معنوی این اثر برای ناشر محفوظ می باشد.

## سخنی با خوانندگان

امروزه دانش بیوانفورماتیک نقش بسزایی را در پیشبرد اهداف کلیدی در زمینه مهندسی ژنتیک و زیست‌شناسی مولکولی دارا می‌باشد. ابزارهای بیوانفورماتیکی شامل مجموعه‌ای از نرم‌افزارها و سخت‌افزارهایی است که با استفاده از آنها داده‌های زیستی در قالب مدل‌های مفهومی دسته‌بندی و تفکیک می‌گردند. از طرف دیگر پیشرفت‌های اخیر در حوزه اینترنت، به‌خصوص در چند سال اخیر سبب گردیده است تا بسیاری از پایگاه‌های اطلاعاتی بیوانفورماتیکی قدرتمند در اختیار کاربران قرار گیرد و کاربران بتوانند با استفاده از این پایگاه‌های اطلاعاتی نیازهای بیوانفورماتیکی خود را برطرف نمایند. در واقع می‌توان گفت که اینترنت نقش کلیدی را در توسعه دانش بیوانفورماتیک دارا می‌باشد. اینترنت نه تنها ابزاری برای انتقال اطلاعات زیستی و توسعه نرم‌افزارهای بیوانفورماتیک می‌آید، بلکه محققان را قادر می‌سازد که تحلیل‌های پیچیده‌ای را با دسترسی به پایگاه‌های اطلاعاتی سرتاب جهان انجام دهند. از طرف دیگر توجه به این نکته اساسی و مهم که واکنش PCR اساس مطالعات مولکولی می‌باشد، توسعه روش‌های هدفمند برای طراحی آغازگر برای انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمرز ضروری به نظر می‌رسد. امید است که مطالب مندرج در این کتاب بتواند بخشی از نیازهای بیوانفورماتیکی جامعه علمی ایران را در ارتباط با طراحی آغازگر با استفاده از ابزارهای بیوانفورماتیک را مساعد سازد.

کتاب حاضر، اصول طراحی پرایمر را روشی ساده و مصور توصیف می‌نماید. به منظور درک کامل خوانندگان گرامی از اصول طراحی پرایمر، روش‌های مورد استفاده را این‌گونه با ذکر جزئیات شرح داده شده است. این کتاب نتیجه تلاش دانشمندان و محققانی است که با تلاش‌های بی‌وقفه خود راه علم را هموار نموده‌اند و همواره خود را مدیون پژوهشگرانی می‌دانم که از مطالبشان در تهیه این کتاب استفاده کردم. همچنین رزحات و کمک‌های بی‌دریغ آقای جعفری ریاست محترم انتشارات آثار سبحان، برای حمایت از این اثر و چاپ و پخش جدید آن کمال تشکر و قدرانی را دارم. از آقای مهندس محمد ایمانی که صفحه‌آرایی و تنظیم این اثر را بر عهده داشته‌اند، کمال تشکر و قدرانی را دارم. از دوستان فرزانه و دانشمندان به‌خصوص آقایان محمدحسین رضائی بونش، حمید سلیمی، حامد حسینی، مسعود دهقان و محمدحامد صالحی بخاطر همراهی‌های بی‌دریشان در زمان نگارش این مجموعه نهایت سپاسگذارم. سرداران را دارم. همچنین از دوستان بی‌نهایت عزیزم آقایان امین صفایی، وحید سبزی و احمدرضا کردیانی بخاطر حمایت‌ها، تشویقات، انتقادات و پیشنهادات خود را از طریق رایانامه‌ها دارم. در نهایت امید است این اثر مورد استفاده دانشجویان و علاقه‌مندان به یادگیری اصول طراحی پرایمر قرار گیرد. از تمامی صاحب‌نظران، اساتید، دانشجویان و خوانندگان این کتاب خواهشمند است نظرات، انتقادات و پیشنهادات خود را از طریق رایانامه [Supportonline@chmail.ir](mailto:Supportonline@chmail.ir) یا [h3n.rasouli@gmail.com](mailto:h3n.rasouli@gmail.com) برای بهبود مطالب کتاب حاضر، به‌پای‌های بعدی برای ما ارسال نمایند. این اثر به صورت آنلاین نیز از طریق نرم‌افزار سامانه پشتیبانی در قالب سیستم اندروید پشتیبانی می‌شود. خوانندگان عزیز می‌توانند با استفاده از نرم‌افزار سامانه پشتیبانی در کمتر از ۲۴ ساعت مشکلات خود را در رابطه با مباحث مطرح شده در این کتاب برطرف نمایند.

