۱۳۷۲۵۶۴

اصول و کاربردهای تکنیک

Real Time PCR

www.ketab.ir

تالیف:

دکتر رضا مهدیان

احمدرضا کامیاب

دکتر علی‌اکبر امیرزرگر

با همکاری:

دکتر بهار کاویانی

خدمتی دیگر...

سرشناسه	: مهدیان، رضا، ۱۳۴۸-
عنوان و نام پدیدآور	: اصول و کاربردهای تکنیک Real Time PCR
مشخصات نشر	: تهران: آرتین طب، ۱۳۹۳.
مشخصات ظاهری	: ۲۸۵ص.: مصور، جدول، نمودار
شابک	: ۹۷۸-۶۰۰-۷۶۳۹-۲۱-۴
وضعیت فهرست نویسی	: فیپای مختصر
یادداشت	: این مدرک در آدرس http://opac.nlai.ir قابل دسترسی است.
شناسه افزوده	: کامیاب، احمد رضا، ۱۳۶۰-
شناسه افزوده	: امیر زرگر، علی اکبر، ۱۳۳۸-
شماره کتابشناسی ملی	: ۳۷۶۴۹۷۳

نام کتاب:	**اصول و کاربردهای تکنیک Real-Time PCR**
مولفان:	دکتر رضا مهدیان - احمدرضا کامیاب دکتر علی‌اکبر امیرزرگر
ناشر:	آرتین‌طب
صفحه‌آرایی:	مجید شمیمی
نوبت چاپ:	اول - ۱۳۹۳
تیراژ:	۱۰۰۰
لیتوگرافی:	ندای دانش
چاپ:	دانش
صحافی:	دانش
شابک:	۹۷۸-۶۰۰-۷۶۳۹-۲۱-۴
بها:	۲۹۸۰۰ تومان

تمامی حقوق مادی و معنوی این اثر برای ناشر محفوظ است. لذا هرگونه تکثیر و بازنویسی مطالب به هر نحو ممکن در هرگونه رسانه کتاب، مجله، جزوه و لوح فشرده بدون اجازه کتبی ناشر **شرعاً حرام** است و موجب **پیگرد قانونی** می‌شود.

مرکز پخش:

تهـران - بلـوار کشـاورز - خیابـان ۱۶ آذر - پـلاک ۶۸

طبقـه سـوم - انتشـارات آرتین‌طـب تلفـن: ۸۸۹۷۱۴۰۰

فکـس: ۸۸۹۹۵۱۴۱

www.ketab.ir

فهرست

فصل ۱- کلیات تکنیک Real-Time PCR

۱-۱ مقدمه‌ای بر Real-Time PCR ۱۶
۱-۲ تاریخچه شناسایی و سنجش اسیدهای نوکلئیک ۱۶
۱-۳ تعریف Real-Time PCR کمی ۱۸
۱-۴ اصول تئوری و عملی Real-Time PCR ۱۸
۱-۵ مقدمه‌ای بر دستگاه Real-Time PCR ۲۶
۱-۶ مواد شیمیایی جهت آشکارسازی در Real-Time PCR ۳۰
۱-۷ مراحل عملی Real-Time PCR ۳۷

فصل ۲ - آنالیز و گزارش داده‌ها

۲-۱ مقدمه ۴۴
۲-۲ تعیین بهینه بودن یک آزمایش ۴۵
۲-۳-۱ منحنی‌های تکثیر ۴۶
۲-۳-۲ خط پایه ۴۹
۲-۳-۳ مقیاس آستانه ۵۱
۲-۳-۴ کنترل‌های مطلوب ۵۳
۲-۳-۴-۱ واکنش کنترل منفی بدون الگو ۵۳
۲-۳-۴-۲ واکنش کنترل منفی بدون رونویس معکوس ۵۵
۲-۳-۴-۳ کنترل مثبت ۵۶
۲-۳-۵ نمونه‌های تجربی ۵۶
۲-۳-۶ سنجش داده‌ها ۵۸
۲-۴ گزارش داده‌ها و آمار ۵۸

