



جهاد دانشگاهی استان کرمان

اصول سانسازی و تکثیر اسیدهای نوکلئیک

تألیف :

دکتر هادی رزاق

(عضو هیئت علمی دانشگاه شهید باهنر کرمان)

ژاله اسدی فخر

بهاره کاشانی

زینب کشاورز

عنوان و نام پدید آور	اصول شناسایی و تکثیر اسیدهای نوکلئیک/تالیف هادی روان..(و دیگران)
مشخصات نشر	کرمان: جهاد دانشگاهی، سازمان انتشارات واحد کرمان، ۱۳۹۵:
مشخصات ظاهری	۲۹۳: ص: مصور
شابک	۹۷۸-۶۰۰-۶۷۸۹-۳۶-۱:
وضعیت فهرست نویسی	فپا:
یادداشت	تالیف: هادی روان، ژاله اسدی فخر، بهاره کاشانی، زینب کشاورز.
یادداشت	کتابنامه:
موضوع	اسیدهای نوکلئیک:
موضوع:	اسیدهای نوکلئیک - تجزیه و آزمایش
شناسه افزوده	ان، هادی ۱۳۶۱ -
شناسه افزوده	جهاد دانشگاهی سازمان انتشارات واحد کرمان:
رده بندی کنگره	الف ۱۵۵ Q ۶ ۱۳۹۵
رده بندی دیویی	۵۷۶۱: ۳۰۵

نام کتاب	اصول شناسایی و تکثیر اسیدهای نوکلئیک
تالیف	هادی روان-ژاله اسدی فخر- بهاره کاشانی- زینب کشاورز
شماره کتابشناسی ملی	۴۲۱۱۸۳۶:
ناشر	جهاد دانشگاهی استان کرمان
تاریخ انتشار	۱۳۹۵:
تیراژ	۵۰۰:
نوبت چاپ	اول:
قیمت	۳۰۵۰۰: تومان

توسعه همه جانبه‌ی کشور عزیزمان ایران مستلزم توسعه‌ی تحقیق، پژوهش و بهره‌گیری از فناوری‌های نوین است که بخش عمده‌ای از این مسئولیت بزرگ، بر عهده‌ی استادان، محققان، دانشجویان و مؤسسات علمی و تحقیقاتی است. جهاد دانشگاهی نیز به عنوان نهادی برخاسته از انقلاب اسلامی با اهداف علمی، پژوهشی و فرهنگی، چاپ و نشر کتب علمی و دانشگاهی که نتیجه‌ی تحقیق، پژوهش و تلاش علمی و اندیشمندانه‌ی همکاران محترم عضو هیئت علمی دانشگاه‌ها و مراکز تحقیقاتی می‌باشد را در کنار دیگر مسئولیت‌های خطیر خود، رسالتی مهم تلقی می‌نماید. امید که خداوند متعال ما را در انجام این مهم، بیش از پیش یاری فرماید.

دکتر رضا کامیاب مقدس
رئیس جهاد دانشگاهی استان کرمان

سپاس خدای بزرگ را که توفیق عنایت کرد تا بعد از چندین سال کار تحقیقاتی در زمینه تکثیر اسیدهای نوکلئیک کتابی تألیف کنیم که از اصول ابتدایی تا روش‌های پیچیده تکثیر ماده‌ی ژنتیکی را به علاقمندان پیاموزد.

امروزه استفاده از اسیدهای نوکلئیک در تشخیص طیف وسیعی از بیماری‌های ژنتیکی و آلودگی‌های میکروبی بسیار مورد توجه قرار گرفته است. با توجه به اینکه تعداد کپی‌های موجود از هر نوع اسید نوکلئیک در سلول‌ها ناچیز می‌باشد، آنالیز آن‌ها نیازمند تکثیر ماده‌ی ژنتیکی است. در طی سال‌های اخیر روش‌های مختلف جهت تکثیر و ازدیاد اسیدهای نوکلئیک توسعه یافته که می‌توان آن‌ها را در دو دسته‌ی چرخه‌ای و هم‌دما (ایزوترمال) طبقه‌بندی نمود. استفاده از روش‌های چرخه‌ای به دلیل نیاز به ابزارهای خاصی چون ترموسایکلرها، به تدریج محدود شده و در عوض روش‌های هم‌دما به دلیل سادگی ابزار مورد نیاز به عنوان جایگزینی مطلوب برای آن‌ها شناخته شده‌اند. بدین منظور تمرکز اصلی کتاب حاضر بر بررسی روش‌های هم‌دما بوده است، ضمن آنکه رای فراهم نمودن شرایط مناسب جهت مقایسه‌ی روش‌های هم‌دما با نوع چرخه‌ای مقدمه‌ای کوتاه در مورد روش‌های چرخه‌ای نیز ارائه شده است. این کتاب در پنج فصل شامل واکنش زنجیره‌ای پلیمرز، روش‌های هم‌دما، روش‌های تشخیص، طراحی پرایمر، و بیومارکرهای ژنی تدوین گردیده و سعی شده از آخرین دستاوردها، علم دنیا در این زمینه استفاده شود. امیدواریم این اثر گامی هر چند کوتاه در جهت پیشبرد اهداف تحقیقاتی محققان عزیز کشورمان برداشته باشد.