مهندس حسن رسولی

مرکز تحقیقات بیولوژی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه

## گفتار نخست

اختراع روش PCR به عنوان دستگاه فتوکپی مولکول‌های DNA، توسط کری مولیس، انقلاب بزرگی را در دانش مهندسی ژنتیک و زیست‌شناسی مولکولی ایجاد کرد. در واقع می‌توان گفت این روش پایه اکثر پیشرفت‌هایی است که در سال‌های اخیر در این علوم حاصل شده است. در واکنش PCR صرفاً با دانستن توالی یک ژن و سازمان عمل آن می‌توان مقادیر میکروگرم از توالی‌های خاص اسیدنوکلئیک را از هر بخش از ژنوم تولید نمود. اساس روش PCR سنتز آنزیمی یک رشته از مولکول‌های DNA با استفاده از آنزیم DNA پلیمرز می‌باشد که این فرآیند در چرخه‌های حرارتی متفاوتی تکمیل می‌گردد. تمامی قوانینی که در رابطه با همانندسازی DNA در درون سلول‌های زنده وجود دارد، در رابطه با واکنش PCR صادق است، با این تفاوت که واکنش PCR در درون سلول‌های زنده صورت نمی‌پذیرد. مراحل انجام واکنش PCR برای تکثیر قطعات DNA در درون دستگاهی به نام سیکلر حرارتی یا Thermal Cycler صورت می‌پذیرد. کارایی درست واکنش زنجیره‌ای پلیمرز منوط به استفاده از آغازگرها، است. به صورت اختصاصی زمینه تکثیر ناحیه هدف را فراهم می‌نماید. آنچه که در واکنش PCR از اهمیت فراوانی برخوردار می‌باشد، این است که وجود توالی‌های کوتاه آغازگر برای انجام واکنش بسیار ضروری می‌باشند. در واکنش PCR آغازگرها با فراهم کردن انتهای ۳' آزاد در مولکول‌های DNA، آنزیم DNA پلیمرز را قادر می‌سازند که فرآیند طولی سازی و بسط ناحیه هدف را انجام دهد. امروزه در تمامی آزمایشگاه‌های مولکولی از روش PCR به عنوان یک روش و تکنیک قدرتمند آزمایشگاهی جهت تکثیر توالی‌های خاصی از DNA استفاده می‌شود. دو ویژگی کاربردی تکنیک PCR یعنی در دسترس بودن آنزیم DNA پلیمرز مقاوم به حرارت و حداکثر کارایی چرخه دمایی دستگاه سایکلر، سبب شده است تکنیک PCR به عنوان یک تکنیک معمول و پرکاربرد در آزمایشگاه مورد استفاده محققین علوم زیستی و پزشکی قرار گیرد. در واکنش PCR آغازگرها دارای نقش حیاتی در تکثیر قطعات «خوا» DNA محسوب می‌شوند. در واقع آغازگرها با فراهم نمودن بستره‌ی مورد نیاز برای تکثیر ناحیه هدف توسط آنزیم DNA، راز اختصاصی زمینه را برای تولید میلیون‌ها فرآورده تکثیری از یک ناحیه خاص از ژنوم را فراهم می‌نمایند. آغازگرهای مورد استفاده در واکنش PCR به سه صورت محلول آبی، پودر خشک یا محلول در آمونیوم تهیه می‌شوند. نمونه‌های تجاری پرایمرهای PCR به صورت پودر خشک یا محلول در آب می‌باشند. پرایمرهایی که در شرایط آزمایشگاهی سنتز می‌شوند، معمولاً به صورت محلول در آمونیوم ساخته می‌شوند. عدم رعایت شرایط استاندارد برای طراحی آغازگرها قبل از انجام واکنش PCR، سبب بسط غی، اختلال و عدم حصول نتایج قابل اطمینان می‌شود. با تأکید بر این موضوع و اهمیت طراحی آغازگر برای واکنش PCR، مجموعه‌ای از جدیدترین منابع در ارتباط با واکنش PCR، برای علاقه‌مندان به یادگیری اصول طراحی پرایمر تدوین شده است. با توجه به اینکه چاپ اول این مجموعه با عنوان "اصول طراحی پرایمر" توسط انتشارات مانی صورت گرفته است، در مجموعه حاضر سعی شده است تمامی سرفصل‌ها و مباحث طرح شده در مجموعه‌ی قبلی بروزرسانی شود و مطالب جدیدتری نیز به آن اضافه شود. با توجه به استقبال دانشجویان و محققین از چاپ اول این مجموعه و همچنین نظرات سازنده‌ای که از طرف اساتید و صاحب‌نظران برای بهبود کیفیت مطالب مندرج در کتاب برای مولف ارسال گردید، مطالب جدیدتری به این مجموعه افزوده گردید، و تمامی ابهاماتی که از سوی خوانندگان عزیز مطرح شده بود، برطرف گردید. همچنین برای اولین بار در ایران این کتاب نیز با بهره‌گیری از تکنولوژی‌های جدید آموزشی فیلم‌ها و انیمیشن‌های کاربردی مرتبط با هر مبحث کتاب در قالب کدهای قابل اسکن QR به مطالب کتاب اضافه شده است. هدف از این نوآوری و خلاقیت افزایش بیشتر کیفیت مطالب مندرج در کتاب حاضر می‌باشد. خوانندگان عزیز این کتاب می‌توانند با استفاده از نرم افزار سامانه پشتیبانی کتاب که برای سیستم عامل اندروید توسط مولف کتاب طراحی شده است، در هر ساعت از شبانه روز، مشکلات احتمالی خود را در رابطه با این کتاب برطرف نمایند و با مولف کتاب در تماس باشند. همچنین خوانندگان عزیز می‌توانند با مکاتبه با ایمیل پشتیبانی به آدرس (Supportonline@chmail.ir) فایل نرم‌افزارهای مورد نیاز خود را در رابطه با مباحث مطرح شده در این کتاب دریافت نمایند.

