

۱۴۱ ۲۵۷۸
۹۵ ۱۲ ۱۲

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

زیست فناوری ژن

تألیف

ویلیام وو

ملن هـ ژانگ

ایدل ج. ولس

پیر ب کافن

ترجمه

دکتر سید محمد مهدی مرتضویان - دکتر سید نظام الدین حسینی

لیلا حاتمی گیگلو - رحمان شکری - فیروز ارسلانی



شماره مسلسل ۸۷۱۳

شماره انتشار ۳۷۰۱

انتشارات دانشگاه تهران

عنوان و نام پدیدآور	زیست فناوری ژن / تألیف ویلیام وو - [و دیگران] : ترجمه سید محمدمهدی مرتضویان - [و دیگران] -
مشخصات نشر	تهران: دانشگاه تهران، مؤسسه انتشارات، ۱۳۹۴.
مشخصات ظاهری	هـ ۵۱۵ ص: مصور، جدول، نمودار.
فروست	انتشارات دانشگاه تهران: شماره انتشار ۳۷۰۱.
شابک	978-964-03-6916-6
وضعیت فهرست‌نویسی	فیپا.
یادداشت	تألیف ویلیام وو، پیتر ب. کافمن، مایکل ج. ولس، هلن هـ ژانگ
یادداشت	ترجمه سید محمدمهدی مرتضویان، سید نظام الدین حسینی، لیلا حاتمی گیگلو، رحمان شکری و فیروز ارسلاتی.
داشت	Gene Biotechnology, 3th ed / 2011
یادداشت	کتابنامه.
موضوع	میک - - مهندسی - - دستنامه‌های آزمایشگاهی
موضوع	زیست‌شناسی مولکولی - - دستنامه‌های آزمایشگاهی
شناسه افزوده	ویلیام وو
شناسه افزوده	Wu, William
شناسه افزوده	مرتضویان سید محمدمهدی، ۱۳۵۸ - مترجم.
شناسه افزوده	دانشگاه تهران، مؤسسه انتشارات
رده‌بندی کنگره	QH ۴۴۳ / ۹ - ۱۳۹۵
رده‌بندی دیویی	۶۰/۶۵-۷۸
شماره کتابشناسی ملی	۴۱۰-۷۹۰

این کتاب مشمول قانون حمایت از حقوق مؤلفان و مصنفان است. تکثیر کتاب به هر روش اعم از فتوکپی، ریسوگرافی، تهیه فایل‌های pdf، لوح فشرده، باز نویسی در دستگاه‌ها، سایت‌ها، مجله‌ها و کتاب، بدون اجازه کتبی ناشر مجاز نیست و موجب پیگرد قانونی می‌شود.

ISBN: 978-964-03-6916-6



9 789640 369166

عنوان: زیست‌فناوری ژن

تألیف: ویلیام وو - هلن هـ ژانگ - مایکل ج. ولس - پیتر ب. کافمن

ترجمه: دکتر سید محمدمهدی مرتضویان - لیلا حاتمی گیگلو -

دکتر سید نظام‌الدین حسینی - رحمان شکری و فیروز ارسلاتی

نوبت چاپ: اول

تاریخ انتشار: ۱۳۹۵

شمارگان: ۵۰۰ نسخه

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران

چاپ و صحافی: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران

«مسئولیت صحت مطالب کتاب با مترجمان است»

«کلیه حقوق برای ناشر محفوظ است»

بها: ۴۰۰۰۰۰ ریال

خیابان کارگر شمالی - خیابان شهید فرشی مقدم - مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران

پست الکترونیک: press@ut.ac.ir - تارنما: http://press.ut.ac.ir

پخش و فروش: تلفکس ۸۸۳۳۸۷۱۲

فهرست مطالب

پیشگفتار مترجمان	ق
پیش گفتار	ک
نگارندگان	م

فصل ۱- راهکارهایی برای ارائه پروژه‌های تحقیقاتی جدید یا دریافت اعتبارات ویژه تحقیقاتی	۱
۱-۱- مقدمه	۱
منابع	۱۱

فصل ۲- جداسازی سریع cDNA یا ژن‌های خاص با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR)	۱۳
۲-۱- مقدمه	۱۳
۲-۲- جداسازی طول کامل cDNA اختصاصی با استفاده از روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز - رونوشت‌بردار معکوس (RT-PCR)	۱۴
۲-۲-۱- جداسازی ریبونوکلیک اسیدها	۱۴
۲-۲-۲- طراحی و ساخت آغازگرهای اختصاصی پیشرو و معکوس	۱۴
۲-۲-۳- تکثیر cDNA هدف با استفاده از RT-PCR	۱۶
مواد مورد نیاز	۱۷
۲-۲-۴- خالص‌سازی فرآورده‌های واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با استفاده از سانتیفریوژ برش‌های ژل آگاروز با سرعت بالا	۱۹
۲-۳- تکثیر و جداسازی انتهاهای cDNA با استفاده از 5' RACE	۲۰
۲-۴- تکثیر و جداسازی انتهاهای cDNA با استفاده از 3' RACE	۲۱
۲-۵- جداسازی ژن مورد نظر با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز	۲۱
۲-۵-۱- جداسازی DNA ژنومی	۲۱
۲-۵-۲- هضم نسبی DNA ژنومی با استفاده از Sau3AI	۲۳
۲-۵-۲-۱- بهینه‌سازی هضم نسبی DNA ژنومی با استفاده از Sau3AI	۲۳
۲-۵-۲-۲- آماده‌سازی DNA ژنومی به‌طور ناقص هضم‌شده در حجم زیاد	۲۴
۲-۵-۳- طراحی و ساخت آغازگرهای اختصاصی پیشرو و معکوس	۲۵
۲-۵-۳-۱- تکثیر و جداسازی توالی‌های اگزون و اینترون	۲۵
۲-۵-۳-۲- تکثیر و جداسازی توالی پروموتور	۲۵
۲-۵-۴- تکثیر قطعات اختصاصی DNA با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز	۲۶
۲-۵-۵- خالص‌سازی فرآورده‌های واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با استفاده از ژل آگاروز	۲۷
۲-۶- زیرهمسانه‌سازی cDNA یا ژن مورد نظر	۲۷
۲-۷- مشخصات فرآورده‌های واکنش زنجیره‌ای پلیمراز	۲۷
منابع	۲۸

فصل ۳- ساخت و غربالگری کتابخانه‌های cDNA افتراقی و کامل	۲۹
۳-۱- مقدمه	۲۹
۳-۲- ساخت و غربالگری کتابخانه ژنومی افتراقی	۳۲
۳-۲-۱- استخراج RNA کل، از سلول یا بافت مورد نظر A و B	۳۳
۳-۲-۱-۱- دستورالعمل الف، جداسازی سریع RNA کل به روش تیوسیانات گوانیدینیوم اسید- فنل - کلروفرم	۳۴

۳۶	۳-۲-۱-۲ دستورالعمل ب. جداسازی سریع RNA کل با استفاده از معرف نرایزول
۳۷	۳-۲-۱-۴ دستورالعمل ج. اندازه گیری RNA
۳۹	۳-۲-۲ خالص سازی و جداسازی mRNA ها از RNA کل
۳۹	۳-۲-۲-۱ دستورالعمل الف. خالص سازی RNA های Poly (A) با استفاده از ستون الیگو (دزاکسی تیمین) - سلولز
۴۰	۳-۲-۲-۲ دستورالعمل ب. تخلیص جزئی mRNA با استفاده از رزین سلولزی الیگو (dT)
۴۲	۳-۲-۳ ساخت اولین رشته cDNA از سلول / بافت نوع A یا B
۴۲	۳-۲-۳-۱ دستورالعمل الف. ساخت اولین رشته cDNA از روی mRNA
۴۳	۳-۲-۳-۲ دستورالعمل ب. سنتز TCA و محاسبه مقدار cDNA
۴۴	۳-۲-۳-۳ دستورالعمل ج. بررسی cDNA با استفاده از روش الکتروفورز ژل آگارز قلیایی
۴۶	۳-۲-۴ هیبریداسیون cDNA حاصل از سلول یافت تیپ A یا B با mRNA های سلول یافت تیپ B یا A یا برعکس
۴۷	۳-۲-۵ تفکیک هیبریدهای cDNA/mRNA از cDNA های تکرشته ای با استفاده از کروماتوگرافی HAP
۴۸	۳-۲-۶ ساخت cDNA های دو رشته ای از روی cDNA های افتراقی
۴۹	۳-۲-۷ اتصال cDNA به لامبدا GT10 یا هر نوع ناقل مناسب
۴۹	۳-۲-۷-۱ اتصال لینرسانسازهای EcoRI به cDNA های دورشته ای دارای انتهای غیرچسبنده
۵۴	۳-۲-۷-۲ هضم انزیمی ناقص
۵۴	۳-۲-۷-۳ اتصال cDNA ها به ناقل ها
۵۶	۳-۲-۸ تولید کتابخانه cDNA افتراقی
۵۶	۳-۲-۸-۱ بسته بندی در شرایط آزمایشگاه
۵۶	۳-۲-۸-۲ تعیین غلظت فاز بسته بندی شده
۵۸	۳-۲-۸-۳ تکثیر کتابخانه ژنومی cDNA (اختیاری)
۵۹	۳-۲-۹ جداسازی cDNA خاص از کتابخانه cDNA افتراقی
۵۹	۳-۲-۱۰ تعیین ویژگی های cDNA
۵۹	۳-۳ ساخت و غربالگری بیان کامل کتابخانه cDNA
۵۹	۳-۳-۱ اصول کلی و ملاحظات پیرامون یک کتابخانه بیان cDNA
۶۰	۳-۳-۲ جداسازی RNA کل و تخلیص mRNA از سلول ها یا بافت های مورد نظر
۶۰	۳-۳-۳ ساخت cDNA از mRNA
۶۰	۳-۳-۴ اتصال cDNA به ناقل های بیانی λGT11
۶۰	۳-۳-۵ تولید کتابخانه بیان cDNA
۶۱	۳-۳-۶ غربال کتابخانه بیان و جداسازی cDNA مورد نظر
۶۱	۳-۳-۶-۱ روش الف: غربالگری ایمینو کتابخانه cDNA بیانی با استفاده از آنتی بادی های اختصاصی
۶۵	۳-۳-۶-۲ روش ب: غربال کتابخانه cDNA با استفاده از کاوشگر دارای DNA نشان دار با فسفر ۳۲ به عنوان کاوشگر
۶۶	۳-۳-۶-۳ روش ج: غربال کتابخانه cDNA با استفاده از کاوشگر غیررادیواکتیو
۶۶	۳-۳-۶-۴ روش د: جداسازی DNA فاز لامبدا با استفاده از روش مایع
۶۸	۳-۳-۷ تعیین خصوصیات cDNA
۷۰	منابع