فصل ۳ - سنجش کمی نسبی

۳-۱ مقدمه ۶۲
۳-۲ اندازه‌گیری کمی نسبی ۶۲
۳-۳ نرمال سازی ۶۳
۳-۴ روش‌های محاسباتی ۶۳
۳-۵ کارآیی واکنش تکثیر Real-Time qPCR ۶۵
۳-۶ تعیین سرعت تکثیر واکنش ۶۶
۳-۶-۱ روش رقیق‌سازی ۶۶
۳-۶-۲ افزایش سیگنال فلورسانت در فاز لگاریتمی ۶۷

www.ketab.ir

۳-۶-۳ منحنی لوجستیک یا سیگموئیدی ۶۸
۳-۶-۴ محاسبه‌ی کارآیی واکنش در فاز لگاریتمی با استفاده از مدل‌های چندگانه ۶۸
۳-۷ تعیین صحیح نقطه تلاقی ۶۹
۳-۸ آنالیز داده‌های سنجش نسبی و کاربرد نرم‌افزارها ۷۱
۳-۸-۱ نرم افزار سنجش نسبی Light Cycler ۷۱
۳-۸-۳ نرم‌افزار Q-Gene ۷۲
۳-۸-۴ نرم‌افزار qBASE ۷۳
۳-۸-۵ نرم‌افزار SoFAR ۷۳
۳-۸-۶ نرم‌افزار DART-PCR ۷۳
۳-۹ نتیجه‌گیری ۷۳

فصل ۴ - نرمالیزاسیون

۴-۱ مقدمه ۷۶
۴-۲ خطای عمومی و انحراف جهت‌دار ۷۶
۴-۳ روش‌های نرمالیزه کردن ۷۶
۴-۳-۱ اندازه نمونه ۷۶
۴-۳-۲ مقدار RNA تام ۷۹
۴-۳-۳ سنجش کمی cDNA ۸۰
۴-۳-۴ کنترل‌های داخلی در PCR ۸۰
۴-۳-۴-۱ DNA ژنومی ۸۰
۴-۳-۴-۲ ژنوم خارجی ۸۱
۴-۳-۴-۳ ژن‌های مرجع یا خانه‌دار ۸۱
۴-۴ نتیجه‌گیری ۸۲

فصل ۵ - طراحی پرایمر و پروب

۵-۱-۱ ویژگی‌های یک پرایمر ۸۶
۵-۱-۲ طول پرایمر ۸۶
۵-۱-۳ درصد GC در توالی پرایمرها ۸۶
۵-۱-۴ پایداری انتهای ′۳ پرایمر ۸۶
۵-۱-۵ پیچیدگی توالی پرایمر ۸۶
۵-۱-۶ دمای ذوب پرایمرها ۸۶
۵-۱-۶-۱ قانون ۲ + ۴ ..... ۸۷
۵-۱-۶-۲ تعیین دمای ذوب براساس درصد GC و غلظت نمک ۸۷
۵-۱-۶-۳ روش نزدیکترین همسایه ۸۷
۵-۱-۷ محل و موقعیت پرایمر در توالی الگو ۸۷