## چگونه از این کتاب باید استفاده کرد؟

با توجه به اینکه کتاب حاضر اولین کتاب بیوانفورماتیک دیجیتال با سامانه پشتیبانی آنلاین در ایران می‌باشد، لذا تمامی خوانندگان این کتاب برای تفهیم بهتر مطالب ذکر شده در این کتاب می‌توانند از طریق برقراری ارتباط با سامانه پشتیبانی کتاب مشکلات خود را در زمینه PCR و طراحی پرایمر برطرف نمایند. برای استفاده از خدمات سامانه پشتیبانی آنلاین کتاب حاضر ابتدا بایستی نرم‌افزار پشتیبانی کتاب را که برای سیستم عامل اندروید طراحی شده است بر روی گوشی خود نصب نمایید سپس از طریق امکانات موجود در این نرم‌افزار تمامی مشکلات و ایرادات خود را برطرف نمایید. همچنین این کتاب برای اولین بار از یک شیوه‌ی نوین آموزشی برای آموزش مطالب ذکر شده به خوانندگان عزیز استفاده شده است. شیوه‌ی آموزش به این صورت است که برای مباحث مختلف کتاب از فیلم‌ها و انیمیشن‌های مختلف استفاده شده است. با مطالعه‌ی هر بخش می‌توان فیلم مربوط به آن بخش را نیز مشاهده کرد تا تفهیم مطالب ارائه شده به سهولت انجام گیرد. برای دریافت نرم‌افزار سامانه پشتیبانی آنلاین کتاب حاضر کد QR زیر را اسکن نمایید.