فصل ۴- زیرهمسانه سازی ژن ها یا قطعات DNA

۷۱	۴-۱ مقدمه
۷۱	۴-۲ برش ناقل و DNA الحاقی توسط هضم انزیمی جهت زیرهمسانه سازی

۷۱	۴-۲-۱ انتخاب آنزیم‌های برشی
۷۳	۴-۲-۲ انتخاب ناقلین همسانه‌سازی
۷۳	۴-۲-۳ دستورالعمل‌هایی برای هضم به کمک آنزیم‌های برشی
۷۶	۴-۳ خالص‌سازی قطعات DNA از ژل آگارز
۷۶	۴-۳-۱ حل کردن نوآرهای DNA با استفاده از سانتیفرژ قطعات ژل آگارز با سرعت بالا
۷۷	۴-۳-۲ حل کردن قطعه DNA از طریق ذوب و آب کردن برش‌های ژل آگارز
۷۸	۴-۳-۳ حل کردن قطعه DNA با استفاده از غشای NA45 DEAE
۷۸	۴-۳-۴ شست‌وشوی قطعات DNA در چاهک ژل آگارز
۷۹	۴-۴ اتصال قطعات DNA
۸۰	۴-۵ همسانه‌سازی تک‌مرحله‌ای از طریق PCR
۸۲	۴-۶ انتقال DNA متصل شده به باکتری
۸۲	۴-۶-۱ دستورالعمل ۱. تهیه سلول‌های مستعد برای تراریخت کردن
۸۲	۴-۶-۱-۱ سلول‌های مستعد برای تراریخت‌سازی کلرید کلسیم قبل از اتصال
۸۳	۴-۶-۱-۲ تهیه سلول‌های مستعد برای الکتروپوریشن
۸۳	۴-۶-۲ دستورالعمل ۲. تراریخت کردن با روش کلرید کلسیم
۸۴	۴-۶-۳ دستورالعمل ۳. تراریخت کردن با استفاده از الکتروپوریشن
۸۵	۴-۷ جداسازی و خالص‌سازی DNA پلازمیدی با روش قلیایی
۸۵	۴-۷-۱ دستورالعمل ۱. جداسازی DNA پلازمیدی در حجم کم
۸۸	۴-۷-۲ دستورالعمل ۲. تهیه DNA پلاسمیدی در حجم زیاد
۸۹	۴-۷-۳ دستورالعمل ۳. خالص‌سازی DNA پلاسمیدی استفاده از شیب کلرید سزیم
۹۱	۴-۸ تأیید الحاق DNA از طریق برش آنزیمی و الکتروفورز ژل آگارز
۹۱	۴-۹ تأیید جایگاه الحاق از طریق توالی‌یابی DNA
۹۲	منابع
۹۳	فصل ۵- توالی‌یابی ایزوتوپی و غیرایزوتوپی DNA یا RNA
۹۳	۵-۱ مقدمه
۹۵	۵-۲ روش توالی‌یابی غیرایزوتوپی DNA
۹۵	۵-۲-۱ دستورالعمل ۱. تهیه نمونه‌های DNA برای توالی‌یابی
۹۵	۵-۲-۱-۱ خالص‌سازی DNA پلاسمید دورشته‌ای با روش قلیایی
۹۷	۵-۲-۱-۲ خالص‌سازی DNA تک‌رشته‌ای
۹۸	۵-۲-۲ دستورالعمل ۲. واکنش‌های توالی‌یابی
۹۸	۵-۲-۲-۱ روش الف. واکنش‌های توالی‌یابی برای DNA پلاسمید دورشته‌ای
۱۰۳	۵-۲-۲-۲ روش ب. واکنش‌های توالی‌یابی برای ssDNA
۱۰۴	۵-۲-۳ دستورالعمل ۳. تهیه ژل توالی‌یابی
۱۰۵	۵-۲-۳-۱ روش الف. ریختن مخلوط ژل به صورت افقی درون ساندویچ
۱۰۶	۵-۲-۳-۲ روش ب. ریختن ژل در زاویه
۱۰۷	۵-۲-۴ دستورالعمل ۴. الکتروفورز
۱۰۹	۵-۲-۵ دستورالعمل ۵. انتقال DNA از ژل به غشای نایلونی
۱۱۰	۵-۲-۶ دستورالعمل ۶. تشخیص

۱۱۰	۵-۶-۲-۱ روش الف. شناسایی کمی لومیتاسیس
۱۱۰	۵-۶-۲-۲ روش ب. شناسایی کالریمتری
۱۱۲	۵-۳ روش توالی‌یابی DNA ایزونوبی
۱۱۳	۵-۴ استفاده از ژل‌های فرماید
۱۱۴	۵-۵ بسط توالی‌یابی تا دورتر از آغازگرها
۱۱۴	۵-۶ توالی‌یابی DNA با استفاده از پیمایش آغازگر
۱۱۴	۵-۷ توالی‌یابی DNA با استفاده از حذف یک سویه
۱۱۴	۵-۷-۱ دستورالعمل ۱. انجام مجموعه‌ای از حذف‌های DNA خطی با استفاده از اگزونوکلئاز III و حلقوی نمودن مجدد DNA با استفاده از T4 DNA لیگاز
۱۱۶	۵-۸ توالی‌یابی مستقیم DNA با استفاده از PCR
۱۲۱	۵-۹ توالی‌یابی RNA
۱۲۱	۵-۹-۱ دستورالعمل ۱. اتصال آغازگر و الگوی RNA
۱۲۱	۵-۹-۲ دستورالعمل ۲. واکنش‌های برجسب‌گذاری
۱۲۲	۵-۹-۳ دستورالعمل ۳. رنشت حتم زنجیره
۱۲۷	منابع

۱۲۹	فصل ۶- شاهراه بیوانفورماتیک و پایگاه‌های داده رایانه‌ای اسیدهای نوکلئیک و پروتئین‌ها
۱۲۹	۶-۱ مقدمه
۱۲۹	۶-۲ اتصال به GenBank از طریق اینترنت
۱۲۹	۶-۲-۱ قرار دادن یک توالی در بانک رن
۱۳۰	۶-۲-۲ بررسی مشابهت توالی با استفاده از برنامه BLAST
۱۳۰	۶-۲-۲-۱ BLASTN
۱۳۳	۶-۲-۲-۲ BLASTX
۱۳۴	۶-۲-۲-۳ BLASTP
۱۳۵	۶-۳ آنالیز رایانه‌ای توالی‌های DNA به وسیله برنامه GCG
۱۳۵	۶-۳-۱ ورود و ویرایش یک توالی با استفاده از برنامه GCG
۱۳۶	۶-۳-۱-۱ ورود توالی
۱۳۷	۶-۳-۱-۲ ویرایش یا تغییر توالی
۱۳۷	۶-۳-۱-۳ مشاهده خروجی توالی
۱۳۸	۶-۳-۲ ترکیب با سرهم کردن چندین قطعه در یک توالی منفرد
۱۳۸	۶-۳-۲-۱ ایجاد یک فایل پروژه جدید با استفاده از برنامه Gelstart
۱۳۸	۶-۳-۲-۲ وارد کردن توالی‌هایی که قرار است سرهم بندی شود در فایل ایجاد شده در بخش قبل (FRAGMENT) با استفاده از برنامه Gel Enter
۱۴۰	۶-۳-۲-۳ مقایسه و شناسایی نقاط مشترک قطعات وارد شده با استفاده از برنامه GelOverlap و GelMerge
۱۴۰	۶-۳-۲-۴ ادغام و مشاهده توالی ترکیب شده با استفاده از برنامه GelAssemble
۱۴۱	۶-۳-۳ شناسایی جایگاه‌های هضم آنزیم‌های محدودکننده، اندازه قطعات و ترجمه بالقوه پروتئینی یک توالی DNA
۱۴۱	۶-۳-۳-۱ نمایش آنزیم‌های محدودالتر در بالای هر دو رشته توالی DNA و ترجمه پروتئینی احتمالی در زیر توالی با استفاده از برنامه Map
۱۴۳	۶-۳-۳-۲ شناسایی جایگاه‌های برش اختصاصی آنزیم‌های محدودکننده و اندازه قطعات با استفاده از برنامه MapSort

۱۴۴	۶-۳-۴ مقایسه مشابهت بین دو توالی
۱۴۶	۶-۳-۵ ترجمه توالی‌های اسید نوکلئیک به توالی‌های اسیدآمینه یا ترجمه یک توالی اسیدآمینه به توالی اسید نوکلئیک
۱۴۶	۶-۳-۵-۱ ترجمه
۱۴۶	۶-۳-۵-۲ ترجمه معکوس
۱۴۷	۶-۳-۶ شناسایی جایگاه‌های برش آنزیمی در یک پپتید یا پروتئین
۱۴۸	۶-۳-۷ به‌دست آوردن توالی‌های نوکلئوتیدی و اسیدآمینه از GenBank
۱۵۰	منابع