www.ketab.ir

۵-۱-۸ اندازه قطعه تکثیری ۸۸
۵-۱-۹ ناحیه تلاقی اگزونی ۸۸
۵-۱-۱۰ ساختارهای ثانویه در پرایمر و توالی الگو ۸۸
۵-۱-۱۱ طراحی پروب تک-من ۸۸
۵-۱-۱۲ طراحی پروب بیکون مولکولی ۸۹
۵-۲-۱ الگوریتم طراحی پرایمر ۸۹
۵-۲-۱-۱ اختصاصیت پرایمر ۸۹
۵-۲-۱-۲ ساختارهای ثانویه توالی‌های الگو و پرایمر ۹۱
۵-۲-۱-۳ دمای ذوب پرایمر ۹۱
۵-۲-۱-۴ خصوصیات دیگر پرایمر ۹۱
۵-۲-۲ بانک پرایمر ۹۱
۵-۲-۳ ارزیابی پرایمرهای طراحی شده ۹۲
۵-۳ پروتکل عملی با استفاده از پرایمرهای بانک پرایمر ۹۲
۵-۳-۱ واکنش رونویسی معکوس ۹۳
۵-۳-۲ واکنشReal-Time PCR ۹۴
۵-۳-۳ رفع اشکال در واکنش‌های Real-Time PCR ۹۴
۵-۳-۴ عدم یا کاهش محصول PCR ۹۴
۵-۳-۵- کارآیی ضعیف واکنش تکثیر ۹۴
۵-۳-۶ جفت شدن پرایمرها ۹۴
۵-۳-۷ باندهای متعدد روی ژل یا پیک‌های متعدد در منحنی ذوب ۹۵
۵-۳-۸ تکثیر غیراختصاصی ۹۵
۵-۴ پایگاه‌های اطلاعاتی درباره‌ی طراحی پرایمر و پروب ۹۵
۵-۴-۱ پایگاه داده‌های پروب و پرایمر Real-Time PCR ۹۵
۵-۴-۲نرم‌افزارهای طراحی پرایمر و پروب ۹۵
۵-۴-۳ وب‌سایت‌های مفید دیگر ۹۶

فصل ۶ - آنالیز بیان ژن در چشم

۶-۱ مقدمه ۹۸
۶-۱-۱ بیان ژن‌ها در بافت چشم ۹۸
۶-۱-۲ مشکلات سنجش بیان ژن در بافت چشم ۹۸
۶-۱-۲-۱ حساسیت به نور ۹۹
۶-۱-۲-۲ کمیت RNA ۱۰۰
۶-۱-۲-۳ کیفیت RNA ۱۰۰
۶-۱-۲-۴ هتروژنی (ناهمگنی) سلولی ۱۰۰
۶-۱-۲-۵ ژن‌های هدف ۱۰۰

www.ketab.ir

۶-۱-۲-۶ واریانس بیولوژیکی ۱۰۱
۶-۲ آنالیز سنجش کمی نسبی ۱۰۱
۶-۲-۱ روش Rº ۱۰۱
۶-۲-۲ سرعت واکنش qPCR ۱۰۲
۶-۲-۳ نرمال‌سازی صحیح ۱۰۴
۶-۲-۳-۱ مقایسه‌ی کنترل‌های داخلی ۱۰۴
۶-۲-۳-۲ فواید نرمال‌سازی صحیح ۱۰۴
۶-۳ الزامات سنجش ۱۰۵
۶-۳-۱پروتکل استخراج RNA ۱۰۷
۶-۳-۲ نرمال سازی استاندارد ۱۰۸
۶-۳-۳ بافت‌های هتروژن (ناهمگون) ۱۰۹
۶-۳-۴ واکنش qPCR با کارآیی بالا ۱۰۹
۶-۴ نتیجه‌گیری ۱۱۰

فصل ۷ - سنجش بیان ژن

۷-۱ مقدمه ۱۱۲
۷-۲ مواد مورد نیاز ۱۱۲
۷-۲-۱ واکنشگرها و مواد مورد استفاده ۱۱۲
۷-۲-۲ تجهیزات ۱۱۲
۷-۳ روش کار ۱۱۲
۷-۳-۱ آماده‌سازی نمونه ۱۱۲
۷-۳-۲ استخراج RNA از سلول‌های کشت شده یا خون ۱۱۲
۷-۳-۳ جداسازی RNA تام از بافت ۱۱۳
۷-۳-۴ سنجش RNA ۱۱۴
۷-۳-۵ تیمار با آنزیم DNase ۱۱۴
۷-۳-۶ ساخت cDNA ۱۱۴
۷-۳-۷ رنگ فلورسانت سایبرگرین ۱۱۵
۷-۳-۸ طراحی پرایمر ۱۱۵
۷-۳-۹ واکنش Real-Time PCR ۱۱۷
۷-۳-۱۰ آنالیز داده‌ها ۱۱۷
۷-۴ رفع اشکال ۱۱۸
۷-۵ مراحل بحرانی ۱۱۹
۷-۶ توضیحات ۱۲۰

