
تشخیص مولکولی در آزمایشگاه

مروری بر تکنیک‌ها و سنجش‌های پر کاربرد در آزمایشگاه‌های
بیولوژیکی (اصول و نحوه اجرا)

تألیف:

زیبا ویسی ملکشاهی

(دانشجوی دکترای بیوتکنولوژی پزشکی دانشکده علوم و فن‌آوری‌های نوین پزشکی دانشگاه
علوم پزشکی تهران)

مریم کدخدازاده

(دانشجوی کارشناسی ارشد بیوشیمی بالینی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی)

واحد پناهیمی‌زاده

(دانشجوی دکترای بیوتکنولوژی پزشکی دانشکده علوم و فن‌آوری‌های نوین پزشکی دانشگاه علوم
پزشکی شیراز)

زیر نظر:

دکتر بابک نگاهداری

(عضو هیئت علمی گروه بیوتکنولوژی پزشکی دانشکده علوم و فن‌آوری‌های نوین پزشکی دانشگاه
علوم پزشکی تهران)

سرشناسه	: ویسی ملکشاهی، زیبا، ۱۳۶۴
عنوان و نام پدیدآور	: تشخیص مولکولی در آزمایشگاه: مروری بر تکنیک‌ها و سنجش‌های پر کاربرد در آزمایشگاه‌های بیولوژیکی (اصول و نحوه اجرا)/تالیف زیبا ویسی ملکشاهی، مریم کدخدازاده، ولید ابراهیمی زاده
مشخصات نشر	: تهران: رویان پژوه، ۱۳۹۵.
مشخصات ظاهری	: ۱۸۴ ص.
شابک	: ۹۷۸-۶۰۰-۴۰۸-۱۵۶-۶
وضعیت فهرست نویسی	: فیبا
موضوع	: تشخیص مولکولی - دستنامه‌های آزمایشگاهی Molecular diagnosis - Laboratory manuals
شناسه افزوده	: کدخدازاده، مریم، ۱۳۶۹ -
شناسه افزوده	: ابراهیمی زاده، ولید، ۱۳۶۳ -
شناسه افزوده	: نگاهداری، بابک، ۱۳۵۳ -
رده بندی کنگره	: RB۴۳/۷/۹:۵ ۱۳۹۵
رده بندی دیویی	: ۶۱۶/۰۷۵۶
شماره کتابشناسی ملی	: ۴۳۴۸۲۶



تشخیص مولکولی در آزمایشگاه

مروری بر تکنیک‌ها و سنجش‌های پر کاربرد در آزمایشگاه‌های بیولوژیکی (اصول و نحوه اجرا)

تألیف: زیبا ویسی ملکشاهی، مریم کدخدازاده، ولید ابراهیمی زاده
زیر نظر: دکتر بابک نگاهداری

ناشر: رویان پژوه

نوبت چاپ: اول - ۹۵

مدیر تولید: سید امین امامی زاده

گرافیک: آرزو انصاری

چاپ و صحافی: بهمن

قطع و تعداد صفحات: وزیری - ۱۸۴

شمارگان: ۵۰۰ نسخه

بها: ۱۸۵۰۰ تومان



شابک: 978-600-408-156-6

کلیه حقوق مادی و معنوی اثر متعلق به ناشر است و هرگونه تکثیر، بازنویسی، خلاصه برداری و یا برداشت به هر نحوی بدون اجازه کتبی از ناشر مجاز نبوده و منجر به پیگرد قانونی می‌باشد.

دفتر نشر و نمایشگاه دائمی: تهران، خیابان انقلاب، بین ۱۲ فروردین و شمیرن جابوید (روبروی دبیرخانه دانشگاه تهران)

تلفن: ۶۶۴۸۶۳۷۳ - ۶۶۹۷۰۷۴۰

ساختمان امیرکبیر، طبقه سوم

خرید آنلاین: [www. RPpub. ir](http://www.RPpub.ir)

فهرست

۱۵	فصل ۱: الیزای
۱۵	الیزای مستقیم
۱۶	الیزای غیر مستقیم
۱۷	الیزای ساندویچ
۱۸	الیزای رقابتی
۲۱	تعیین تیر آنتی بادی به روش الیزای غیر مستقیم
۲۳	فصل ۲: تعیین غلظت پروتئین
۲۳	بیوره
۲۳	لوری
۲۴	بیسین چونینیک
۲۴	اولتراویولت
۲۴	برادفورد
۲۵	مراحل انجام کار
۲۷	فصل ۳: تخلیص DNA
۲۸	تهیه محتویات سلولی
۲۸	لیز باکتری ها
۲۸	استخراج DNA از محتویات سلول باکتریایی
۳۰	روش های استخراج DNA
۳۳	تخلیص DNA با روش رسوب نمکی
۳۴	تخلیص DNA با روش جوشاندن



