

# اصول طراحی پرایمر

تالیف و تدوین:

مهندس حسن رسولی

پژوهشگر مرکز تحقیقات بیولوژی پزشکی کرمانشاه

با همکاری:

مهندس مهران فلکنواز

مهندس سیده حبیبه حسینی

انتشارات مانی

۱۳۹۳

|                       |                                                                                        |
|-----------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|
| سرشناسه:              | رسولی، حسن، ۱۳۶۸                                                                       |
| عنوان و نام پدید آور: | : اصول طراحی پرايمر                                                                    |
| مشخصات نشر:           | : اصفهان، انتشارات مانی، ۱۳۹۳                                                          |
| مشخصات ظاهري:         | : ۲۹۶ ص.                                                                               |
| شابک:                 | : ۹۷۸-۶۰۰-۱۸۴-۰۶۳-۰                                                                    |
| وضعيت فهرست‌نویسی:    | : ف.پ.ا. مختصر                                                                         |
| یادداشت:              | : این مدرک در آدرس <a href="http://opac.nai.ir">http://opac.nai.ir</a> قابل دسترسی است |
| شناسنامه افزوده:      | : فلک ناز، مهراڻ، ۱۳۶۲                                                                 |
| شناسنامه افزوده:      | : حسینی، سیده حبیبه، ۱۳۶۷                                                              |



اصفهان، صندوق پستی: ۸۱۶۴۵-۳۹۶  
تلفن: ۰۳۱۳۶۶۲۸۵۹۰، فاکس: ۰۳۱۳۶۶۸۳۴۰۵

نام کتاب: اصول طراحی پرايمر

مؤلف: حسن رسولی

ناشر: انتشارات مانی

نوبت چاپ: اول، ۱۳۹۳

تیراژ: ۱۰۰۰ جلد

لیتوگرافی: آسمان

چاپ: کبتي صحافي سپاهان

شابک: ۹۷۸-۶۰۰-۱۸۴-۰۶۳-۰

قیمت: ۱۶۰۰۰ تومان

کلیه حقوق برای انتشارات مانی محفوظ است. هرگونه کپی برداری و خلاصه نویسی از این کتاب بدون اجازه مؤلف و انتشارات بیکرد قانونی به همراه خواهد داشت.

و اما...

و اما از آنجایی که تجلیل از معلم، سپاس از انسانی است که هدف و غایت آفرینش را تأمین می‌کند و سلامت امانت‌هایی را که به دستش سپرده‌اند، تضمین؛ بر حسب وظیفه و از باب "من لم یَشْكُرِ الْمُنْعَمَ مِنَ الْمَخْلُوقِينَ لَمْ يَشْكُرِ اللَّهَ عَزَّ وَ جَلَّ": از پدر و مادر عزیزم... این دو معلم بزرگوار... که همواره بر کوتاهی‌ها و درستی‌هایم، قلم عقو کشیده و کریمانه از کنار غفلت‌هایم گذشته‌اند و در تمام عرصه‌های زندگی یار و یابوری بی‌چشم داشت برایم بوده‌اند؛ از استاد با کمالات و شایسته؛ جناب آقای پروفیسور علی مصطفایی که در کمال سعه صدر، با حسن خلق و فروتنی، از هیچ کمکی در عرصه علم و اخلاق بر این حقیر دریغ ننمودند و زحمت راهنمایی‌های فراوانی را برای من بر عهده گرفتند؛ از اساتید صبور و با تقوا، جناب آقای دکتر دانیال کهریزی و جناب آقای پروفیسور عزت اله فرشادفر که در دوره کارشناسی ارشد اینجانب در دانشگاه رازی منجیان پر نور مسیر علمیم شدند، همچنین از دوست فرزانه و دلسوز جناب آقای مهندس حسن صباغ، که برایم بیش از یک دوست بود و زحمات‌های فراوانی را برای ایشان به ارمغان آوردم و یقین دارم که بدون مساعدت‌هایش "سنگ‌های راه" "زخم‌های پایم" را "خونین‌تر" می‌کرد و "لحظات" تاسف بار مرا به یاس و "ناامیدی" می‌گشاند؛ و همچنین با امتنان بیکران از مساعدت‌های بی‌شائبه‌ی جناب آقای دکتر شهاب قاضی و دکتر فردین هژبری، و نیز از اساتید برجسته دوره کارشناسی اینجانب در دانشگاه ایلام جناب آقای دکتر علی حاتم، دکتر حاجی کریمی، دکتر خشنود نورالهی، دکتر علی اشرف مهرابی، دکتر مهرشاد براری و دکتر محمد حواد زارع کمال تشکر و قدردانی را دارم.

باشد که این خردترین، بخشی از زحمات آنان را سپاس گوید...

حسن رسولی

و در پایان:

این اثر را به محرومیت‌های استان ایلام تقدیم می‌کنم.

## 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، بخصوص در دو 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 بیوانفورماتیکی به حساب می‌آید، بلکه محققان را قادر می‌سازد که تحلیل‌های پیچیده‌ای را با دسترسی به پایگاه‌های اطلاعاتی سرتاسر جهان انجام دهند. از طرف دیگر توجه به این نکته اساسی و مهم که واکنش زنجیره‌ای پلیمرز 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 بیوانفورماتیکی را مرتفع سازد.