www.ketab.ir

فصل ۸ - رنگ سایبرگرین

۸-۱ رنگ سایبرگرین ۱۲۲
۸-۲ ماهیت شیمیایی رنگ سایبرگرین ۱۲۲
۸-۳ طراحی پرایمر در روش سایبرگرین ۱۲۲
۸-۳-۱ طراحی پرایمر برای ژن بتا-اکتین ۱۲۳
۸-۴ بهینه‌سازی غلظت پرایمرها ۱۲۴
۸-۴-۱ بهینه‌سازی غلظت پرایمرها در سنجش مطلق بیان ژن ۱۲۴
۸-۴-۲ بهینه‌سازی غلظت پرایمرها در سنجش نسبی بیان ژن ۱۲۵
۸-۴-۳ آنالیز سنجش نسبی ژن‌های جهش یافته ۱۲۵
۸-۵ آنالیز منحنی ذوب ۱۲۷
۸-۶ سنجش تغییرات و جهش‌های ژنی ۱۲۸
۸-۶-۱ تشخیص و شناسایی مضاعف شدگی ژنی ۱۲۹
۸-۶-۲ تشخیص و شناسایی حذف‌های ژنی ۱۲۹
۸-۶-۳ تشخیص و شناسایی بازآرایی‌های ژنی ۱۲۹
۸-۶-۴ سنجش تعداد نسخه‌های ژن ۱۳۰
۸-۷ سنجش مولکول RNA ۱۳۰
۸-۷-۱ استخراج RNA ۱۳۰
۸-۷-۲ آماده‌سازی و ساخت DNA مکمل ۱۳۰
۸-۷-۳ تعیین صحت ژن مرجع ۱۳۱
۸-۷-۴ تنوع در پیرایش RNA و مکانیسم آن ۱۳۱
۸-۷-۵ سوئیچ پروموتر ۱۳۱
۸-۸ تمایز (تفکیک) آللی ۱۳۳
۸-۹ رسوب‌دهی کروماتین با روش‌های ایمونولوژی ۱۳۳

فصل ۹ - آنالیز منحنی ذوب با وضوح بالا در اسکن و تعیین ژنوتیپ

۹-۱ مقدمه ۱۳۶
۹-۲ دستگاه‌های Real-Time PCR با وضوح بالا ۱۳۶
۹-۲-۱ دستگاه HR-1™ ۱۳۶
۹-۲-۲ دستگاه LightScanner™ ۱۳۷
۹-۲-۳ دستگاه LightCycler® ۴۸۰ ..... ۱۳۷
۹-۳ رنگ‌های فلورسانت اشباع ۱۳۸
۹-۳-۱ رنگ‌های LC Green™ ۱۳۹
۹-۴ اسکن کردن جهش ۱۳۹
۹-۴-۱ پروتکل‌های PCR در اسکن کردن جهش ۱۴۰
۹-۴-۲ اصول اسکن کردن جهش با استفاده از آنالیز ذوب ۱۴۱

www.ketab.ir

۹-۴-۳ نرم‌افزارهای تشخیص افراد هتروزیگوت ۱۴۱
۹-۴-۴ اسکن کردن ژنوتیپ‌های هموزیگوس ۱۴۳
۹-۵ تعیین ژنوتیپ با استفاده از آمپلیکون ۱۴۴
۹-۶ تعیین ژنوتیپ با استفاده از پروب غیرنشاندار ۱۴۴
۹-۶-۱ پروتکل‌های PCR در تعیین ژنوتیپ با پروب غیرنشاندار ۱۴۵
۹-۶-۲ دستگاه تعیین ژنوتیپ با پروب غیرنشاندار ۱۴۵
۹-۶-۳ اسکن جهش و تعیین ژنوتیپ به طور همزمان ۱۴۶
۹-۷ سهولت روش‌های اسکن جهش و تعیین ژنوتیپ ۱۴۶