فصل ۷- تعیین خصوصیات DNA یا ژن‌ها با استفاده از دژرگه‌سازی لکه‌ای سادرن

۱۵۱	۷-۱ مقدمه
۱۵۱	۷-۲ اصول و ملاحظات کلی
۱۵۳	۷-۳ جداسازی DNA جهت بررسی
۱۵۳	۷-۴ هضم آنزیمی DNA با استفاده از آنزیم‌های محدودالتر
۱۵۳	۷-۵ الکتروفورز DNA روی ژل آگارز
۱۵۵	۷-۶ لکه‌گذاری DNAها بر روی ششای نیلویی
۱۵۵	۷-۶-۱ روش الف- انتقال موینه‌ای با طرف
۱۵۸	۷-۶-۲ روش ب- انتقال موینه‌ای به سمت
۱۵۹	۷-۷ تهیه کاوشگرها
۱۵۹	۷-۷-۱ تهیه کاوشگرهای DNA غیرایزوتوبی
۱۶۰	۷-۷-۱-۱ دستورالعمل ۱. نشاندارسازی مستقیم DNA با استفاده از کیت ECL
۱۶۲	۷-۷-۱-۲ دستورالعمل ۲. نشاندارسازی دایگوکسیترتین آگارز با dsDNA
۱۶۴	۷-۷-۱-۳ دستورالعمل ۳. نشاندارسازی ترجمه شکاف DNA با استفاده از Biotin-11-dUTP یا Digoxigenin-11-dUTP
۱۶۴	۷-۷-۲ تهیه کاوشگرهای DNA ایزوتوبی
۱۶۴	۷-۷-۲-۱ دستورالعمل ۱. نشاندارسازی ترجمه شکاف dsDNA
۱۶۵	۷-۷-۲-۲ دستورالعمل ۲. ستجش اتصال فیلتر DE-81
۱۶۵	۷-۷-۲-۳ دستورالعمل ۳. رسوب تری کلرو استیک اسید
۱۶۶	۷-۷-۲-۴ دستورالعمل ۴. نشاندارسازی dsDNA با استفاده از آغازگر تصادفی
۱۶۷	۷-۷-۲-۵ دستورالعمل ۵. نشاندارسازی انتهای 3' ssDNA با استفاده از ترانسفرز انتهای
۱۶۸	۷-۸ پیش هیبریداسیون و هیبریداسیون
۱۶۹	۷-۹ شست‌وشو یا انکوباسیون آنتی بادی‌ها
۱۶۹	۷-۹-۱ دستورالعمل الف. شست‌وشوی فیلترهای هیبرید شده با کاوشگرهای نشاندار ECL
۱۶۹	۷-۹-۲ دستورالعمل ب. شست‌وشو و انکوباسیون آنتی بادی فیلترهای هیبرید شده با کاوشگرهای نشاندار Biotin-dUTP یا DIG-UTP
۱۷۰	۷-۹-۳ دستورالعمل ج. شست‌وشوی فیلترهای هیبرید شده با کاوشگرهای ایزوتوبی
۱۷۰	۷-۱۰ شناسایی علائم جفت شده
۱۷۰	۷-۱۰-۱ روش الف. شناسایی شمولومیسسانس
۱۷۰	۷-۱۰-۲ روش ب. شناسایی کلریمتریک فیلترهای هیبرید شده با استفاده از کاوشگرهای متصل به آنتی بادی
۱۷۱	۷-۱۰-۳ روش ج. شناسایی سیگنال‌ها با استفاده از اتورادیوگرافی
۱۷۷	منابع

فصل ۸ - بیش بیان ژن از طریق RNA همسو در سیستم‌های پستانداران	۱۷۹
۸-۱ مقدمه	۱۷۹
۸-۲ طراحی و انتخاب ناقلین بیان پلاسمیدی	۱۸۰
۸-۲-۱ ناقلین دارای پروموتور ساختاری	۱۸۰
۸-۲-۱-۱ پروموتورهای ساختمانی	۱۸۰
۸-۲-۱-۲ ژن‌های نشانگر قابل انتخاب	۱۸۱
۸-۲-۱-۳ ژن‌های گزارشگر	۱۸۱
۸-۲-۱-۴ نواحی برش	۱۸۲
۸-۲-۱-۵ توالی کوزاک و عنصر افزایشدهنده	۱۸۲
۸-۲-۲ ناقلین دارای پروموتور القاءپذیر	۱۸۳
۸-۲-۳ ناقلین رنروویروس	۱۸۳
۸-۳ تهیه سازه‌های cDNA همسوی پلاسمیدی	۱۸۷
۸-۴ ترانژودگی موقت سلول با پستانداران با سازه‌های همسو	۱۸۸
۸-۴-۱ روش الف. ترانژکشن استفاده از رسوب فسفات کلسیم	۱۸۸
۸-۴-۲ روش ب. ترانژودگی با ناقلین رنروویروس	۱۹۰
۸-۴-۲-۱ دستورالعمل ۱: تهیه سوپرناتانت ویروسی به وسیله ترانژودگی موقت لاین سلولی بسته‌بندی شده با سازه‌های ناقل رنروویروس	۱۹۱
۸-۴-۲-۲ دستورالعمل ۲: تولید لاین‌های سلولی مولد ترانژوده پایدار	۱۹۲
۸-۴-۲-۳ دستورالعمل ۳: تعیین غلظت ویروس	۱۹۳
۸-۴-۲-۴ دستورالعمل ۴: تکثیر ذخیره ویژه از طاقان آلودگی مکرر تدریجی سلول‌های هدف جدید	۱۹۴
۸-۴-۲-۵ دستورالعمل ۵: ترانژودگی سلول‌های موذنظر با لفظ بالای ذخیره رنروویروس‌های ناتوان از نظر تکثیر	۱۹۵
۸-۵ ترانژودگی دائمی سلول‌های پستانداران با سازه‌های DNA همسو	۱۹۶
۸-۵-۱ روش الف. ترانژودگی با استفاده از لیپوزوم	۱۹۶
۸-۵-۲ روش ب. ترانژودگی از طریق الکتروپوریشن	۱۹۶
۸-۵-۳ روش ج. ترانژودگی به وسیله ناقلین رنروویروسی	۱۹۷
۸-۶ انتخاب لاین‌های سلولی ترانژوده پایدار به وسیله داروهای مناسب	۱۹۷
۸-۷ خصوصیات کلون‌های سلولی ترانژوده پایدار	۱۹۸
۸-۷-۱ بررسی بیش بیان ژن در سطح پروتئین از طریق لکه‌گذاری وسترن	۱۹۹
۸-۷-۲ آزمایش بیان RNA همسو از طریق لکه‌گذاری نوردن	۲۰۰
۸-۷-۳ تعیین تعداد نسخه ادغام شده از طریق آنالیز لکه‌گذاری سادرن	۲۰۰
۸-۷-۳-۱ جداسازی DNA ژنومی از سلول‌های کشت داده شده	۲۰۰
۸-۷-۳-۲ آنالیز داده‌های لکه‌گذاری سادرن	۲۰۰
۸-۷-۴ ارزیابی بیان یک ژن گزارشگر	۲۰۱
۸-۷-۴-۱ ارزیابی فعالیت CAT	۲۰۱
۸-۷-۴-۲ سنجش لوسیفراز	۲۰۲
۸-۷-۴-۳ سنجش بتاگالاکتوزیداز	۲۰۳
۸-۷-۴-۴ رنگ‌آمیزی بتاگالاکتوزیداز سلول‌ها	۲۰۴
۸-۸ تولید موش‌های تراریخت از کلون‌های ES همسو	۲۰۵
۸-۹ تعیین خصوصیات موش‌های تراریخت	۲۰۵
منابع	۲۰۶

فصل ۹- کاهش بیان ژن در سلول‌های کشت شده و حیوانات با روش‌های RNA و DNA آنتی سنس ۲۰۷

۲۰۷	۹-۱ مقدمه
۲۰۷	۹-۲ روش‌های الیگونوکلوئوتید آنتی سنس
۲۰۷	۹-۲-۱ طراحی و ساخت الیگونوکلوئوتیدهای آنتی سنس
۲۰۹	۹-۲-۲ تیمار سلول‌های کشت شده با الیگومرهای آنتی سنس و تعیین مقدار مطلوب الیگومرها به وسیله آنالیز لکه‌گذاری و سترن
۲۱۱	۹-۲-۳ تیمار سلول‌های کشت شده با استفاده از دوز مطلوب الیگومرها
۲۱۱	۹-۲-۴ آنالیز مهار بیان ژن توسط لکه‌گذاری و سترن
۲۱۲	۹-۳ طراحی و انتخاب ناقل‌های بیان مبتنی بر پلاسمید
۲۱۲	۹-۴ تهیه سازه‌های cDNA آنتی سنس پلاسمید
۲۱۳	۹-۵ ترانلودگی موقت سلول‌های کشت داده شده واجد سازه‌های آنتی سنس
۲۱۳	۹-۶ ترانلودگی پایدار سلول‌های کشت داده شده واجد سازه‌های آنتی سنس
۲۱۳	۹-۶-۱ روش الف، ترانلودگی توسط لیپوزومها
۲۱۴	۹-۶-۲ روش ب، ترانلودگی با روش ریز تلقیح
۲۱۵	۹-۶-۳ ترانلودگی از طریق الکترپوریشن
۲۱۵	۹-۶-۴ روش ج، ترانلودگی به وسیله وکتورهای رتروویروس
۲۱۵	۹-۷ انتخاب رده‌های سلولی ترانلوده شده پایدار با داروهای اختصاصی
۲۱۵	۹-۸ تعیین ویژگی رده‌های سلولی ترانلوده شده پایدار
۲۱۵	۹-۸-۱ آنالیز بیان کاهش یافته ژن در سطح پروتئین به وسیله لکه‌گذاری و سترن
۲۱۶	۹-۸-۲ بررسی بیان RNA آنتی سنس به وسیله لکه‌گذاری و سترن
۲۱۶	۹-۸-۳ تعیین ادغام چند نسخه ای به وسیله آنالیز لکه‌گذاری و سترن
۲۱۷	۹-۸-۴ بررسی بیان ژن‌های گزارشگر
۲۱۷	۹-۹ تولید موش‌های ترانسژنیک
۲۱۷	۹-۹-۱ روش الف، تولید موش‌های ترانسژنیک از سلول‌های ES ترانلوده شده پایدار
۲۱۷	۹-۹-۱-۱ انتخاب ماده‌های استروس (فحلی) C57 BL/6J
۲۱۸	۹-۹-۱-۲ تهیه خزانه ای از نرهای عقیم به وسیله وازکتومی
۲۱۸	۹-۹-۱-۳ جفت گیری ماده‌های استروس (فحلی) و نرهای عقیم
۲۱۹	۹-۹-۱-۴ تهیه جنین‌های در مرحله بلاستوسیست از موش‌های باردار کاذب
۲۲۰	۹-۹-۱-۵ آماده سازی دستگاه ریز تزریقی (Micromanipulation)
۲۲۱	۹-۹-۱-۶ تزریق سلول‌های ES به داخل بلاستوسیست ها
۲۲۱	۹-۹-۱-۷ کانسب مجدد بلاستوسیست های تزریق شده در رحم ماده های پذیرنده
۲۲۲	۹-۹-۲ شیوه ب، تولید موش‌های ترانسژنیک از اووسیست ها
۲۲۲	۹-۹-۲-۱ تهیه اووسیست ها
۲۲۳	۹-۹-۲-۲ ریز تزریقی سازه های DNA به اووسیست ها
۲۲۴	۹-۹-۲-۳ کشت مجدد تخم های تزریق شده در موش های ماده پذیرنده و تولید موش های مؤنث
۲۲۵	۹-۱۰ ویژگی موش‌های تراریخت
۲۲۶	منابع