هادی روان

عضو هیئت علمی دانشگاه شهید باهنر کرمان

۱	فصل اول
۱	واکنش زنجیره ای پلیمراز
۴	۱- RT PCR
۵	۲- PCR چند گانه
۶	۳- Nested PCR
۶	۴- Fast PCR
۷	۵- In situ PCR
۸	۶- Quantitative PCR
۹	۷- AFLP PCR
۱۰	۸- (DOP) Degenerative PCR
۱۳	فصل دوم
۱۳	روش های هم دما (ایزوترمال)
۱۳	۱- تکثیر به واسطه ی رونویسی (TMA)
۱۷	۲- تکثیر با جایگزینی رشته (SDA)
۲۰	۳- تکثیر نوکلئیک اسید بر اساس توالی (NASBA)
۲۳	۴- تکثیر دایره غلطان (RCA)
۲۶	۵- روش تکثیر شاخه دار با RCA منشعب یا آبشاری (RAM)
۲۸	۶- تکثیر هم دمای DNA به کمک لوب (LAMP)
۳۵	۷- تکنولوژی تکثیر RNA به واسطه سیگنال (SMART)
۳۸	۸- واکنش تکثیر نمایی (EXPAR)

- ۳۹..... ۹- تکثیر هم دما با جایگزینی چند گانه (IMDA).
- ۴۲..... ۱۰- تکثیر وابسته به هلیکاز (HDA).
- ۴۳..... ۱۱- تکثیر هم دما با یک پرایمر (SPIA).
- ۴۹..... ۱۲- تکثیر حلقوی وابسته به هلیکاز (cHDA).
- ۵۱..... ۱۳- تکثیر پلیمرازی ریکامیناز (RPA).
- ۵۲..... ۱۴- فرآیند تکثیر هوشمند ۲ (SMAP۲).
- ۵۶..... ۱۵- واکنش تکثیر با آنزیم برش دهنده (NEAR).
- ۵۹..... ۱۶- تکثیر با پرایمر متقاطع (CPA).
- ۶۴..... ۱۷- تکثیر حلقوی وابسته به اندونوکلاز برش دهنده (cNDA).
- ۶۷..... ۱۸- تکثیر و تشخیص به کمک Beacon (BAD-AMP).
- ۷۱..... منابع و مراجع

۷۵..... فصل سوم

۷۵..... روش های تشخیص

۷۵..... ۱- روش های رنگ سنجی

۷۵..... ۱،۱- Intercalating Dyes

۷۷..... ۱،۲- آزمایش جذب ایمنولوژیک متصل به آنزیم (ELISA)

۸۰..... ۱،۳- انتقال انرژی رزونانسی فلوروسانس (FRET)

۸۱..... ۱،۳،۱- Taq Man Probe

۸۳..... ۱،۳،۲- Neighbor probe/Hybrid probe/Pri-Pro ET(primer probe energy transfer)

۸۵..... ۱،۳،۳- Molecular Beacon Probe/Sunrise Probe

۸۸..... ۱،۳،۴- Scorpion Primer

۹۰..... ۱،۳،۵- HPA(Hybridization Protection Assay)