فصل ۱۰ - آنالیز متیلاسیون ژنوم

۱۰-۱ آنالیزهای کمی متیلاسیون DNA ۱۵۰
۱۰-۲ MDR1 به عنوان اولین جایگاه ژنی مورد مطالعه ۱۵۰
۱۰-۳ طراحی پرایمر برای MDR1 ۱۵۱
۱۰-۴ ارزیابی داده‌ها ۱۵۳
۱- تغییرات آزمایش به آزمایش ۱۵۳
۲- سنجش کمی متیلاسیون CpG ژن *MDR1* با تکنیک qPCR ۱۵۳
۱۰-۵ آنالیزهای پیشرفته ۱۵۴
پروتکل ۱۰-۱ ۱۵۵

فصل ۱۱ - آنالیز ژنوم میتوکندری

۱۱-۱ DNA میتوکندریایی ۱۶۰
۱۱-۲ ژنتیک میتوکندریایی ۱۶۰
۱۱-۲-۱ جهش‌های DNA میتوکندری ۱۶۰
۱۱-۲-۲ تعداد کپی‌های DNA میتوکندری و هتروپلاسمی ۱۶۱
۱۱-۲-۳ اثر آستانه ۱۶۱
۱۱-۲-۴ نرخ جهش در DNA میتوکندری ۱۶۲
۱۱-۲-۵ DNA میتوکندری، پیری و بیماری‌ها ۱۶۲
۱۱-۲-۵-۱ پیری و کهولت ۱۶۲
۱۱-۲-۵-۲ بیماری‌های DNA میتوکندری ۱۶۳
۱۱-۲-۵-۳ جهش‌های نقطه‌ای در ژنوم میتوکندری ۱۶۳
۱۱-۲-۵-۴ بیماری‌های میتوکندریایی - هسته‌ای ۱۶۳
۱۱-۲-۵-۵ جهش‌های DNA میتوکندریایی و سرطان ۱۶۵
۱۱-۲-۵-۶ کاهش مقدار DNA میتوکندری در اثر القا مواد سمی ۱۶۵
۱۱-۳ آنالیز DNA میتوکندری با تکنیک Real-Time PCR ۱۶۵
۱۱-۳-۱ روش تشخیص و شناسایی ۱۶۵

www.ketab.ir

۱۱-۳-۲ پروب‌های الیگونوکلئوتیدی فلورسانتی ۱۶۵
۱۱-۳-۳ رنگ‌های آزاد متصل شونده به DNA ۱۶۶
۱۱-۳-۴ نکات مهم در آنالیز DNA میتوکندری با تکنیک Real-Time PCR ۱۶۶
۱۱-۳-۴-۱ طراحی پرایمر و پروب ۱۶۶
۱۱-۳-۴-۲ انتخاب آمپلیکون ۱۶۸
۱۱-۳-۴-۳ سنجش کمی حذف‌های DNA میتوکندری ۱۶۸
۱۱-۳-۴-۴ آنالیز سنجش کمی مطلق یا نسبی ۱۶۸
۱۱-۳-۴-۵ تهیه تعداد نسخه‌های استاندارد ۱۷۰
۱۱-۳-۴-۵-۱ ساخت الگوهای DNA با روش PCR: ۱۷۰
۱۱-۳-۴-۵-۲ الگوهای کلون شده PCR ۱۷۱
۱۱-۳-۴-۵-۳ DNA ژنومیک میتوکندریایی ۱۷۲
۱۱-۳-۴-۶ استخراج DNA از یک سلول منفرد ۱۷۲
۱۱-۳-۴-۷ آنالیز تکرار ۱۷۳
۱۱-۳-۴-۸ بهینه‌سازی واکنش Real-Time PCR ۱۷۵
۱۱-۴ بحث و نتیجه‌گیری ۱۷۶