فصل ۱۰- بررسی بیان ژن در سطح بیان کارکردی ژنوم با استفاده از روش لکه گذاری نوردن یا PCR ۲۲۷

۲۲۷	۱۰-۱ مقدمه
-----	------------------

۲۳۸	۱۰-۲ اصول و قواعد کلی
۲۳۰	۱۰-۳ جداسازی RNA کل و تخلیص مولکول‌های mRNA
۲۳۰	۱۰-۴ الکتروفورز مولکول‌های RNA با استفاده از ژل آگارز فرمالدهید
۲۳۳	۱۰-۵ لکه گذاری RNAها بر روی غشاهای نایلونی با استفاده از روش موبینگ
۲۳۳	۱۰-۶ تهیه کاوشگرهای ایزوتوبی یا غیرایزوتوبی RNA/DNA
۲۳۳	۱۰-۶-۱ دستورالعمل الف. تهیه کاوشگرهای DNA
۲۳۴	۱۰-۶-۲ دستورالعمل ب. تهیه کاوشگرهای RNA با استفاده از رونویسی در آزمایشگاه
۲۳۷	۱۰-۷ دوره سازی و شناسایی سیگنال‌ها
۲۳۷	۱۰-۸ آنالیز و بررسی بیان mRNA با روش PCR نیمه کمی
۲۴۳	منابع

فصل ۱۱- تجزیه بیان ژن در سطح پروتئوم با استفاده از لکه گذاری وسترن

۲۴۵	۱۱-۱ مقدمه
۲۴۷	۱۱-۲ مبانی
۲۴۹	۱۱-۳ استخراج پروتئین‌های محلول
۲۴۹	۱۱-۳-۱ روش الف. استخراج پروتئین کل با استفاده از بافر لاوریل سارکوزین
۲۵۰	۱۱-۳-۲ روش ب. روش تعیین غلظت پروتئین با استفاده از سنجش بردفورد
۲۵۱	۱۱-۴ تجزیه پروتئین با استفاده از SDS-PAGE و الکتروانتقال وسترن
۲۵۱	۱۱-۴-۱ دستورالعمل ۱. آماده سازی ژل های جداسازی SDS
۲۵۲	۱۱-۴-۲ دستورالعمل ۲. تهیه ژل متراکم کننده
۲۵۲	۱۱-۴-۳ دستورالعمل ۳. الکتروفورز
۲۵۴	۱۱-۴-۴ دستورالعمل ۴. رنگ آمیزی و رنگ بری SDS-PAGE با استفاده از روش تغییر یافته آبی کوماسی (CB)
۲۵۴	۱۱-۴-۵ دستورالعمل ۵. انتقال پروتئین ها از SDS-PAGE به غشاء نیتروسلول یا PVDF با استفاده از الکتروانتقال
۲۵۴	۱۱-۴-۵-۱ روش الف. الکتروانتقال نیمه مرطوب
۲۵۵	۱۱-۴-۵-۲ روش ب. انتقال مرطوب با استفاده از دستگاه لکه گذاری Elettro TE 42
۲۵۶	۱۱-۴-۶ دستورالعمل ۶ توقف و هیبریداسیون فیلتر غشایی با استفاده از آنتی بادی های اختصاصی
۲۵۷	۱۱-۴-۷ دستورالعمل ۷. آشکارسازی سیگنال (های) هیبرید شده
۲۵۷	۱۱-۴-۷-۱ روش الف. آشکارسازی شیمی لومینسانس برای آنتی بادی های کونژوگه با پراکسید هیدروژن. نشان دار شده با بیوتین
۲۵۷	۱۱-۴-۷-۲ روش ب. آشکارسازی رنگی برای آنتی بادی های کونژوگه شده با فسفاتاز قلیایی
۲۵۸	۱۱-۵ تجزیه پروتئین با استفاده از ژل الکتروفورز دو بعدی
۲۶۳	منابع

فصل ۱۲- بررسی DNA سلولی یا فراوانی mRNA از طریق دوره سازی در جای رادیواکتیو

۲۶۵	۱۲-۱ مقدمه
۲۶۵	۱۲-۲ تثبیت بافت، یارافینه کردن، برش زدن و قرار دادن قطعات بر روی اسلایدها
۲۶۵	۱۲-۳-۱ تهیه اسلایدهای شیشه‌ای آغشته به سیلین
۲۶۶	۱۲-۳-۱-۱ روش الف. سیلین اندود کردن اسلایدها
۲۶۶	۱۲-۳-۱-۲ روش ب. آغشته کردن اسلایدها با پلی-آل-لیزین
۲۶۶	۱۲-۳-۱-۳ روش ج. زلاتین اندود کردن اسلایدها

۲۶۶	۱۲-۲-۲ تهیه محلول‌های تثبیت کننده.....
۲۶۶	۱۲-۲-۲-۱ تهیه تثبیت کننده PFA ۴٪ وزنی حجمی (w/v) (۱ لیتر).....
۲۶۷	۱۲-۲-۳ تثبیت سلول‌های کشت شده بر روی اسلاید.....
۲۶۷	۱۲-۲-۴ تثبیت بافت، پاراتینه کردن، برش زدن و قرار دادن قطعات بر روی اسلایدها.....
۲۶۷	۱۲-۲-۴-۱ تثبیت.....
۲۶۸	۱۲-۲-۴-۲ پاراتینه کردن.....
۲۶۹	۱۲-۲-۴-۳ برش زدن و قرار دادن قطعات بر روی اسلایدها.....
۲۶۹	۱۲-۲-۵ برش انجمادی.....
۲۶۹	۱۲-۲-۵-۱ تهیه نمونه‌های منجمد.....
۲۷۰	۱۲-۲-۵-۲ برش انجمادی.....
۲۷۰	۱۲-۲-۵-۳ تثبیت.....
۲۷۰	۱۲-۳ دوره سازی درجا و شناسایی با استفاده از کاوشگرهای ایزوتوبی.....
۲۷۱	۱۲-۳-۱ موم زدایی نمونه‌های ایزوتوبی یافته.....
۲۷۱	۱۲-۳-۲ هضم پروتئازی.....
۲۷۲	۱۲-۳-۳ تیمار با DNase برای روند دورگه سازی درجای RNA.....
۲۷۲	۱۲-۳-۴ تیمار با RNase برای روند دورگه سازی درجای DNA.....
۲۷۳	۱۲-۳-۵ آماده سازی کاوشگرهای رادیوایزوتوبی.....
۲۷۳	۱۲-۳-۵-۱ ساخت کاوشگرهای دورگه سازی با DNase استفاده از آغازگرهای تصادفی برای نشان‌دار کردن dsDNA.....
۲۷۶	۱۲-۳-۵-۲ تهیه ریبوکاوشگر $[^{35}\text{S}]\text{UTP}$ برای هیبریداسیون RNA از طریق رونویسی نشانه گذاری در شیشه.....
۲۷۸	۱۲-۳-۶ هیبریداسیون درجا.....
۲۷۹	۱۲-۳-۷ شناسایی سیگنال‌های هیبرید شده.....
۲۸۵	منابع.....
۲۸۷	فصل ۱۳- مکان‌یابی DNA یا فراوانی mRNA به کمک تکنیک دورگه سازی درجای فلورسنس.....
۲۸۷	۱۳-۱ مقدمه.....
۲۸۷	۱۳-۲ تثبیت سلول یا بافت، جاگیری بافت، برش و اتصال بر روی اسلاید.....
۲۸۷	۱۳-۳ موم زدایی از برش‌ها، هضم پروتئازی، و تیمار نمونه‌ها با RNase یا DNase جهت دورگه سازی در محل.....
۲۸۷	۱۳-۴ تهیه و آماده‌سازی کاوشگرهای غیرایزوتوبی با استفاده از یکی از تکنیک‌هایی که در ادامه بیان می‌شود بسته به کاوشگر اختصاصی و استراتژی‌های شناسایی.....
۲۸۸	۱۳-۴-۱ روش A: نشان‌دار نمودن آغازگر تصادفی دی‌گوانوسینین dsDNA.....
۲۸۹	۱۳-۴-۲ روش B: نشانه گذاری ترجمه شکاف DNA دو رشته‌ای با Biotin-11-DUTP یا Digoxigenin-11-DUTP.....
۲۸۹	۱۳-۴-۳ روش C: ریبوکاوشگر یا نشان‌دار نمودن RNA.....
۲۹۲	۱۳-۵ هیبریداسیون در مکان نمونه‌ها.....
۲۹۳	۱۳-۶ شناسایی آنزیمی سیگنال‌های هیبریدی با استفاده از سوبستراهای رنگی BCIP و NBT.....
۲۹۴	۱۳-۷ شناسایی فلورسنسی سیگنال‌های هیبرید.....
۲۹۸	منابع.....

فصل ۱۴- دورگه سازی PCR درجا برای ژن های با تعداد نسخه کم و تشخیص RT-PCR درجای mRNA های با

۲۹۹	فراوانی کم
۲۹۹	۱۴-۱ مقدمه
۳۰۰	۱۴-۲ تشخیص یک ژن با تعداد نسخه کم با استفاده از روش دورگه سازی PCR درجا
۳۰۱	۱۴-۲-۱ طراحی آغازگرهای اختصاصی برای تکثیر <i>in situ</i> PCR توالی های DNA هدف
۳۰۳	۱۴-۲-۲ ساخت و ارزیابی آغازگرهای طراحی شده
۳۰۳	۱۴-۲-۳ تثبیت سلول ها با بافت ها، جاسازی بافت، برش، و اتصال قطعات برش خورده بر روی اسلایدها
۳۰۳	۱۴-۲-۴ موم زدایی قطعات (در صورت لزوم)، هضم پروتئازی و در معرض قرار دادن نمونه ها با DNase و RNase
۳۰۳	۱۴-۲-۵ تهیه کاوشگر های رادیواکتیو برای روش RISH یا کاوشگر های غیر رادیواکتیو برای روش FISH
۳۰۳	۱۴-۲-۶ انجام PCR درجا
۳۰۷	۱۴-۲-۷ انجام دورگه سازی درجا و تشخیص به وسیله RISH یا به وسیله FISH
۳۰۷	۱۴-۳ تشخیص mRNA با تعداد نسخه کم به وسیله دورگه سازی PCR معکوس درجا
۳۰۸	۱۴-۳-۱ تثبیت سلول یا بافت، اتصال بافت، برش و چسباندن قطعات بر روی اسلایدها
۳۰۸	۱۴-۳-۲ موم زدایی از برش ها، هضم پروتئاز و هضم DNase و RNase نمونه ها
۳۰۸	۱۴-۳-۳ انجام واکنش رونویسی معکوس درجا بر روی برش ها
۳۰۹	۱۴-۳-۴ انجام هضم RNase (در صورت لزوم) از نمونه ها به منظور حذف اتصال اشتباهی بین آغازگرهای PCR و مولکول های mRNA
۳۰۹	۱۴-۳-۵ تهیه کاوشگر های رادیواکتیو یا ³² P-UTP و کاوشگر های غیر رادیواکتیو برای FISH
۳۱۰	۱۴-۳-۶ طراحی آغازگرهای اختصاصی جهت <i>in situ</i> PCR
۳۱۰	۱۴-۳-۷ انجام <i>in situ</i> PCR
۳۱۰	۱۴-۳-۸ انجام دورگه سازی درجا و تشخیص توسط روش های RISH یا FISH
۳۱۰	۱۴-۴ شناسایی PCR یا RT-PCR درجای DNA یا mRNA با استفاده از الحاق مستقیم dUTP-11-Digoxigenin یا Biotin
۳۱۰	dUTP بدون دورگه سازی
۳۱۲	منابع