کتاب حاضر، اصول طراحی پرایمر را به روشی ساده و مصور توصیف می‌نماید. به منظور درک کامل خوانندگان گرامی از اصول طراحی پرایمر، روش‌های مورد استفاده در این زمینه 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 خودم را همواره مدیون پژوهشگرانی می‌دانم که از مطالبشان در تهیه این کتاب استفاده نموده‌ام. همچنین از زحمات و کمک‌های بی‌دریغ ریاست محترم انتشارات مانی کمال تشکر و قدرانی را 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) برای بهبود مطالب کتاب حاضر در چاپ‌های بعدی ارسال نمایند. این اثر به صورت آنلاین نیز پشتیبانی می‌شود و با ارسال ایمیل به رایانامه ذکر شده، می‌توانید در کمتر از ۲۴ ساعت مشکلات مربوط به طراحی پرایمر را که با آن مواجه هستید رفع نمایید.

حسن رسولی

پژوهشگر مرکز تحقیقات بیولوژی پزشکی کرمانشاه

کارشناس ارشد مهندسی بیوتکنولوژی در کشاورزی دانشگاه رازی کرمانشاه

## پیشگفتار

کشف 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. آنچه که در اینجا از اهمیت فراوانی برخوردار است این است که وجود توالی‌های کوتاه آغازگر برای انجام واکنش بسیار ضروری می‌باشند.

در واقع آغازگرها با فراهم نمودن بستر مورد نیاز برای تکثیر ناحیه هدف توسط آنزیم پلیمراز اختصاصی، زمینه را برای تولید میلیون‌ها فرآورده تکثیری از یک ناحیه خاص از ژنوم را فراهم می‌نمایند. عدم رعایت شرایط استاندارد برای طراحی آغازگرها قبل از انجام واکنش PCR، سبب بسط غیر اختصاصی و عدم حصول نتایج قابل اطمینان می‌شود. با تاکید بر این موضوع و اهمیت طراحی آغازگر برای واکنش PCR، مجموعه حاضر با استفاده از جدیدترین منابع در ارتباط با واکنش PCR، برای علاقه‌مندان به یادگیری اصول طراحی پرایمر تدوین شده است.

در سه فصل ابتدایی این مجموعه مباحث نظری مربوط به اصول واکنش PCR و پارامترهای کلیدی در طراحی آغازگرها، مورد بحث قرار گرفته است. سپس در ادامه نحوه طراحی آغازگر با استفاده از ابزارهای بیوانفورماتیکی ارائه شده است.

در فصل چهارم این مجموعه نیز اطلاعات کلی در ارتباط با نحوه عمل کاوشگرها که در واکنش Real-Time PCR مورد استفاده قرار می‌گیرند ارائه شده است. در بخش پنج این مجموعه نیز به صورت مختصر و مفید در ارتباط با ابزارهای بیوانفورماتیکی مورد استفاده در طراحی آغازگرها بحث شده است. در سایر بخش‌های این مجموعه نیز نحوه طراحی آغازگر با استفاده از ابزارهای بیوانفورماتیکی ذکر شده در بخش پنج به طور مفصل مورد بحث قرار گرفته است.

در نهایت این مجموعه در ۲۰ بخش تدوین شده است و در اختیار خوانندگان عزیز قرار گرفته است. این کتاب برای اولین بار در ایران به صورت آنلاین توسط نگارنده پشتیبانی می‌شود. در صورت بروز هر گونه مشکل در ارتباط با مباحث مربوط به طراحی پرایمر و واکنش PCR می‌توانید با ایمیل پشتیبانی ([Supportonline@chmail.ir](mailto:Supportonline@chmail.ir)) مکاتبه نمایید تا در اسرع وقت مشکل مربوطه برطرف گردد.

www.ketab.ir

## فهرست مطالب

|     |                                                               |
|-----|---------------------------------------------------------------|
| ۹   | فصل اول : واکنش زنجیره‌ای پلیمراز                             |
| ۸۳  | فصل دوم : نکات کلیدی در ارتباط با آغازگرها                    |
| ۱۲۱ | فصل سوم : تعیین اختصاصیت آغازگرها                             |
| ۱۲۹ | فصل چهارم : کاوشگرها                                          |
| ۱۴۹ | فصل پنجم : ابزارهای بیونفورماتیکی برای طراحی آغازگر           |
| ۱۵۵ | فصل ششم : طراحی آغازگر با استفاده از پایگاه NCBI              |
| ۱۶۱ | فصل هفتم : طراحی آغازگر با استفاده از پایگاه Primer3          |
| ۱۷۱ | فصل هشتم : طراحی آغازگر با استفاده از نرم افزار MacVector     |
| ۱۷۹ | فصل نهم : طراحی آغازگر با استفاده از پایگاه PDA               |
| ۱۸۵ | فصل دهم : طراحی آغازگر با استفاده از پایگاه VizPrimer         |
| ۱۹۳ | فصل یازدهم : طراحی آغازگر با استفاده از نرم افزار CLC         |
| ۲۰۱ | فصل دوازدهم : طراحی آغازگر با استفاده از نرم افزار PerlPrimer |
| ۲۱۳ | فصل سیزدهم : طراحی آغازگر و کاوشگر با استفاده از پایگاه IDT   |
| ۲۲۵ | فصل چهاردهم : طراحی آغازگر با استفاده از پایگاه MethPrimer    |
| ۲۳۷ | فصل پانزدهم : طراحی سیکل حرارتی PCR                           |
| ۲۴۱ | فصل شانزدهم : طراحی آغازگر با استفاده از پایگاه WASP          |
| ۲۴۹ | فصل هفدهم : ارزیابی آغازگرها با استفاده از پایگاه MFE         |
| ۲۵۷ | فصل هجدهم : انجام In silico PCR                               |
| ۲۶۳ | فصل نوزدهم : تعیین دمای ذوب توالی‌های الیگونوکلوئیدی          |
| ۲۶۷ | فصل بیستم : تعیین غلظت بافر واکنش PCR                         |
| ۲۷۱ | منابع                                                         |