فصل ۱۲ - Real-Time Immuno-PCR

۱۲-۱-۱ روش‌های مبتنی بر ایمونولوژی ۱۸۰
۱۲-۱-۲ روش Immuno-PCR ۱۸۰
۱۲-۲ مراحل آماده‌سازی در تکنیک Real-Time Immuno-PCR ۱۸۰
۱۲-۲-۱ اتصال آنتی‌بادی گیرنده ۱۸۱
۱۲-۲-۲ نشان‌دار کردن آنتی‌بادی شناساگر با DNA ۱۸۲
۱۲-۳ تکنیک Real-Time Immuno-PCR ۱۸۲
۱۲-۳-۱ مواد و ابزار موردنیاز ۱۸۲
۱۲-۳-۲ DNA نشان‌دار ۱۸۲
۱۲-۳-۳ مواد مهارکننده ۱۸۳
۱۲-۳-۴ نمونه‌های کنترل ۱۸۳
۱۲-۳-۵ بهینه‌سازی غلظت‌ها ۱۸۳
پروتکل ۱۲-۱: Real-Time Immuno-PCR ۱۸۴
آماده‌سازی و خالص‌سازی کونژوگه‌های DNA/آنتی‌بادی ۱۸۶
پروتکل کونژوگاسیون ۱۸۷
پروتکل تخلیص ۱۸۸

فصل ۱۳ - میکروب شناسی بالینی

۱۳-۱ اهمیت تشخیص و سنجش در میکروب شناسی ۱۹۰

www.ketab.ir

۱۳-۲ از روش‌های سنتی تا Real-Time PCR ۰۹۱
۱۳-۳ کاربردهای Real-Time PCR در میکروب شناسی ۱۹۱
۱۳-۳-۱ سنجش کمی میکروبی ۱۹۱
۱۳-۳-۲ کنترل‌های داخلی و خارجی ۱۹۱
۱۳-۳-۳ سنجش کمی مطلق و نسبی ۱۹۱
۱۳-۴ کاربرد Real-Time PCR در باکتری شناسی ۲۹۱
۱۳-۴-۱ تشخیص و سنجش باکتری‌ها ۱۹۲
۱۳-۴-۲ تعیین میزان حساسیت به آنتی‌بیوتیک‌ها ۱۹۳
۱۳-۴-۳ شناسایی نواحی خاص از ژن باکتریایی ۱۹۴
۱۳-۵ کاربرد Real-Time PCR در قارچ‌شناسی و انگل‌شناسی ۴۹۱
پروتکل ۱۳-۱: تشخیص و شناسایی پره وتلا اینترمدیا ۵۹۱

فصل ۱۴ - ویروس شناسی بالینی

۱۴-۱ مقدمه ۱۹۸
۱۴-۲ Real-Time PCR کیفی در شناسایی بیماری‌های ویروسی ۱۹۸
۱۴-۲-۱ تنوع توالی و مراحل عملی ۱۹۸
۱۴-۲-۲ پلی‌مورفیسم و نتایج منفی کاذب ۱۹۹
۱۴-۲-۳ توالی پلی مورفیسم و سیگنال فلورسانت ۹۹۱
۱۴-۲-۴ اطلاعات محدود توالی و بسط آزمایش ۲۰۰
۱۴-۲-۵ تغییر زیرتایپ‌های ویروس آنفولانزا A ۲۰۰
۱۴-۳ تعیین تایپ ویروس با استفاده از پروب‌های اختصاصی ۲۰۲
۱۴-۳-۱ پروب‌های هیبریدی ۲۰۲
۱۴-۳-۲ اثر تغییر توالی در جایگاه اتصال پروب‌های هیبریدی ۲۰۲
۱۴-۳-۳ حضور دو تایپ ویروس در واکنش ۲۰۳
۱۴-۴ سنجش کپی‌های ویروس ۲۰۳
۱۴-۴-۱ کاربرد کنترل داخلی در ویروس شناسی مولکولی ۲۰۴
۱۴-۴-۲ اثر تغییر توالی هدف بر واکنش PCR کمی ۲۰۵
۱۴-۴-۳ توضیحات تکمیلی ۲۰۶
۳. بحث و نتیجه گیری ۲۰۶
پروتکل۱۴-۱: شناسایی ویروس آنفلوانزا A با روش '۵ نوکلئاز Real-Time RT-PCR ۲۰۷
پروتکل ۱۴-۲: شناسایی و تشخیص تایپ ۱ و ۲ ویروس هرپس سیمپلکس با استفاده از تکنیک Real-Time PCR مبتنی بر از پروب‌های هیبریدی ۲۰۸
پروتکل ۱۴-۳. آنایز کمی ویروس BK با روش '۵ نوکلئاز Real-Time PCR (BKV-Tag-qPCR) ۹۰۲
پروتکل ۱۴-۴. کنترل داخلی در واکنش Real-Time PCR ۲۱۰
رفع اشکال ۱۴-۱: نتایج منفی کاذب در روش WhS۱-para۳-۵N ۲۱۱