فصل ۱۵- جداسازی و تعیین خصوصیات ژن های به دست آمده از کتابخانه های DNA ژنومی

۳۱۳	۱۵-۱ مقدمه
۳۱۴	۱۵-۲ انتخاب ناقلین لامبدا
۳۱۵	۱۵-۳ جداسازی DNA ژنومی با وزن مولکولی بالا
۳۱۵	۱۵-۴ هضم نسبی DNA ژنومی به وسیله آنزیم محدودالانر <i>Sau3AI</i>
۳۱۵	۱۵-۴-۱ تعیین هضم نسبی بهینه DNA ژنومی توسط <i>Sau3AI</i>
۳۱۶	۱۵-۴-۲ تهیه DNA ژنومی به طور نسبی هضم شده در حجم زیاد
۳۱۸	۱۵-۵ پرکردن نسبی انتهای فرورفته ۳' قطعات DNA ژنومی
۳۱۸	۱۵-۶ اتصال DNA الحاقی به ناقلین
۳۱۸	۱۵-۶-۱ اتصال قطعات DNA ژنومی پرشده به طور نسبی و بازوهای ناقل لامبدای GEM-12 پرشده به طور نسبی در حجم کم
۳۱۹	۱۵-۶-۲ بسته بندی DNA متصل شده
۳۲۰	۱۵-۶-۳ تعیین غلظت فاز بسته بندی شده در محیط کشت لوریا - برنونی (LB)
۳۲۱	۱۵-۶-۴ اتصال در حجم زیاد بازوهای ناقل نسبتاً پرشده و قطعات DNA ژنومی نسبتاً پرشده
۳۲۲	۱۵-۷ غربالگری کتابخانه DNA ژنومی و جداسازی کلون های خاص
۳۲۲	۱۵-۷-۱- روش الف. غربالگری یک کتابخانه ژنومی با استفاده از کاوشگر نشاندار α^{32} P

۳۲۷.....	۱۵-۷-۲ روش ب. غربالگری کتابخانه ژنومی با استفاده از کاوشگر نشاندار غیر ایزوتوپ
۳۲۸.....	۱۵-۸ جداسازی DNA یاز لایه با روش مایع
۳۳۰.....	۱۵-۹ نقشه یابی به وسیله آنزیم های محدودالانر DNA باکتریوفاز نو ترکیب حاوی DNA ژنومی الحاقی مورد نظر
۳۳۲.....	۱۵-۱۰ زیرهمسان سازی ژن و یا قطعات DNA جداسازی شده
۳۳۲.....	۱۵-۱۱ تعیین خصوصیات DNA جداسازی شده
۳۳۴.....	منابع

۳۳۵.....	فصل ۱۶- سلول های بنیادی موش به عنوان رده سلول جانوری مدل جهت بررسی بیان ژن
۳۳۵.....	۱۶-۱ مقدمه
۳۳۵.....	۱۶-۲ دستورالعمل ۱- کشت سلول های بنیادی جنینی در محیط حاوی فاکتور مهار لوسمی
۳۳۵.....	۱۶-۳ دستورالعمل ۲- آماده سازی سلول های STO غیر فعال شده میتوزی به عنوان لایه های غذا دهنده جهت رشد سلول های بنیادی جنینی
۳۳۷.....	۱۶-۴ دستورالعمل ۳- کشت سلول های بنیادی جنینی بر روی لایه های غذا دهنده فیرو بلاست
۳۳۸.....	۱۶-۵ دستورالعمل ۴- تریپسین کردن، منجمد، و ذوب کردن سلول های جانوری
۳۳۸.....	۱۶-۵-۱ تریپسین کردن
۳۴۰.....	۱۶-۵-۲ انجماد مجدد
۳۴۰.....	۱۶-۵-۳ ذوب و کشت مجدد
۳۴۰.....	۱۶-۶ دستورالعمل ۵- شمارش سلولی و تعیین تانم سای
۳۴۳.....	منابع

۳۴۵.....	فصل ۱۷ راهبردهایی برای سرکوب مضاعف ژن
۳۴۵.....	۱۷-۱ مقدمه
۳۴۶.....	۱۷-۲ خلاصه و اصول کلی روش های سرکوب مضاعف ژن و خاموشی موقت
۳۴۹.....	۱۷-۳ دستکاری ژن خاص به منظور ایجاد ژن هدف
۳۴۹.....	۱۷-۳-۱ دستورالعمل الف. تخریب اگزون در یک ژن خاص
۳۵۰.....	۱۷-۳-۲ دستورالعمل ب. حذف اگزون های یک ژن خاص
۳۵۱.....	۱۷-۳-۳ دستورالعمل ج. نهیه DNA ایزوژنی با استفاده از روش PCR
۳۵۱.....	۱۷-۳-۳-۱ طراحی دو جفت آغازگر
۳۵۲.....	۱۷-۳-۳-۲ تکثیر قسمت های ۵' و ۳' قطعات DNA ایزوژن به وسیله PCR
۳۵۴.....	۱۷-۳-۳-۳ الکتروفرورز محصولات PCR
۳۵۷.....	۱۷-۳-۳-۴ تخلیص باندهای PCR از ژل آگارز و اتصال قطعات DNA ایزوژنی به یک ژن نشانگر قابل انتخاب
۳۵۷.....	۱۷-۴ طراحی و انتخاب ناقلها و ژن های نشانگر برای سرکوب مضاعف و خاموشی موقت ژن
۳۵۷.....	۱۷-۴-۱ نوع الف. ناقل ژن NEO^R برای نسخه اول سرکوب ژن
۳۵۸.....	۱۷-۴-۲ نوع ب. ناقل ژن HYG^R برای نسخه دوم سرکوب ژن
۳۵۹.....	۱۷-۴-۳ نوع ج. ناقل ژن $HYRT^R$ برای حفظ ژن سرکوب شده مضاعف خاموش
۳۶۰.....	۱۷-۵ تهیه سازه های DNA برای سرکوب مضاعف و یک خاموش کننده
۳۶۱.....	۱۷-۶ ترانلودگی سلول های ES با سرکوب مضاعف و خاموش گر و سازه ها
۳۶۲.....	۱۷-۶-۱ روش الف. ترانلودگی به وسیله الکتروپوریشن
۳۶۲.....	۱۷-۶-۲ روش ب. ترانلودگی سلول ها به وسیله معرف لیپوفکتن

۳۶۴.....	۱۷-۷ انتخاب و تعیین ویژگی کلون‌های سلول ES هدف
۳۶۴.....	۱۷-۷-۱ انتخاب دارویی دوتایی سلول‌های حاوی ژن سرکوب مضاعف
۳۶۵.....	۱۷-۷-۲ انتخاب دارویی سه تایی سلول‌های حاوی ژن سرکوب مضاعف
۳۶۵.....	۱۷-۷-۳ انتخاب تکی سلول‌های حاوی ژن سرکوب خاموش
۳۶۵.....	۱۷-۸ تعیین ویژگی کلون‌های سلولی ES هدف
۳۶۵.....	۱۷-۸-۱ رنگ آمیزی بتاگالاکتوزیداز سلول‌ها
۳۶۶.....	۱۷-۸-۲ آنالیز لکه‌گذاری سادرین
۳۶۶.....	۱۷-۸-۲-۱ جداسازی DNA ژنومی از سلول‌های کشت شده
۳۶۷.....	۱۷-۸-۲-۲ آنالیز داده‌های لکه‌گذاری سادرین
۳۶۷.....	۱۷-۸-۲-۳ آنالیز لکه‌گذاری وسترن
۳۷۱.....	۱۷-۹ تولید نتاج تراریخت از سلول‌های ES سرکوب مضاعف
۳۷۱.....	۱۷-۹-۱ روش ۱. انتخاب ماده‌های فحلی C5۷ BL/۶ J
۳۷۲.....	۱۷-۹-۲ روش ۲. تهیه بانک از موش‌های نرغقیم به وسیله وازکتومی
۳۷۲.....	۱۷-۹-۳ روش ۳. جفت گیری ماده‌های فحلی و موش‌های نرغقیم
۳۷۲.....	۱۷-۹-۴ روش ۴. تهیه جین‌های مرحله پلاسوسیت از موش‌های با حاملگی کاذب
۳۷۲.....	۱۷-۹-۵ روش ۵. تهیه بافت ریزد سکاری
۳۷۲.....	۱۷-۹-۶ روش ۶. تزریق سلول‌های فحلی به بافت ساریست‌ها
۳۷۲.....	۱۷-۹-۷ روش ۷. کاشت مجدد پلاسوسیت‌ها تراریخت شده به داخل رحم موش‌های پذیرنده
۳۷۲.....	۱۷-۱۰ تعیین ویژگی موش‌های جهش یافته
۳۷۳.....	منابع