این کتاب می‌تواند به عنوان منبع مناسب در راستای دروس کاربرد کامپیوتر در علوم زیستی، آزمایشگاه بیوانفورماتیک، آزمایشگاه ژنتیک، آزمایشگاه کشت بافت و بیوتکنولوژی مقدماتی و سایر دروس مرتبط با مباحث مولکولی و بیوانفورماتیک هستند توسط اساتید، مدرسان، مجریان برگزاری دوره‌های آموزشی مورد استفاده قرار گیرد.

پسورد فایل نرم‌افزار سامانه پشتیبانی: ۱۲۳۴۵۶۷۸

### خواننده گرامی سلام

از این‌که به جای کپی‌برداری از این کتاب، آن را خریداری نموده‌اید و باعث ضرر و زیان نویسنده کتاب و انتشارات مربوطه نشده‌اید، از شما سپاسگزاریم.

لطفاً پیغام ما را به کسانی که از کتاب کپی‌برداری می‌کنند برسانید: کپی‌برداری از کتابی که با زحمت فراوان تهیه شده و با هزینه زیاد به چاپ رسیده است، موجب ضرر و زیان نویسنده و انتشارات مربوطه می‌شود.

همچنین، دریافت هزینه کتاب حق شرعی و قانونی نویسنده کتاب و انتشارات آن می‌باشد نه حق فردی که یک دستگاه چاپ و تکثیر خریده است و اکنون از طریق آن سود می‌برد.

و در ضمن، با کپی کردن کتاب باعث می‌شوند ناشر و مولف زیان ببینند و حتی باعث ورشکستگی شود. در نتیجه دیگر کتابی ترجمه، تالیف و تولید نخواهد شد!