www.ketab.ir

رفع اشکال ۱۴-۲. تغییرات سیگنال فلورسانت در نمونه‌های مثبت به ویروس RS با پروب MGB ۲۱۲
رفع اشکال ۱۴-۳. آنالیز منحنی ذوب تایپ ۲ ویروس هرپس سیمپلکس ۲۱۲
رفع اشکال ۱۴-۴. تخمین کپی‌های ویروس BK در حالت تغییر توالی ۲۱۴

فصل ۱۵ - بررسی پیوند اعضا و عوامل موثر بر آن

۱۵-۱ تکنیک Real-Time PCR کمی ۲۱۶
۱۵-۲ نرمالیزه‌کردن مولکول RNA ۲۱۶
۱۵-۳ ایمونولوژی پیوند ۲۱۷
۱۵-۴ فارماکوژنتیک در پیوند اعضا ۲۱۸
۱۵-۵ آنالیز پلی‌مورفیسم ژن‌های سایتوکاینی ۲۱۸
۱۵-۶ پلی‌مورفیسم‌های ژنی در افراد دهنده و گیرنده پیوند ۲۱۹
۱۵-۷ نژاد و پلی‌مورفیسم‌های ژن‌های سایتوکاینی ۲۱۹
۱۵-۸ عفونت ویروسی در بیماران پیوندی ۲۱۹
پروتکل ۱۵-۱: شناسایی رد پیوند در بیماران پیوندی ۲۲۰

فصل ۱۶ - هماتولوژی

۱۶-۱ نوع نمونه‌های مورد آزمایش ۲۲۶
۱۶-۲ کیفیت نمونه ۲۲۶
۱۶-۳ آماده‌سازی واکنش الگو ۲۲۷
۱۶-۴ استخراج DNA ۲۲۷
۱۶-۵ عوامل مهارکننده واکنش PCR ۲۲۷
۱۶-۶ استخراج RNA ۲۲۷
۱۶-۷ ساخت و سنتز DNA مکمل (cDNA) ۸۲۲
۱۶-۸ آنالیز سنجش کمی نسبی یا سنجش کمی مطلق ۲۲۸
۱۶-۹ ژن‌های مرجع در تعیین MRD بیماران لوکمی ۲۳۰
۱۶-۱۰ ژن‌های مرجع در تکنیک Real-Time PCR ۲۳۰
۱۶-۱۱ طراحی یک آزمایش Real-Time PCR ۲۳۱
۱۶-۱۲ پیش‌گیری‌های آزمایشگاهی ۲۳۱
۱۶-۱۳ بهینه‌سازی واکنش PCR ۲۳۲
۱۶-۱۴ تفسیر نتایج و داده‌ها ۲۳۲
۱۶-۱۵ حساسیت واکنش Real-Time PCR ۲۳۳
۱۶-۱۶ هدف از تعیین MRD ۲۳۳
۱۶-۱۶-۱ رونویس‌های الحاقی ۲۳۳
۱۶-۱۶-۲ بازآرایی ژن‌های TCR و ایمنوگلوبین در نئوپلازی لمفوئید ۲۳۴
۱۶-۱۷ شناسایی جهش JAK۲ ..... ۲۳۴