۹۱..... ۱،۳،۶- FIT Probe(Forced Intercalation Thiazole)/Light-up Probe

۹۲..... MLPA - ۱,۳,۷

۹۴..... LUX(Light Upon eXtention) Primer - ۱,۳,۸

۹۶..... Plexor Primer - ۱,۳,۹

۹۷..... Molecular Zipper Probe - ۱,۳,۱۰

۹۸..... TOCE - ۱,۳,۱۱

۱۰۱..... ۲-کوانتم دات ها

۱۰۴..... ۳-نانوذرات فلزات: مشهور

۱۰۵..... ۳-۱: ویژگی های نانوذرات

۱۱۰..... ۳-۲: روش های کاربردی شدن نانوذرات

۱۰۶..... ۳-۲-۱: کاربردی شدن نانوذرات

۱۰۹..... ۳-۳: روش های شناسایی یا استفاده از نانوذرات

۱۱۰..... ۳-۳-۱: شناسایی اسید های نوکلئیک با استفاده از نانوذرات طلا

۱۳۳..... ۳-۳-۲: شناسایی اسید های نوکلئیک با استفاده از نانوذرات نقره

۱۳۴..... ۳-۳-۳: شناسایی اسید های نوکلئیک با استفاده از نانوذرات مس

۱۳۵..... جمع بندی نهایی

۱۳۶..... منابع و مراجع

۱۴۱..... فصل چهارم

۱۴۲..... طراحی پرایمر

۱۴۲..... قوانین کلی در طراحی پرایمر [۱]

۱۴۳..... ۱- طول پرایمر

۱۴۴..... ۲- محتوای C+G

۱۴۴..... ۳- توالی پرایمر ها

۱۴۵..... ۴- انتهای ۳' پرایمر

- ۱۴۵..... ۵- انتخاب فاصله‌ی مناسب بین دو پرایمر
- ۱۴۶..... ۶- شرایط نمکی محیط
- ۱۴۷..... ۷- T_m پرایمر
- ۱۵۰..... جفت بازهای واتسون-کریک از منظر NN
- ۱۵۵..... ۱- جفت باز غلط درون رشته
- ۱۵۷..... ۲- ساختار لوپ
- ۱۵۹..... ۳- لوپ‌های ستجاق‌سری
- ۱۶۰..... ۴- لوپ‌های منشعب
- ۱۶۱..... ۵- نوک و تپه انتهای
- ۱۶۲..... ۶- انتهای حلق
- ۱۶۳..... ۷- تراکم هم‌محور
- ۱۶۳..... ۸- لوپ‌های داخلی
- ۱۶۴..... ۹- بیرون‌زدگی
- ۱۶۵..... طراحی پرایمر در روش های تکثیر
- ۱۶۵..... الف- طراحی پرایمر در روش PCR
- ۱۶۵..... ب- طراحی پرایمر Multiplex PCR
- ۱۶۶..... ج- طراحی پرایمر روش DOP (پرایمرهای دژنراتیو)
- ۱۷۰..... د- طراحی پرایمر برای روش NASBA
- ۱۷۱..... ه- طراحی پرایمر در روش LAMP
- ۱۷۴..... و- طراحی پرایمر در روش SMAP [۸]
- ۱۷۷..... ز- طراحی پرایمر در روش BAD [۱۱]
- ۱۷۸..... طراحی پراب
- ۱۷۸..... الف- طراحی پراب یا کاوشگر TaqMan

۱۷۸.....	ب- طراحی پراب M. Beacon
۱۷۹.....	ج- طراحی پراب LUX
۱۸۰.....	منابع و مراجع
۱۸۳.....	فصل پنجم
۱۸۳.....	بیومارکرهای ژنی
۱۸۷.....	مارکرهای ویروسی
۱۸۷.....	۱- ژن‌های RNA
۱۸۷.....	۲- ژن‌های ساختار ویروسی
۱۸۸.....	۳- سایر ژن‌های ویروسی
۱۸۸.....	مارکرهای غیر ویروسی
۱۸۸.....	۱- ژن RNA ریپوزومی (rDNA)
۱۹۰.....	۲- پروتئین‌های اسکلت سلولی
۱۹۱.....	۳- ژن توکسین و ویرولاکس
۱۹۲.....	۴- ژن‌ها و توالی‌های اختصاصی
۱۹۳.....	۵- عناصر الحاقی
۱۹۳.....	۶- ژن‌های مینوکندریایی
۱۹۴.....	۷- ژن مارکرهای سطحی
۱۹۶.....	A- ویروس‌ها
۱۹۷.....	شناسایی ویروس‌ها بر اساس میزبان
۱۹۹.....	شناسایی ویروس‌ها بر اساس ژنوم
۲۰۷.....	بررسی ویژه‌ی برخی گروه‌های ویروسی
۲۰۷.....	۱- ویروس‌های با DNA هسته‌ای-سیتوپلاسمی بزرگ NCLDV
۲۱۱.....	۲- آدنوویروس‌ها