۳۷۵.....	فصل ۱۸- تخلیص و بیان پروتئین‌های نو ترکیب در سلول‌های کشت شده در مقیاس بزرگ
۳۷۵.....	۱۸-۱- مقدمه
۳۷۵.....	۱۸-۲ بیان و تخلیص پروتئین‌ها در سیستم‌های یوکاریوتی
۳۷۶.....	۱۸-۲-۱ طراحی و انتخاب ناقلین بیان باکتریایی
۳۷۹.....	۱۸-۲-۲ همسانه سازی cDNA های الخاقی در داخل ناقلین
۳۷۹.....	۱۸-۲-۳ بیان پروتئین‌های هدف در باکتری‌ها
۳۷۹.....	۱۸-۲-۳-۱ دستورالعمل الف- تراریخت نمودن اشریشیاکلی (E3) B121 با ناقل نشان داده شده در شکل ۱۸-۱ با استفاده از روش CaCl2
۳۸۰.....	۱۸-۲-۳-۲ دستورالعمل ب. القاء بیان پروتئین با استفاده از IPTG
۳۸۱.....	۱۸-۲-۳-۳ دستورالعمل ج. تراریخت نمودن سوش‌های اشریشیاکلی TOP10 JM109 HB101 یا DH5αF' با استفاده از ناقلی که در شکل ۱۸-۲ نشان داده شده است.
۳۸۲.....	۱۸-۲-۳-۴ دستورالعمل د. القاء بیان پروتئین با استفاده از شوک حرارتی
۳۸۲.....	۱۸-۲-۴ تخلیص و برش پروتئین‌های بیان شده
۳۸۲.....	۱۸-۲-۴-۱ تجزیه پروتئین‌های سلولی با استفاده از SDS-PAGE، لکه گذاری نقطه‌ای، یا لکه گذاری وسترن
۳۸۳.....	۱۸-۲-۴-۲ استخراج پروتئین کل جهت تخلیص
۳۸۴.....	۱۸-۲-۴-۳ تخلیص سریع پروتئین‌های بیان شده با استفاده از کروماتوگرافی ستونی میل ترکیبی بر حسب هیستیدینی
۳۸۶.....	۱۸-۲-۴-۴ برش پروتئین‌های بر حسب هیستیدینی
۳۸۹.....	۱۸-۳ بیان بیش از حد پروتئین‌های اختصاصی در سیستم‌های یوکاریوتی

۳۹۲	۱۸-۳-۱- همسانه سازی cDNA که باید در ناقلین بیان، بیان شود
۳۹۴	۱۸-۳-۲- تراریخت نمودن مخمر بی چیا با سازه های بیان DNA
۳۹۴	۱۸-۳-۲-۱- دستورالعمل الف. خطی کردن DNA یلاسمیدی
۳۹۴	۱۸-۳-۲-۲- دستورالعمل ب. تراریخت نمودن Pichia بی چیا یا استفاده از الکتروپوراسیون (ایجاد منافذ به وسیله الکتریسیته)
۳۹۶	۱۸-۳-۲-۳- دستورالعمل ج. آماده سازی اسفروپلاست ها برای تراریخت نمودن
۳۹۹	۱۸-۳-۲-۴- دستورالعمل د. تراریخت نمودن اسفروپلاست ها با DNA ی خطی شده
۴۰۲	۱۸-۳-۳- غربالگری و جداسازی فتوتیپ های HIS+MUTS و HIS+MUT+
۴۰۴	۱۸-۳-۴- شناسایی تراریخت هایی که حاوی cDNA ای که باید بیان گردد، می باشند
۴۰۴	۱۸-۳-۵- بیان پروتئین ها در تراریخت ها
۴۰۴	۱۸-۳-۵-۱- تعیین شرایط بهینه برای بیان پروتئین
۴۰۶	۱۸-۳-۵-۲- بیان پروتئین ها در مقیاس صنعتی
۴۰۶	۱۸-۳-۵-۳- استخراج پروتئین های کل برای خالص سازی
۴۰۷	۱۸-۳-۶- تخلیص و برش پروتئین اذغی
۴۰۸	منابع

۴۰۹	فصل ۱۹ - آنالیز کمی عملکرد ژنوم، روش RT-PCR در زمان واقعی
۴۰۹	۱۹-۱- مقدمه
۴۱۱	۱۹-۲- جداسازی RNA کل از بافت ها یا اندام های زردنظ
۴۱۳	۱۹-۳- جداسازی RNA ی کل از سلول های کشت شده
۴۱۴	۱۹-۴- تهیه خزانه RNA
۴۱۴	۱۹-۵- طراحی آغازگرها و کاوشگرها
۴۱۵	۱۹-۶- RT-PCR زمان واقعی
۴۱۵	۱۹-۶-۱- ترکیب مواد واکنش
۴۱۷	۱۹-۶-۲- برنامه دادن و انجام RT-PCR در زمان واقعی
۴۱۷	۱۹-۶-۳- تجزیه داده ها
۴۲۰	۱۹-۶-۴- اعتبارسنجی
۴۲۱	منابع

۴۲۳	فصل ۲۰- بررسی پربازده بیان ژن با استفاده از فن آوری پیشرفته ریزآرایه های DNA تراشه های (DNA)
۴۲۳	۲۰-۱- مقدمه
۴۲۳	۲۰-۲- جداسازی RNA ی کل از سلول ها یا بافت ها
۴۲۵	۲۰-۳- تهیه کاوشگرهای فلورسنت از mRNA
۴۲۷	۲۰-۴- تهیه ریزآرایه ها یا تراشه های DNA
۴۲۷	۲۰-۵- پیش هیبریداسیون تراشه ها یا آرایه های ژن
۴۲۸	۲۰-۶- هیبریداسیون
۴۲۸	۲۰-۷- آبدهی
۴۲۹	۲۰-۸- اسکن کردن تراشه های DNA با استفاده از اسکنر ریزآرایه GENEPIX 4000a
۴۳۲	منابع

فصل ۲۱- ساخت و غربالگری کتابخانه‌های آنتی بادی انسان با استفاده از تکنولوژی نمایش فاز..... ۴۳۳

۴۳۳	۲۱-۱ مقدمه
۴۳۵	۲۱-۲ تهیه سلول‌های خونی سفید (WBC) یا لنفوسیت‌ها برای جداسازی RNA
۴۳۵	۲۱-۲-۱ تهیه سلول‌های سفید از خون
۴۳۵	۲۱-۲-۲ تهیه لنفوسیت‌ها از بافت
۴۳۶	۲۱-۳ جداسازی RNA کل از لنفوسیت‌ها
۴۳۶	۲۱-۴ ساخت cDNA
۴۳۶	۲۱-۴-۱ ساخت رشته اول cDNA از روی mRNA
۴۳۹	۲۱-۴-۲ ساخت cDNA دو رشته‌ای از cDNA های افتراقی
۴۴۰	۲۱-۵ طراحی آغازگرها جهت ساخت خزانه ژن V آنتی بادی
۴۴۰	۲۱-۶ تکثیر PCR نواحی متغیر زنجیره سنگین و سبک (VH, VL)، اتصال دهنده، و سرهم کردن DNA ی تک زنجیره‌ای نوترکیب به وسیله PCR
۴۴۳	۲۱-۷ تولید سازه‌های DNA نو ترکیب برای بیان آنتی بادی‌های نو ترکیب در سطح فاز
۴۴۵	۲۱-۸ بیان، اتصال انتخابی آنتی بادی و تعیین ویژگی آنتی بادی‌های تک تیار تولید شده توسط فاز
۴۴۶	۲۱-۸-۱ آلودگی باکتری حامل کنترا DNA نو ترکیب و نجات کتابخانه‌های فازمید
۴۴۸	۲۱-۸-۲ انتخاب ذرات فاز آنتی بادی از طریق اتصال انتخابی آنتی بادی
۴۵۰	منابع

فصل ۲۲- کاهش بیان ژن در پستانداران از طریق RNA ی siRNA..... ۴۵۱

۴۵۱	۲۲-۱ مقدمه
۴۵۲	۲۲-۲ طراحی الیگونوکلوئیدها برای siRNA سنجاق سری
۴۵۲	۲۲-۲-۱ انتخاب جایگاه هدف siRNA
۴۵۲	۲۲-۲-۲ انتخاب اندازه و جهت الیگومرها برای siRNA ها
۴۵۳	۲۲-۲-۳ ساخت الیگونوکلوئیدهای کدکننده سنجاق سر siRNA
۴۵۳	۲۲-۳ تهیه و آماده سازی قطعه الیگونوکلوئید دورشته‌ای جهت همسانه‌سازی
۴۵۴	۲۲-۴ همسانه‌سازی الیگوی سنجاق سری siRNA درون ناقلین مناسب
۴۵۵	۲۲-۵ تخلیص DNA پلاسمید حامل siRNA سنجاقسری
۴۵۷	۲۲-۶ ترآلودگی موقت سلول‌های هدف با DNA ی پلاسمیدی تخلیص شده جهت بیان siRNA با هدف مهار mRNA ی مورد نظر
۴۵۹	۲۲-۷ جداسازی RNA کل از سلول‌های ترآلوده
۴۵۹	۲۲-۸ آنالیز مهار mRNA اختصاصی از طریق siRNA ها توسط لکه‌گذاری و بردن
۴۶۰	۲۲-۹ استخراج پروتئین‌ها برای آنالیز پروتئوم و یا ژن گزارشگر
۴۶۰	۲۲-۹-۱ جداسازی پروتئین‌ها برای لکه‌گذاری و سترن
۴۶۰	۲۲-۹-۲ استخراج پروتئین‌ها برای سنجش فعالیت گزارشگر
۴۶۰	۲۲-۱۰ آنالیز مهار بیان ژن با واسطه siRNA در سطح پروتئوم از طریق لکه‌گذاری و سترن
۴۶۰	۲۲-۱۱ سنجش کاهش بیان ژن گزارشگر از طریق siRNA ها
۴۶۲	منابع

فصل ۲۳- راهکارهایی برای همسانه‌سازی و بیان ژن و شناسایی برهمکنش پروتئین - پروتئین..... ۴۶۳