امیدوارم موفق باشید

انتشارات آفراسیابان

# فهرست مطالب

|     |                                                         |    |                                                     |
|-----|---------------------------------------------------------|----|-----------------------------------------------------|
| ۵۷  | استفاده از کنترل داخلی در PCR                           | ۱  | <b>فصل ۱: واکنش زنجیره‌ای پلیمرز</b>                |
| ۵۷  | همسانه‌سازی فرآورده‌های PCR                             | ۱  | مقدمه و تاریخچه                                     |
| ۵۸  | خالص کردن محصولات PCR                                   | ۳  | مروری خلاصه بر ساختمان ماده‌ی ژنتیکی                |
| ۵۸  | روش Clean Up                                            | ۷  | اشکال مختلف DNA در درون سلول                        |
| ۵۹  | استفاده از کیت‌های تجاری برای خالص‌سازی DNA             | ۱۰ | کلاس‌های مختلف DNA                                  |
| ۵۹  | تولایی محصولات تکثیر PCR                                | ۱۲ | اجزای اصلی PCR                                      |
| ۶۰  | تنوع ژنتیکی و PCR                                       | ۱۲ | رشته الگو                                           |
| ۶۱  | نشانگرهای مولکولی مبتنی بر PCR                          | ۱۳ | تعیین کمیت DNA                                      |
| ۶۷  | سیکل حرارتی تکنیک AFLP-PCR                              | ۱۵ | تعیین کیفیت DNA                                     |
| ۶۹  | هضم آنزیمی و اجزای بافر واکنش در تکنیک AFLP-PCR         | ۱۵ | بافر واکنش و یون منیزیم، کلرید (MgCl <sub>2</sub> ) |
| ۷۱  | مارکرهای RAPD                                           | ۱۶ | محلول‌های پیش آمیخته برای واکنش PCR                 |
| ۷۵  | سیکل حرارتی PCR در تکنیک RAPD                           | ۱۶ | دئوکسی نوکلئوتید تری فسفات یا dNTP                  |
| ۷۵  | اجزای بافر واکنش PCR در تکنیک RAPD                      | ۱۷ | نوکلئوتیدهای تغییر شکل یافته                        |
| ۷۷  | آنالیز داده‌های پلی مورفیسم ژنتیکی                      | ۱۷ | آغازگرها                                            |
| ۷۹  | مارکرهای SCAR                                           | ۱۸ | آنزیم DNA پلیمرز                                    |
| ۸۰  | سیکل حرارتی PCR در تکنیک SCAR                           | ۲۲ | روغن‌های معدنی                                      |
| ۸۰  | اجزای بافر واکنش PCR در تکنیک SCAR                      | ۲۲ | وسایل مصرفی و دستگاه‌های مورد نیاز                  |
| ۸۱  | مارکرهای مینی ساتلایت                                   | ۲۴ | دستگاه ترموسایکلر                                   |
| ۸۲  | مارکرهای SSR                                            | ۲۴ | اثر مواد شیمیایی بر روی واکنش PCR                   |
| ۸۵  | سیکل حرارتی PCR در تکنیک SSR                            | ۲۶ | مراحل واکنش PCR                                     |
| ۸۷  | مارکرهای ISSR                                           | ۲۷ | آشکارسازی محصولات PCR                               |
| ۸۹  | مارکرهای CAPS                                           | ۲۸ | ژل آگارز الکتروفورز (AGE)                           |
| ۹۲  | سیکل حرارتی PCR در تکنیک CAPS                           | ۳۲ | رفع منابع آلودگی واکنش PCR                          |
| ۹۲  | پلی مورفیسم تک واکه‌ای (SNP) و ژنوتایپینگ               | ۳۳ | محاسبه تعداد نسخه‌های تکثیر شده                     |
| ۱۰۵ | روش‌های آشکارسازی نشانگرهای SNP                         | ۳۳ | منحنی تکثیر واکنش PCR                               |
| ۱۱۲ | <b>فصل ۲: نکات کلیدی در ارتباط با آنالیزها</b>          | ۳۴ | استفاده از مولکول‌های mRNA به عنوان الگو در PCR     |
| ۱۱۴ | دمای اتصال (T <sub>a</sub> )                            | ۳۶ | واکنش PCR آشیانه‌ای                                 |
| ۱۲۰ | انواع پرایمرها                                          | ۳۷ | واکنش PCR معکوس                                     |
| ۱۳۹ | <b>فصل ۳: تعیین اختصاصیت</b>                            | ۳۸ | واکنش PCR برای تکثیر نواحی طولیل                    |
| ۱۳۹ | جستجوی تشابهات با استفاده از BLAST                      | ۳۸ | واکنش زنجیره‌ای پلیمرز زمان واقعی                   |
| ۱۴۲ | شماره دسترسی، شماره نسخه، لوکوس، شناساگرهای پایگاه داده | ۴۱ | واکنش زنجیره‌ای پلیمرز لنگر شده                     |
| ۱۴۳ | روش وزن دهی و ماتریس‌های PAM                            | ۴۲ | واکنش PCR با توسعه همپوشانی                         |
| ۱۴۴ | ماتریس‌های BLOSUM                                       | ۴۳ | Hot Start PCR                                       |
| ۱۴۵ | برنامه‌ی BLAST                                          | ۴۳ | DOP-PCR                                             |
| ۱۴۷ | توالی ورودی                                             | ۴۳ | COLD-PCR                                            |
| ۱۴۸ | جستجوی مجموعه‌ها                                        | ۴۶ | Multiplex PCR                                       |
| ۱۴۹ | ارگانسم                                                 | ۴۸ | ARMS-PCR                                            |
| ۱۴۹ | پارامتر Entrez querie                                   | ۵۰ | PCR-ELISA                                           |
|     |                                                         | ۵۲ | LAMP-PCR                                            |