۳۴	روش دیگری برای تخلیص DNA به شیوه رسوب نمکی
۳۶	استخراج DNA از سلول‌های گیاهی
۳۷	تعیین غلظت DNA
۳۹	فصل ۴: استخراج پلاسمید
۴۰	تخلیص پلاسمید بدون کیت‌های تجاری
۴۲	جداسازی پلاسمیدها بر اساس اندازه
۴۳	روش دنا توراسیون بازی (الکالین)
۴۴	روش سانتریفوژ شیب چگالی برمید اتیدیوم - کلرید سدیم
۴۵	فصل ۵: ۱- استخراج RNA
۴۷	استخراج RNA از لنفوسیت
۴۸	تخلیص RNA با استفاده از تریزول
۴۸	روش‌های هم‌نیزه کردن نمونه‌های مختلف
۴۹	جداسازی فازها
۵۰	رسوب RNA
۵۰	بررسی RNA تخلیص شده بر روی ژل
۵۱	حذف DNA ژنومی از RNA استخراج شده
۵۱	تیمار کردن (DNase Treatment) RNA
۵۳	فصل ۶: آلوده کردن باکتری میزبان با وکتورهای پلازمیدی
۵۳	تهیه باکتری مستعد
۵۴	ترانسفورماسیون
۵۵	ترازیخت نمودن (ترانسفورم) سلول‌های مستعد به روش الکتروپوریشن
۵۶	تهیه ذخیره سلولی
۵۷	فصل ۷: الکتروفورز
۵۸	الکتروفورز ژل آگارز
۶۰	روش PAGE
۶۳	روش SDS-PAGE
۶۳	بررسی پروتئین بیان شده روی ژل اکریل آمید
۶۷	فصل ۸: روش‌های رنگ‌آمیزی
۶۷	رنگ‌آمیزی ژل به وسیله کوماسی بلو
۶۸	رنگ‌آمیزی نیترات نقره



۷۱	فصل ۹: واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR).....
۷۲	مراحل انجام تئوری PCR.....
۷۳	انجام عملی PCR.....
۷۴	طراحی پرایمر.....
۷۴	Nested PCR.....
۷۴	PCR اول.....
۷۵	PCR دوم.....
۷۷	Multiplex PCR.....
۷۹	واکنش PCR همراه نسخه برداری معکوس (RT-PCR).....
۷۹	انواع پرایمرها مورد استفاده در RT-PCR.....
۷۹	۱. پرایمر Oligo dT.....
۸۰	۲. پرایمرهای تصادفی.....
۸۰	۳. پرایمرهای اختصاصی زن.....
۸۱	انجام RT-PCR با استفاده از پرایمرهای Oligo dT.....
۸۱	انجام یک آزمایش PCR کمی (qPCR).....
۸۵	طراحی پرایمر و پروپ.....
۸۶	طراحی پروپ TaqMan.....
۸۹	فصل ۱۰: کلونینگ و بیان پروتئین.....
۹۰	وکتورهای کلونینگ و بیانی.....
۹۰	حامل‌های کلون‌سازی برای E.coli.....
۹۰	۱. حامل pBR322: خصوصیات این حامل شامل.....
۹۰	۲. حامل pBR327: خصوصیات این حامل شامل.....
۹۱	۳. حامل PUC8: خصوصیات این حامل شامل.....
۹۱	حامل‌های کلون‌سازی برای یوکاریوت‌ها.....
۹۱	۱. حامل‌هایی بر پایه پلاسمیدهای ۲ میکرونی یا پلاسمیدهای ایپی زومی مخمر (YE _p).....
۹۱	۲. پلاسمیدهای ادغام شونده با مخمر (YIps).....
۹۲	۳. پلاسمیدهای همانندساز مخمر (YRp).....
۹۲	۴. کروموزوم‌های مصنوعی مخمر (YAC).....
۹۲	حامل‌های کلون‌سازی در پستانداران.....
۹۲	علت کلون‌سازی در پستانداران.....
۹۲	۱. ویروس سیمیان ۴۰(SV40).....