www.ketab.ir

فصل ۱۷ - تشخیص پیش از تولد بیماری‌های تک‌ژنی

۱۷-۱ تشخیص پیش از تولد در ژنتیک بالینی ۲۳۸
۱۷-۲ روش‌های شناسایی جهش در تشخیص پیش از تولد بیماری‌های تک‌ژنی ۲۳۸
۱۷-۲-۱ روش‌های شناسایی جهش‌های کلاسیک ۲۳۸
۱۷-۲-۲ اصول عملی در تشخیص پیش از تولد ۲۳۹
۱۷-۳ نمونه‌های جنینی در تشخیص پیش از تولد ۲۳۹
۱۷-۴-۱ کارکرد تکنیک Real-Time PCR در تمایز آللی ۲۳۹
۱۷-۴-۲ جنبه مولکولی بتا-هموگلوبینوپاتی ۲۴۰
۱۷-۴-۳ اصول طراحی پروب‌های LightCycler برای ژن بتا-گلوبین ۲۴۰
۱۷-۴-۴ تعیین ژنوتیپ سلول منفرد در PGD ۲۴۲
۱۷-۴-۵ مزایای تکنیک Real-Time PCR در PND و PGD ۲۴۲
۱۷-۵ مزایای تکنیک Real-Time PCR در PGD ۲۴۳
پروتکل ۱۷-۱: پاک‌سازی پرزهای کوریونی با روش تشریح میکروسکوپی ۲۴۴
پروتکل ۱۷-۲: تهیه آمنیوسیت از مایع آمنیون ۲۴۴
پروتکل ۱۷-۳: استخراج DNA از نمونه‌های CVS یا آمنیوسیت ۲۴۵
پروتکل ۱۷-۴: غربالگری سریع جهش‌های ژن بتا-گلوبین با تکنیک Real-Time PCR ۲۴۵
پروتکل ۱۷-۵: کارکرد تکنیک Real-Time PCR در تعیین ژنوتیپ سلول منفرد و PGD ۲۴۷
پروتکل ۱۷-۶: روش Nested-PCR و تعیین ژنوتیپ ژن بتا-گلوبین با تکنیک Real-Time PCR ... ۲۴ پروتکل
۱۷-۷: بررسی آلودگی با استفاده از میکروساتلایت پلی‌مورفیک GABRB۳ و D۱۳S۳۱۴ ..... ۲۵۰
پروتکل ۱۷-۸: نکات تکنیکی و رفع اشکال در تعیین ژنوتیپ با تکنیک Real-Time PCR (دستگاه LightCycler مدل ۱/۰ و ۱/۵) ۲۵۰

www.ketab.ir

مقدمه

شکر و سپاس خداوند بزرگ را که این توفیق حاصل شد تا باهمکاری ، همت و تلاش همکاران عزیز جناب اقای دکتر رضا مهدیان و جناب اقای احمدرضا کامیاب تدوین کتاب اصول و کاربرد تکنیک PCR time Real فراهم گردید.

روش PCR time Real که سنجش کمی بیان ژن‌ها و موتاسیون‌ها و پلی مورفیسم‌های تک بازی را مورد مطالعه قرار می‌دهد امروزه در حوزه‌های وسیعی از علوم پزشکی، بیولوژی، دامپزشکی و کشاورزی کاربرد پیدا کرده است. در ازمایشگاه‌های تشخیص طبی از این تکنیک در سنجش کمی انوا ع و یروس‌ها و باکترها در خون و مایعات بدن، بررسی تومر مارکرها و بیماری‌های اتوایمیون استفاده می‌شود. در فصول مختلف کتاب فوق این روش در ارزیابی‌ها و تشخیص، طراحی پرایمر و پروب بتفصیل بحث شده است. مطالعه این کتاب رابه تمامی همکاران در مراکز تشخیصی و بیمارستانی و مراکز تحقیقاتی مختلف توصیه می‌نمایم و اطمینان دارم که می‌تواند تا حد زیادی کمک کننده باشد.

در پایان برخود لازم میدانم همراه با همه نویسندگان اثر حاضرمنتظر دریافت راهنمایی‌ها و نظرات نقادانه و ارزشمند شما برای بهتر شدن این کتاب در اینده باشیم و از تمام عزیزانی که با خواندن این اثرو ارسال انتقادها و پیشنهادهای سازنده خود ما را یاری دهند صمیمانه تشکر و سپاسگزاری می‌نمایم.

ومن الله التوفیق
دکتر علی اکبر امیرزرگر
استاد دانشگاه علوم پزشکی تهران
اسفند ماه ۱۳۹۳

www.ketab.ir