|     |                                                           |     |                                                                |
|-----|-----------------------------------------------------------|-----|----------------------------------------------------------------|
| ۲۶۰ | <b>فصل ۱۸: انجام In silico PCR</b>                        | ۱۵۰ | پارامترهای جستجوی BLAST                                        |
| ۲۷۴ | <b>فصل ۱۹: تعیین دمای ذوب توالی‌های الیگونوکلئوتیدی</b>   | ۱۶۸ | <b>فصل ۴: کاوشگرهای</b>                                        |
| ۲۷۴ | دست‌رسی به پایگاه Oligo Tm 1.0                            | ۱۶۸ | رنگ‌های متصل‌شونده به DNA (SYBR Green I)                       |
| ۲۷۶ | <b>فصل ۲۰: تعیین غلظت بافر واکنش PCR</b>                  | ۱۷۲ | کاوشگرهای هیبریدی                                              |
| ۲۷۶ | دست‌رسی به Optimase Master Mix Calculator                 | ۱۷۲ | کاوشگرهای Eclipse                                              |
| ۲۷۸ | <b>فصل ۲۱: مقدمه‌ای بر پایگاه‌های داده و دریافت توالی</b> | ۱۷۳ | کاوشگرهای Amplifluor                                           |
| ۲۷۸ | مقدمه‌ای بر پایگاه داده‌ها                                | ۱۷۳ | کاوشگرهای Scorpions                                            |
| ۲۸۱ | اندازه پایگاه‌های داده                                    | ۱۷۴ | کاوشگرهای LUX                                                  |
| ۲۸۲ | طبقه‌بندی پایگاه‌های داده                                 | ۱۷۴ | کاوشگرهای BD Zyme                                              |
| ۲۸۸ | حالت اول دانلود توالی                                     | ۱۷۵ | نکات کلیدی در طراحی کاوشگرها                                   |
| ۲۹۱ | <b>فصل ۲۲: بخش آزمایشگاهی</b>                             | ۱۷۵ | طراحی و بهینه‌سازی کاوشگرهای SYBR Green I                      |
| ۲۹۱ | رفع ایراد در رابطه با کتاب                                | ۱۷۶ | طراحی آغازگر و طراحی آمپلیکون                                  |
| ۲۹۳ | ۱. راهنمای کار در آزمایشگاه                               | ۱۷۷ | بهینه‌سازی دمای اتصال                                          |
| ۲۹۵ | ۲. قوانین عمومی کار در آزمایشگاه                          | ۱۷۸ | بهینه‌سازی و طراحی کاوشگرهای TaqMan                            |
| ۲۹۸ | معرفی وسایل پرکاربرد آزمایشگاهی                           | ۱۸۰ | <b>فصل ۵: ابزارهای بیوانفورماتیکی برای طراحی آغازگر</b>        |
| ۳۰۴ | کنترل کیفیت دستگاه اتوکلاو                                | ۱۸۳ | <b>فصل ۶: طراحی آغازگر با استفاده از پایگاه NCBI</b>           |
| ۳۱۰ | بخش سوم: پرتکل‌های کاربردی                                | ۱۸۷ | مشاهده نتایج                                                   |
| ۳۱۲ | پرتکل استخراج DNA از بافت‌های گیاهی به روش CTAB           | ۱۸۸ | <b>فصل ۷: طراحی آغازگر با استفاده از پایگاه NCBI</b>           |
| ۳۱۴ | پرتکل استخراج DNA از ژنوم حشرات                           | ۱۹۵ | <b>فصل ۸: طراحی آغازگر با استفاده از نرم‌افزار Vector</b>      |