۹۲	۲. آدنووایروس‌ها
۹۳	۳. پاپیلوما ویروس‌ها (BPV)
۹۳	۴. ویروس‌های همراه با آدنو (AAV)
۹۳	۵. رتروویروس‌ها
۹۳	ویژگی‌های وکتور بیانی pET
۹۵	انجام دادن هضم آنزیمی نمونه‌های DNA
۹۵	دفسفریله نمودن پلاسمید خطی شده
۹۶	هضم آنزیمی پلاسمیدهای استخراج شده و محصول واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز
۹۸	لیگاسیون (الحاق)
۱۰۱	تخلیص محلول واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز و محصول دایجست پلاسمید از ژل
۱۰۲	ترسیب (رسوب) نمکی پلاسمید و محصول واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز برش خورده
۱۰۲	انجام واکنش الی
۱۰۳	TA Cloning
۱۰۶	بیان پروتئین نوترکیب در سیستم پروکاریوتی
۱۰۶	القاء بیان پروتئین‌های نوترسیب
۱۰۷	بیان پروتئین نوترکیب در مقیاس آزمایشگاهی با روش افزودن تدریجی اوره پس از سونیکاسیون
۱۰۸	بیان پروتئین نوترکیب در مقیاس آزمایشگاهی با روش افزودن اوره قبل از سونیکاسیون
۱۱۱	فصل ۱۱: تخلیص پروتئین
۱۱۱	تخلیص پروتئین نوترکیب به روش کروماتوگرافی میل تقابلی ستون Ni-NTA
۱۱۳	کروماتوگرافی تبادل یونی
۱۱۳	کروماتوگرافی میل ترکیبی
۱۱۳	کروماتوگرافی فاز معکوس
۱۱۵	محلول‌های تخلیص با استفاده از ستون Ni-NTA بر اساس شیب ایمیدازول در روش دناتوره
۱۱۵	محلول‌های تخلیص با استفاده از ستون Ni-NTA بر اساس شیب ایمیدازول در روش native
۱۱۶	مراحل انجام تخلیص با استفاده از ستون Ni-NTA agarose
۱۱۶	دیالیز پروتئین‌های حاصل از تخلیص
۱۱۹	فصل ۱۲: وسترن بلات
۱۲۳	فصل ۱۳: ذات بلات
۱۲۵	فصل ۱۴: کشت سلول
۱۲۶	دستورالعمل کار در اتاق کشت سلولی



۱۲۸	نحوه دفع فضولات و زباله‌های آزمایشگاه کشت سلولی
۱۲۸	ارزیابی فازهای رشد سلولی
۱۲۹	خصوصیات کشت سلولی
۱۳۱	دستورالعمل دفریز کردن سلول‌ها
۱۳۱	شمارش سلولی
۱۳۲	پاساژ سلولی
۱۳۲	پاساژ سلول‌های چسبنده
۱۳۳	پاساژ سلول‌های شناور
۱۳۴	پاساژ سلول‌ها نیمه چسبان
۱۳۵	بررسی آلودگی باکتری
۱۳۶	کاربردهای کشت سلولی
۱۳۶	محاسن کشت سلول
۱۳۷	مراحل ترانسفورماسیون <i>Ca²⁺ LiCl</i> ورد نظر با پلاسمید
۱۳۷	تعیین درصد بقا سلول‌ها
۱۳۸	تخلیص لنفوسیت
۱۳۹	بررسی اثر اسانس گیاهی روی سلول‌های خونی غنی
۱۴۰	تعیین تیترو ویروس نوترکیب محتوی GFP توسط فلوسایتمتری
۱۴۱	آلوده‌سازی ویروس
۱۴۱	ارزیابی فلوسایتمتری
۱۴۳	فصل ۱۵: شناسایی SNP در ساختار ژنوم
۱۴۳	روش RFLP-PCR
۱۴۶	تکنیک TaqMan genotyping assay
۱۴۹	فصل ۱۶: فلوسایتمتری
۱۵۰	کاربرد فلوسایتمتری
۱۵۵	فصل ۱۷: کار با حیوانات
۱۵۵	ایمن‌سازی موش‌های آزمایشگاهی با محصول نوترکیب
۱۵۶	تخلیص آنتی بادی‌های تولید شده
۱۵۶	مراحل Semi purification
۱۵۷	مراحل آماده سازی ستون کروماتوگرافی DEAE Cellulose
۱۵۸	بررسی ایمنی شناختی سرم موش‌های ایمن و شاهد

۱۵۸	مشخص کردن دُز کشنده ۵۰ درصد (LD50) برای توکسین
۱۵۹	بررسی چالش در موش‌های ایمن با استفاده از باکتری
۱۶۱	ایمونوهیستوشیمی