۲۱۲..... ۳- تر و وایروس ها

۲۱۵..... B- باکتری ها

۲۱۶..... باکتری های گرم مثبت

۲۱۶..... ۱- کلستری دیوم

۲۱۷..... ۲- باسیلوس

۲۱۸..... ۳- مایکوباکتریوم

۲۲۰..... باکتری های گرم منفی

۲۲۰..... ۱- شریشیا کلائی

۲۲۱..... ۲- سالمونلا

۲۲۱..... ۳- کلیسیلا

۲۲۲..... C- قارچ ها

۲۲۴..... ۱- آسپرژیلوس

۲۲۵..... ۲- کاندیدا

۲۲۸..... ۳- ساکارومایسس

۲۲۸..... ۴- آنترناریا

۲۲۹..... ۵- پنی سیلیوم

۲۳۰..... D- بیماری های انسانی

۲۳۰..... سرطان

۲۳۱..... مارکرهای توموری

۲۳۶..... ۱- نشانگان کاودن

۲۳۷..... ۲- نشانگان لینچ

۲۳۹..... ۳- نشانگان پیوتر جگر

۲۳۹..... ۴- نشانگان لی-فرانومنی

۲۴۰.....	۵-نشانگان HDGC
۲۴۱.....	۶-نشانگان FAP
۲۴۲.....	۷,۱-نشانگان سرطان پستان و تخمدان ارثی
۲۴۲.....	۷,۲-نشانگان سرطان پستان و تخمدان HBOC
۲۴۳.....	۱-سرطان پوست
۲۴۶.....	۲-سرطان خون
۲۴۸.....	۳-سرطان شانه
۲۵۰.....	۴-سرطان معده
۲۵۲.....	۵-سرطان پستان
۲۵۴.....	۶-سرطان کولون و رکتوم
۲۵۵.....	۷-سرطان غدد لنفاوی (لنفوما)
۲۵۷.....	۸-سرطان مغز
۲۵۹.....	۹-سرطان خنجره
۲۵۹.....	۱۰-سرطان پروستات
۲۶۰.....	۱۱-سرطان ریه
۲۶۳.....	بیومارکهای ژنی در سایر بیماری ها
۲۶۴.....	۱-هانتینگتون
۲۶۶.....	۲-تالاسمی
۲۶۸.....	۳-آرتریت روماتوئید (روماتیسم مفصلی)
۲۶۹.....	۴-اسکیزوفرنی
۲۷۲.....	منابع و مراجع

سپاس خدای بزرگ را که توفیق عنایت کرد تا بعد از چندین سال کار تحقیقاتی در زمینه‌ی تکثیر اسیدهای نوکلئیک کتابی تألیف کنیم که از اصول ابتدایی تا روش‌های پیچیده‌ی تکثیر ماده‌ی ژنتیکی را به علاقمندان پیاموزد.

امروزه استفاده از اسیدهای نوکلئیک در تشخیص طیف وسیعی از بیماری‌های ژنتیکی و آلودگی‌های میکروبی بسیار مورد توجه قرار گرفته است. با توجه به اینکه تعداد کپی‌های موجود از هر نوع اسید نوکلئیک در سلول با جزی می‌باشد، آنالیز آن‌ها نیازمند تکثیر ماده‌ی ژنتیکی است. در طی سال‌های اخیر روش‌های مختلفی جهت تکثیر و ازدیاد اسیدهای نوکلئیک توسعه یافته که می‌توان آن‌ها را در دو دسته‌ی چرخه‌ای و هم‌دما (ایزوترمال) طبقه‌بندی نمود. استفاده از روش‌های چرخه‌ای به دلیل نیاز به ابزارهای خاصی چون ترموسایکلرهای دقیق تا حدودی محدود شده و در عوض روش‌های هم‌دما به دلیل سادگی ابزار مورد نیاز به عنوان جایگزینی مطلوب برای آن‌ها شناخته شده‌اند. بدین منظور تمرکز اصلی کتاب حاضر بر بررسی روش‌های هم‌دما بوده است، ضمن آنکه برای فراهم نمودن شرایط مناسب جهت مقایسه‌ی روش‌های هم‌دما با نوع چرخه‌ای مقدمه‌ای کوتاه در مورد روش چرخه‌ای نیز ارائه شده است. این کتاب در پنج فصل شامل واکنش زنجیره‌ای پلیمراز، روش‌های هم‌دما، روش‌های تشخیص، المراحی پرایمر، و بیومارکرهای ژنی تدوین گردیده و سعی شده از آخرین دستاوردهای علمی دنیا در این زمینه استفاده شود. امیدواریم این اثر گامی هر چند کوتاه در جهت پیشبرد اهداف تحقیقاتی محققان عزیز کشورمان برداشته باشد.

هادی روان

عضو هیئت علمی دانشگاه شهید باهنر کرمان