| ۳۱۶ | استخراج DNA از محلول‌های آبی به روش فنلی                  | ۲۰۲ | دست‌رسی به پایگاه PDA                                          |
| ۳۱۶ | حذف وکل‌های آب از محلول آبی حاوی DNA قبل از استخراج       | ۲۰۵ | <b>فصل ۱۰: طراحی آغازگر با استفاده از پایگاه VizPrimer</b>     |
| ۳۱۷ | حذف بقایای فنل                                            | ۲۰۵ | دست‌رسی به پایگاه اطلاعاتی VizPrimer                           |
| ۳۱۷ | حذف بقایای فنل: روفریم و بوتانول از نمونه‌ی DNA           | ۲۱۱ | <b>فصل ۱۱: طراحی آغازگر با استفاده از نرم‌افزار CLC</b>        |
| ۳۱۸ | استخراج DNA بافت‌های جانوری                               | ۲۱۱ | نصب نرم‌افزار                                                  |
| ۳۱۹ | پرتکل انجام رقیق‌سازی PCR با استفاده از آنزیم Taq پلیمراز | ۲۱۱ | شروع کار با نرم‌افزار                                          |
| ۳۲۲ | پرتکل رقیق کردن محلول با استفاده از پرایمر                | ۲۱۲ | طراحی آغازگر                                                   |
| ۳۲۲ | پرتکل تهیه الکل اتانول ۷۰٪ (۱۰۰ ml) برای حجم ۲۰۰ ml       | ۲۱۶ | <b>فصل ۱۲: طراحی آغازگر با استفاده از نرم‌افزار PerlPrimer</b> |
| ۳۲۴ | پرتکل تهیه RNase در غلظت ۱۰ mg/ml برای حجم ۵ ml           | ۲۱۶ | دست‌رسی به نرم‌افزار و نصب نرم‌افزار                           |
| ۳۲۵ | پرتکل رقیق کردن محلول‌های 10۰۰X برای محلول‌های 1X         | ۲۲۳ | طراحی آغازگر برای Real-time PCR                                |
| ۳۲۵ | پرتکل تهیه IPTG در حجم ۲۵ ml                              | ۲۲۵ | <b>فصل ۱۳: طراحی آغازگر و کاوشگر با استفاده از پایگاه IDT</b>  |
| ۳۲۶ | پرتکل تهیه محلول ۸ مولار پتاسیم استات در حجم ۲۰۰ ml       | ۲۲۵ | دست‌رسی به پایگاه PrimerQuest IDT                              |
| ۳۲۶ | پرتکل تهیه محلول PBS 10X در حجم ۵۰۰ ml                    | ۲۳۱ | <b>فصل ۱۴: طراحی آغازگر با استفاده از پایگاه MethPrimer</b>    |
| ۳۲۷ | پرتکل تهیه محلول ۳٪ متیل سلولاز                           | ۲۳۶ | دست‌رسی به پایگاه MethPrimer                                   |
| ۳۲۷ | پرتکل تهیه محلول ۱٪ متیل بلو                              | ۲۴۶ | <b>فصل ۱۵: طراحی سیکل حرارتی PCR</b>                           |
| ۳۲۷ | پرتکل تهیه محلول ۱٪ (فاز الکی) متیل گرین                  | ۲۴۶ | دست‌رسی به پایگاه                                              |
| ۳۲۷ | پرتکل تهیه محلول ۰/۱٪ متیل رد                             | ۲۴۸ | <b>فصل ۱۶: طراحی آغازگر با استفاده از پایگاه WASP</b>          |
| ۳۳۸ | معرفی نرم‌افزارهای طراحی پرایمر برای واکنش Real-time PCR  | ۲۵۰ | <b>فصل ۱۷: ارزیابی آغازگرها با استفاده از پایگاه MFE</b>       |
| ۳۳۸ | انواع فرمت داده‌های زیستی                                 | ۲۵۵ | دست‌رسی به MFEprimer 2.0                                       |
| ۳۴۲ | تفسیر نتایج توالی‌یابی                                    |     |                                                                |
| ۳۵۲ | نمایه                                                     |     |                                                                |
| ۳۵۶ | منابع                                                     |     |                                                                |