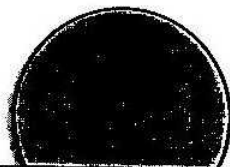
فصل ۱۸: لیپوپلی ساکارید

۱۶۳	استخراج لیپوپلی ساکارید
۱۶۴	تعیین غلظت لیپوپلی ساکارید
۱۶۴	تعیین غلظت لیپوپلی ساکاریدها با استفاده از روش فنل-سولفوریک اسید
۱۶۵	بررسی لیپوپلی ساکارید با استفاده از Tricine-SDS-PAGE
۱۶۶	نتایج استخراج لیپوپلی ساکارید

فصل ۱۹: معرفی علم بیوانفورماتیک

۱۷۰	پیشرفت علم بیوانفورماتیک
۱۷۰	تعامل بیوانفورماتیک با سایر رشته‌ها
۱۷۱	زمینه‌های مهم بیوانفورماتیک
۱۷۱	۱. تحلیل توالی‌های ژنوم
۱۷۱	۲. پیش‌بینی ساختار سه بعدی، ساختار سو و چهارم پروتئین
۱۷۲	۳. تحلیل کارکردی در سطح ژنوم
۱۷۲	۴. ایجاد و مدیریت پایگاه‌های داده‌ای
۱۷۲	۵. مدل سازی ریاضی فرایندهای حیات
۱۷۳	پایگاه‌های داده‌های حاوی توالی‌های ژنی
۱۷۳	انواع BLAST
۱۷۴	هم ردیفی‌ها
۱۷۴	تجزیه و تحلیل توالی‌های اولیه
۱۷۵	شناسایی پپتید نشانه
۱۷۵	پایگاه‌های داده‌های پروتئینی
۱۷۵	پیش‌بینی توپولوژی پروتئین مورد نظر
۱۷۶	پیش‌بینی ساختارهای دوم و تحلیل دومین‌ها
۱۷۷	پیش‌بینی ساختارهای سوم پروتئین
۱۷۷	پیش‌بینی ساختار پروتئین بر اساس روش‌های همولوژی مودلینگ
۱۷۸	پیش‌بینی ساختار پروتئین بر اساس روش‌های Threading و نیز سایر روش‌های ترکیبی
۱۷۸	تعیین کیفیت ساختارهای سوم پیش‌گویی شده

۱۷۸	ارزیابی و تجزیه و تحلیل ساختار نهایی
۱۷۹	بررسی جایگاه اتصال لیگاند
۱۷۹	بررسی شکاف‌های سطحی پروتئین
۱۷۹	بررسی اسید آمینه‌های عملکردی در سطح پروتئین
۱۷۹	بررسی‌های ایمونوفلورسسانسی و مشخصات فردی آمینواسیدها
۱۸۰	پیش‌گویی مناطق ایمونوژنیک در پروتئین
۱۸۰	پیش‌گویی ایی توپ‌های خطی مبنی بر توالی پروتئین
۱۸۰	پیش‌گویی ایی توپ‌های خطی مبنی بر ساختار سوم پروتئین
۱۸۱	پیش‌گویی ایی توپ‌های کونفورماسیونی مبنی بر توالی پروتئین
۱۸۱	پیش‌گویی ایی توپ‌های کونفورماسیونی مبنی بر ساختار سوم پروتئین
۱۸۱	انتخاب بهتری ناحیه ایمنه را
۱۸۳	مراجع



مقدمه استاد

سر آغاز سخن یزدان پاک و دیرین را بسیار سپاسگزاریم که ما را یاری نمود تا با ارائه این کتاب کمکی در جهت افزایش دانش میهن عزیزان رسانده باشیم. کتابی که پیش رو دارید مروری بر تکنیک‌ها و سنجش‌های کاربردی آزمایشگاه‌های بیولوژیکی می‌باشد که به لحاظ علمی کتابی معتبر و قابل استناد است. از این رو این کتاب می‌تواند برای پژوهشگران و دانشجویان مورد استفاده قرار گیرد. بنابراین استادان رشته‌های مختلف پزشکی و پایه می‌توانند این کتاب را به عنوان یک کتاب کمک آموزشی و راهنمای عملی به دانشجویان خود معرفی نمایند. از خوانندگان گرامی خواستارم دیدگاه‌های خود را ارایه نمایند تا در ویرایش‌های بعدی کتاب مورد استفاده قرار گیرد.

دکتر بابک نگاهداری

عضو هیئت علمی گروه بیورجنولوژی پزشکی دانشکده علوم

و فن‌آوری‌های نوین پزشکی، دانشکده علوم پزشکی تهران