۴۶۳	۲۳-۱ مقدمه
-----	------------------

۴۶۳	۲۳-۲	همسانه‌سازی PCR-TA بدون DNA لیگاز با بازدهی بالا و سریع
۴۶۴	۲۳-۲-۱	انتخاب ناقل همسانه‌سازی
۴۶۵	۲۳-۲-۲	طراحی آغازگر PCR
۴۶۵	۲۳-۲-۳	انجام واکنش‌های PCR
۴۶۶	۲۳-۲-۴	همسانه‌سازی TA
۴۶۶	۲۳-۲-۵	ترازیخت‌سازی ای‌ولای تیمار شده شیمیایی سلول‌های مستعد ONE-SHOT TOP10
۴۶۷	۲۳-۲-۶	تایید نوآلی‌های DNA کلونی‌ها
۴۶۷	۲۳-۳	تراآلودگی سلول‌های یوکاریوتی برای بیان پروتئین‌های موردنظر
۴۶۷	۲۳-۳-۱	استفاده از معرف FUGene 6
۴۶۸	۲۳-۳-۲	استفاده از لیپوفکتامین ۲۰۰۰
۴۶۸	۲۳-۴	استخراج پروتئین
۴۷۰	۲۳-۶	آنالیز و شناسایی پروتئین‌های پیوندی
۴۷۱	۲۳-۷	راهکارهای مختلف برای همسانه‌سازی، شناسایی، نقشه‌یابی و توصیف برهمکنش پروتئین-پروتئین
۴۷۱	۲۳-۷-۱	استفاده از پروتئین فلورسنت به‌عنوان یک برجسب ترکیبی و آنالیز به‌وسیله میکروسکوپ فلورسنت
۴۷۲	۲۳-۷-۲	همسانه‌سازی و بیان پروتئین‌های موردنظر با روش ردیابی MiniTAG
۴۷۲	۲۳-۷-۳	چگونگی طراحی، همسانه‌سازی و تعیین نواحی اتصال پروتئین‌های موردنظر
۴۷۳	۲۳-۸	تحقیق پیرامون بیولوژی یا مکانیزم‌های اجزای پروتئین‌های تعاملی
۴۷۴		منابع
۴۷۵		فصل ۲۴- سرکوب شرطی ژن
۴۷۵	۲۴-۱	مقدمه
۴۷۶	۲۴-۲	تولید سازه‌های DNA Cre-LoxP
۴۷۶	۲۴-۲-۱	انتخاب ژن با اگزون(ها)ی موردنظر که قرار است مورد هدف قرار گیرد
۴۷۷	۲۴-۲-۱-۱	جداسازی سریع RNA کل با استفاده از واکنش Trizol
۴۷۸	۲۴-۲-۱-۲	طراحی آغازگرها جهت RT-PCR با استفاده از mRNA به‌عنوان الگو
۴۷۸	۲۴-۲-۱-۳	انجام RT-PCR
۴۷۹	۲۴-۲-۲	انتخاب ناقل(های) همسانه‌سازی
۴۷۹	۲۴-۲-۳	انتخاب پروموتور جهت بیان CRE
۴۷۹	۲۴-۲-۴	همسانه‌سازی
۴۸۰	۲۴-۳	تولید رده موش ترازیخت حاوی کاسب LoxP، کاسب CRE یا هر دو
۴۸۱	۲۴-۳-۱	روش ۱، تولید موش‌های ترازیخت از طریق انتقال پایدار یا ریزتزریقی سلول‌های بنیادی جنینی
۴۸۱	۲۴-۳-۱-۱	انتخاب موش‌های ماده C57Bl/6J در مرحله فحلی
۴۸۲	۲۴-۳-۱-۲	تهیه خزانه‌ای از موش‌های عقیم از طریق وارکتومی
۴۸۳	۲۴-۳-۱-۳	جفت‌گیری ماده‌های فحلی با نرهای عقیم
۴۸۳	۲۴-۳-۱-۴	تهیه جنین مرحله بلاستوسیست از موش‌های دارای حاملگی کاذب
۴۸۴	۲۴-۳-۱-۵	آماده‌سازی دستگاه دستگیری میکروسکوپی
۴۸۵	۲۴-۳-۱-۶	تزریق سلول‌های ES ترازیخت پایدار به داخل بلاستوسیست
۴۸۵	۲۴-۳-۱-۷	کاشت مجدد بلاستوسیست‌های تزریق شده در داخل رحم دریافت‌کنندگان ماده
۴۸۶	۲۴-۳-۲	روش ۲، تولید موش‌های ترازیخت از تزریق تخمک‌های تزریق شده همراه با سازه‌های DNA

۴۸۶	۲۴-۳-۲-۱ نهیه اووسیت‌ها.....
۴۸۸	۲۴-۳-۲-۲ ریزترزیقی سازه های DNA به داخل اووسیت‌ها.....
۴۸۸	۲۴-۳-۲-۳ کشت مجدد تخمک‌های تزریق شده به موش‌های ماده دریافت کننده و تولید موش‌های پایه‌گذار.....
۴۸۹	۲۴-۴ تولید و ویژگی رده‌های A و B موش تراریخت پایدار.....
۴۸۹	۲۴-۵ تولید و مشخص کردن رده C موش تراریخت.....
۴۸۹	۲۴-۵-۱ تجزیه و تحلیل ژنوتیپی.....
۴۸۹	۲۴-۵-۲ تجزیه و تحلیل کارکردی ژنوم.....
۴۹۰	۲۴-۵-۳ زن گزارشگر.....
۴۹۰	۲۴-۵-۴ رنگ‌آمیزی ایمونوهستوشیمی.....
۴۹۰	۲۴-۵-۵ تجزیه و تحلیل عملکرد و فنوتیپ.....
۴۹۱	منابع.....

فصل ۲۵. تهیه نوشتار پژوهشی جهت انتشار در یک مجله انگلیسی..... ۴۹۳

۴۹۳	۲۵-۱ مقدمه.....
۴۹۵	۲۵-۲ عنوان.....
۴۹۵	۲۵-۳ نویسندگان و وابستگی سازمان.....
۴۹۶	۲۵-۴ مواد و روش‌ها.....
۴۹۶	۲۵-۵ نتایج.....
۴۹۷	۲۵-۶ چکیده (خلاصه در بعضی مجلات).....
۴۹۸	۲۵-۷ مقدمه.....
۴۹۸	۲۵-۸ بحث.....
۴۹۸	۲۵-۹ تشکر و قدردانی.....
۴۹۹	۲۵-۱۰ منابع.....
۴۹۹	۲۵-۱۱ تطابق ساختار متن.....
۴۹۹	۲۵-۱۲ اصلاح دقیق و ثبت مقاله.....
۴۹۹	۲۵-۱۳ تاملی بر اینکه متن خود را در کدام مجله ثبت کنید.....
۵۰۰	۲۵-۱۴ پاسخ دادن به پیشنهاد بازنگری کننده، بازنگری مجدد متن بر اساس انتقاد بازنگری کننده و ثبت مجدد مقاله.....
۵۰۱	منابع.....

فصل ۲۶- چگونه از نوآوری و یافته‌های خود محافظت کنید..... ۵۰۳

حق ثبت اختراع ۱۰۱..... ۵۰۳

۵۰۳	۲۶-۱ مقدمه.....
۵۰۳	۲۶-۲ کشفیات محققین در مقابل ایده‌های فکری، ابداع.....
۵۰۴	۲۶-۳ IP یا مدارک ابداع.....
۵۰۴	۲۶-۴ ادعاینامه یا طرح فن‌آوری.....
۵۰۵	۲۶-۵ درخواست موقت برای ثبت اختراع.....
۵۰۶	۲۶-۶-۱ عنوان.....
۵۰۶	۲۶-۶-۲ مخترع (مخترعین).....
۵۰۷	۲۶-۶-۳ نماینده.....

۵۰۷	۲۶-۶-۴ چکیده
۵۰۷	۲۶-۶-۵ سابقه و هدف اختراع (ابداع)
۵۰۷	۲۶-۶-۶ خلاصه اختراع
۵۰۸	۲۶-۶-۷ توصیف مختصری از ارقام و تصاویر
۵۰۸	۲۶-۶-۸ توصیف و شرح تصویری اختراع
۵۰۹	۲۶-۶-۹ منابع
۵۰۹	۲۶-۶-۱۰ ادعای اختراع
۵۱۱	منابع

۵۱۳	فصل ۲۷- تعیین تعداد نسخه‌های ژن انتقال یافته و محاسبات کاربردی زیستی
۵۱۳	۲۷-۱ مقدمه
۵۱۳	۲۷-۲ تعیین تعداد نسخه‌های ژن در حیوانات تراریخت
۵۱۵	۲۷-۳ وزن مولکولی
۵۱۵	۲۷-۴ محاسبه وزن مولکولی الیونوکلئوتیدها
۵۱۶	۲۷-۵ اسیدهای آمینه
۵۱۶	۲۷-۶ تبدیلات اسپکتوفوتتری
۵۱۷	۲۷-۷ تبدیلات مولاری DNA
۵۱۷	۲۷-۸ تبدیلات مولاری پروتئین
۵۱۷	۲۷-۹ تبدیل پروتئین - DNA
۵۱۷	۲۷-۱۰ مولاریته
۵۱۷	۲۷-۱۰-۱ تعریف مول
۵۱۷	۲۷-۱۰-۲ چگونگی تبدیل غلظت محلول یا بافر به مول یا غلظت مولار
۵۱۸	۲۷-۱۰-۳ چگونگی تبدیل یک حجم مشخص از یک محلول یا بافر با غلظت مشخص (mM ۱۰۰)، به وزن
۵۱۸	۲۷-۱۰-۴ تبدیلات معمول حجم محلول یا بافر
۵۱۸	۲۷-۱۰-۵ مثالی از تهیه یک محلول آگارگر
۵۱۹	۲۷-۱۰-۶ مثالی از تهیه یک محلول بسیدی
۵۱۹	۲۷-۱۱ محاسبه میانگین
۵۲۰	۲۷-۱۲ واریانس و انحراف معیار (SD)
۵۲۱	منابع

پیشگفتار مترجمان

مجموعه حاضر ترجمه کامل ویرایش سوم کتاب بیوتکنولوژی ژن (Gene Biotechnology) نوشته ویلیام وو و همکارانش است. در ویرایش حاضر جدیدترین مباحث مرتبط با فعالیت‌های بیوتکنولوژی ارائه و سعی شده پس از بحث مختصری پیرامون اهمیت تکنیک ارائه شده، به‌طور دقیق، کاربردی و با جزییات، مراحل اجرای آزمایش به همراه نحوه تهیه مواد لازم برای اجرای موفق آن ارائه شود. همچنین با توجه به تجربیات نگارندگان، در پایان هر مبحث سعی شده معمول‌ترین مشکلات پیش آمده در ارتباط با هر آزمایش ارائه و راه برطرف کردن آن نیز مطرح شود. ترجمه این کتاب با هدف فراهم کردن یک کتاب مرجع و درسی به زبان فارسی در مقوله بیوتکنولوژی صورت گرفته و سعی شده تا حد امکان ضمن حفظ امانت، ترجمه روان و قابل فهمی برای خوانندگان باشد. فصول مختلف این کتاب قابل استفاده برای دانش‌پژوهان و محققان حوزه‌های مختلف علوم از جمله مقاطع کارشناسی ارشد و دکتری بیوتکنولوژی کشاورزی (گیاهی)، بیوتکنولوژی پزشکی، بیوتکنولوژی مولکولی، اصلاح نباتات، مهندسی ژنتیک و ژنتیک مولکولی، اصلاح باغبانی، گیاهپزشکی و علوم دامی است. قابل یادآوری و انتهای کتاب راهنمای بسیار مناسبی برای طراحی پروژه‌های تحقیقاتی، که از ظرفیت دریافت اعتبار پژوهشی (گرنه) بین‌المللی برخوردارند و نیز مراحل ثبت حق مالکیت معنوی اختراع یا اکتشاف به‌دست آمده در طول اجرای پروژه در یک نهاد بین‌المللی، محرز می‌شود. همچنین این کتاب به‌عنوان منبع مرجعی برای محققان مختلف در مراکز تحقیقاتی و آزمایشگاه‌های مولکولی قابل استفاده و بهره‌برداری است.

این مجموعه با نگاهی تجربه‌محور و با دیدگاه مادی، اجرای آزمایش‌ها در آزمایشگاه‌های کوچک و محلی و همچنین آزمایشگاه‌های پیشرفته تدوین شده است. به نحوی که در جای جای کتاب دستورالعمل‌های متفاوتی بسته به هزینه‌های در اختیار، زمان در دسترس و یا دقت مورد نیاز ارائه شده و محقق در انتخاب هر کدام از این روش‌ها مختار است. در عین حال در ارتباط با هر کدام از روش‌ها جزییات اجرایی کار به‌دقت ذکر شده است. بر اساس تجربیات بسیار از افراد دانشجویان و حتی برخی محققین اطلاع کافی از دلیل استفاده از ترکیب یا بافری خاص در محلول واکنش ندارند. در این کتاب در بسیاری از موارد به مبنا و هدف بکارگیری این بافرها و یا ترکیبات خاص در واکنش‌ها اشاره شده است و در قالب ذکر نکات یا موارد شایان توجه به برخی جزییات کار که ممکن است سهواً در حین کار مورد توجه قرار نگرفته و آزمایش را با مشکل مواجه کند، اشاره شده است. همچنین بسته به مورد، هشدارهایی در مورد نحوه استفاده از مواد شیمیایی و خطرات احتمالی استفاده غیر صحیح از آنها گوشزد شده است. بخش‌های مختلف کتاب زنجیروار با یکدیگر در ارتباط بوده و خواننده را در صورت نیاز در هر بخش به فصل مربوطه ارجاع می‌دهد. امید است ترجمه این کتاب به زبان فارسی که پایان آن مصادف با روز فرخنده مبعث، روز میلاد ارزش‌های والای انسانی گردیده است، دامی برچسب کوچک در راستای اعتلای ایران اسلامی و کمک به محققان و پژوهشگران پرتلاش این مرز و بوم باشد.

پیش گفتار

ما در عصر انقلاب زیست فناوری¹ زندگی می‌کنیم. برای بسیاری از زیست‌شناسان سلولی و مولکولی، جریان عظیم اطلاعات پیرامون ژنوم انسان و روش‌های جدید، به‌صورت خاصی شگفت‌آور است زیرا زیست فناوری پیش‌تاز بوده و هر روز تغییرات سریعی به همراه می‌آورد. از آنجا که هر موجودی برای حیات به فعالیت‌های مولکولی وابسته است، تحقیقات زیست‌شناسی مولکولی در جنبه‌های مختلف بیشتر و بیشتر شده است. در واقع، گرایش عمومی مؤسسه ملی بهداشت آمریکا (NIH) و سایر مراکز سرمایه‌گذار برای اعطای بودجه تحقیقاتی با اولویت بالا به پیشنهادات تحقیقاتی افرادی است که از روش‌های زیست‌شناسی مولکولی استفاده می‌کنند. چگونه می‌توان به فناوری‌های زیستی جدید دست یافت و جدیدترین و معتبرترین آنها را برای انجام یک تحقیق بدیع استفاده نمود؟ یکی از اهداف این کتاب فراهم آوردن ابزارهای موردنیاز محققان برای انجام تحقیقات پیشرفته زیست‌شناسی سلولی و مولکولی است.

هدف دیگر این کتاب، راهنمایی دانشجویان تحصیلات تکمیلی در انجام دادن پژوهش مربوط به پایان‌نامه است. براساس تجربه ما، آموزش خوب دانشجوی تحصیلات تکمیلی عملکرد مستقل دانشجو با حداقل دریافت راهنمایی از استاد راهنمای خود را در پی خواهد داشت. چگونه یک پروژه تحقیقاتی جدید برای پایان‌نامه خود انتخاب می‌کنید؟ فرضیات، اهداف و طرح آزمایشی شما چیست؟ چگونه می‌توانید به مشکلات فنی پی برده و روش‌های موجود مهارت پیدا کنید؟ از کجا باید شروع کرد و نتایج مورد انتظار چیست؟ چگونه پایان‌نامه و نوشتار پژوهشی خود را برای انتشار می‌نویسید؟ مبرهن است که دانشجوی تحصیلات تکمیلی برای این پرسش‌ها به کمک‌هایی نیاز دارد. این کتاب سرنخ‌های آن را ارائه می‌نماید.

این کتاب طیف وسیعی از روش‌ها و فنون زیستی مولی را که بهبود یافته و به‌طور گسترده در زیست‌شناسی مولکولی، بیوشیمی، زیست‌شناسی سلولی، ایمنی‌شناسی، بیوشیمی پروتئین، نوترکیب، زیست‌دارویی و نظایر آن به‌کارگرفته می‌شود پوشش می‌دهد. این روش‌ها و دستورالعمل‌ها در فصول مربوطه ارائه می‌شوند که شامل موارد زیرند: روش‌هایی برای انجام پژوهشی بدیع، جداسازی سریع ژن‌ها یا cDNA خاص با استفاده از PCR، ساخت و غربالگری کتابخانه‌های DNA ژنومی و cDNA؛ تهیه سازه‌های DNA؛ توالی‌یابی DNA یا RNA ایزوتوپی و غیرایزوتوپی؛ شاهره اطلاعات و پایگاه‌های داده کامپیوتری اسیدنوکلئیک‌ها و پروتئین‌ها؛ تعیین ویژگی‌های DNA، RNA یا پروتئین‌ها با استفاده از دوره‌سازی لکه‌ساز، سادرن، نوردرن یا وسترن؛ تکنیک‌های فلورسنت، بیش بیان ژن؛ کاهش بیان ژن؛ و سرکوب ژن؛ در پستانداران؛ تجزیه DNA سلولی یا فراوانی mRNA از طریق دوره‌سازی درجای رادیواکتیو؛ موقعیت‌یابی DNA یا mRNA فراوان با استفاده از دوره‌سازی درجای فلورسنت؛ دوره‌سازی PCR درجای ژن‌های با تعداد نسخه کم و تشخیص mRNA‌های با فراوانی کم توسط RT-PCR درجای رادیواکتیو یا فلورسنت؛ بیان ژن، بیان در حجم زیاد و خالص‌سازی پروتئین‌های نوترکیب در سلول‌های کشت شده؛ بررسی دقیق بیان ژن‌ها با استفاده از RT-PCR در زمان واقعی؛ تهیه نمرخ بیان ژن از طریق ریزآرایه DNA، نمایش فاز، و فناوری siRNA؛ اتصال پروتئین پروتئین و برهمکنش‌های پروتئومیک؛ سرکوب شرطی ژن؛ و تعیین تعداد نسخه ژن. هر فصل، اصول نهفته در این روش‌ها و فنون را با تشریح گام به گام جزئیات هر دستورالعمل، نکات، تذکرات و راهنمای عیب‌یابی² پوشش می‌دهد. ما مشاهده کرده‌ایم که بسیاری از کتاب‌های موجود فعلی در زمینه زیست‌شناسی مولکولی تنها شامل مجموعه‌ای از دستورالعمل‌هاست. متأسفانه، نقص‌های زیادی در توضیح اصول و مفاهیم نهفته در روش‌های اشاره شده یا در مطلع کردن خواننده در زمینه مشکلات احتمالی پیش رو در روش‌های توضیح داده شده وجود دارد. ما

1- biotechnology revolution

2- gene overexpression

3- gene underexpression

4- gene knockout

5- radioactivity *in situ* hybridization

6- localization

7- *in situ* RT-PCR

8- phage display

9- conditional gene knockout

10- troubleshooting guide

سعی کرده‌ایم این نقایص را برطرف کنیم.

مهم‌تر اینکه، این کتاب کاربردی، جنبه‌های منحصر به فردی را ارائه می‌نماید که عبارتند از: (۱) جگونگی نگارش یک مقاله پژوهشی برای انتشار در مجلات انگلیسی زبان؛ (۲) جگونگی پشتیبانی از یافته‌ها و ابداعات پژوهشی از طریق حق ثبت اختراع^۱ و (۳) بحث پیرامون محاسبات زیستی عملی^۲. نگارندگان معتقدند که انتشار مقاله پژوهشی، برخورداری از مالکیت معنوی^۳ (IP) از طریق ثبت اختراع، و محاسبات زیستی مهم‌ترین موضوعات برای دانشجویان تحصیلات تکمیلی، محققان و اعضای هیأت علمی دانشگاه‌ها می‌باشند.

برای اطلاع خواننده، فصل ۱ توسط ویلیام وو^۴، پیت ب. کافمن^۵ و مایکل جی. ولش^۶ نوشته شده است. فصل‌های ۲، ۳، ۴، ۶، ۷، ۹، ۱۰، ۱۳-۱۷، ۲۲، ۲۳، ۲۵ و ۲۶ توسط ویلیام وو نوشته شده است. فصل ۸ توسط ویلیام وو و مایکل جی. ولش به رشته تحریر درآمده است. فصل ۵ توسط ویلیام وو و پیت ب. کافمن نوشته شده است. فصل‌های ۴، ۱۱، ۱۲، ۱۸، ۲۴ و ۲۷ توسط ویلیام وو و هلن ژانگ^۷ نوشته شده‌اند. در عین حال، هر چهار نویسنده در قالب یک گروه با یکدیگر کار کرده‌اند.

لازم می‌داند از اعضای شورا، مسئولان و کارکنان انتشارت دانشگاه تهران که موجبات چاپ این کتاب را فراهم ساخته‌اند تشکر و قدردانی گردد. همچنین از سرکار شما مهندس آوا بهروزی و بریناز توکلی به سبب همکاری در تدوین کتاب تشکر می‌شود.

www.ketab.ir

1- patent
2- practical biocalculation
3- intellectual property
4- William Wu
5- Peter B. Kaufman
6- Michael J. Welsh
7- Helen Zhang