مبانی زیست مولکولی و مهندسی ژنتیک

به همراه
تولید پروتئینهای نوترکیب

تألیف
پروفسور گیتی امتیازی
استاد میکروبیولوژی دانشگاه اصفهان

انتشارات مانی
۱۳۸۶

www.ketab.ir

امتیازی، گیتی ۱۳۳۴

مبانی زیست مولکولی و مهندسی ژنتیک / تألیف گیتی امتیازی،

اصفهان : مانی، ۱۳۸۶

شانزده، ۵۳۲ ص.: مصور.

فهرستنویسی بر اساس اطلاعات فیپا.

ISBN : 978-964-7864-63-3

کتابنامه : ص. ۳۵۷ . ویرایش دوم چاپ اول

۱. ژنتیک مولکولی. ۲. ژنتیک ـ مهندسی. ۳. مولکولها ـ زیست‌شناسی ب. عنوان

۲ م ۸ الف / QH ۴۴۲ ۵۷۲/۸

کتابخانه ملی ایران ۸۶-۱۰۱۴۲م

اصفهان: صندوق پستی ۳۹۶-۸۱۶۴۵

تلفن ۶۶۲۸۵۹۰-۰۳۱۱ فاکس ۶۶۲۲۶۸۰-۰۳۱۱

نام کتاب: **مبانی زیست مولکولی و مهندسی ژنتیک**

مؤلف : **پروفسور گیتی امتیازی**

ناشر : **انتشارات مانی**

حروفچین : **شهین بیزری**

صفحه‌آرا : **مهری عطایی**

نوبت چاپ : **ویرایش دوم ـ چاپ اول . ۱۳۸۶**

تعداد صفحات : **۵۴۸ صفحه**

ناظر فنی: **ماندانا پاکروان**

مدیر تولید: **محمود شریفی**

تیراژ : ۲۰۰۰ نسخه

لیتوگرافی : **شکیبا** چاپ: **گیتی صحافی : سپاهان**

شابک: ۳-۶۳-۷۸۶۴-۹۶۴-۹۷۸

ISBN : 978-964-7864-63-3

کلیه حقوق برای انتشارات مانی محفوظ است.

www.ketab.ir

فهرست مطالب

عنوان — صفحه

فصل ۱: اسیدهای نوکلئیک ۱

- مقدمه ۱
- ساختمان رشته‌ای DNA ۲
- مارپیچ دو رشته‌ای DNA ۶
- واکنشهای توتومریزاسیون ۸
- اشکال فضایی DNA ۱۰
- عوامل پایدار کننده DNA ۱۴
- DNA فراپیچیده (سوپرکویل) ۱۵

توپوایزومرازها ۱۷

- سازماندهی ژنوم یوکاریوتها ۲۲

ساختمان کروماتین ۲۳

- بازهای تغییر یافته DNA ۲۵
- ریبونوکلئیک اسید (RNA) ۲۵
- تفاوتهای شیمیایی RNA و DNA ۲۹
- آنزیمهای مؤثر بر روی اسیدهای نوکلئیک ۲۹
- ژنوم موجودات مختلف ۳۲

ژنوم ویروسها ۳۲

ژنوم پروکاریوتها ۳۳

ژنوم میتوکندری و کلروپلاست ۳۴

ژنوم یوکاریوتها ۳۴

فصل ۲: همانندسازی DNA ۳۹

- مقدمه ۳۹
- آزمایش مسلسون و استال ۴۰
- شرایط همانندسازی نیمه حفاظت شده ۴۱
- نقطهٔ آغاز و جهت همانندسازی DNA ۴۲

www.ketab.ir

▣ همانندسازی در پروکاریوتها ۴۳
نقش پروتئین‌ها در همانندسازی DNA ۴۳
پروتئین dnaA ۴۳
پروتئین‌های dnaB و dnaC ۴۵
پروتئین‌های SSB ۴۵
پرایماز و پروتئین‌های n , n+ , nÆ و i ۴۶
آنزیمهای DNA پلی‌مراز ۴۷
▣ مراحل همانندسازی DNA ۵۲
مرحله آغاز ۵۲
مرحلهٔ طویل شدن ۵۶
اصلاح DNA ۵۷
مرحلهٔ خاتمه ۵۹
▣ همانندسازی در یوکاریوتها ۶۰
▣ همانندسازی در میتوکندری ۶۲
▣ همانندسازی به روش دایرهٔ غلتان ۶۲
▣ نقش تلومراز و پروتئین پرایمر در همانندسازی DNA خطی ۶۳
▣ همانندسازی در ویروسهای DNA دار ۶۶
همانندسازی در باکتریوفاژهای DNA دار ۶۶
همانندسازی در باکتریوفاژ fX174 ..... ۶۶
همانندسازی باکتریوفاژ l ۶۷
همانندسازی در فاژهای T ۶۸
▣ همانندسازی در ویروسهای DNA دار یوکاریوتها ۷۱
همانندسازی در آدنو ویروسها ۷۱
همانندسازی در هرپس ویروسها ۷۱
همانندسازی در پاپووا ویروسها ۷۲
همانندسازی در پاکس ویروسها ۷۳
همانندسازی در پارو ویروسها ۷۴
▣ تعمیر DNA ۷۴
تعمیر دیمرتیمین - تیمین ۷۶
تعمیر بازها (Hydrolytic Deamination) ۷۷
تعمیر استخراجی ۷۸

www.ketab.ir

DNA و نانوتکنولوژی ۸۰
☑ دیاگرام ۱ : مکانیسم سنتز DNA ۸۱
☑ دیاگرام ۲ : ساختمان انبرک لغزندهٔ DNA و افزایش سنتز ممتد DNA توسط ۸۲
☑ دیاگرام ۳: حمل پروتئین انبرک لغزندهٔ DNA توسط ATP ۸۳
☑ دیاگرام ۴ : ساختمان هلو آنزیم DNA پلی مراز III ۸۴
☑ دیاگرام ۵ : مدل ترومبون ۸۵
☑ دیاگرام ۶ : کنترل ۸۶
☑ دیاگرام ۷: مراحل تشکیل ۸۸
☑ دیاگرام ۸ : نقش Pre-RC در چنگال تقسیم یوکاریوتها ۸۸

فصل ۳ : ساختمان RNA و نسخه‌برداری ۹۱
▣ مقدمه ۹۱
▣ ساختمان RNA ۹۲
▣ انواع RNA ۹۳
▣ ساختمان RNA پلی‌مراز ۹۴
▣ مراحل کلی نسخه‌برداری ۹۵
▣ نسخه‌برداری در پروکاریوتها ۹۶
شروع نسخه‌برداری (Initiation) ۹۶
طویل شدن Elongation : RNA ۱۰۰
خاتمه نسخه برداری (Termination) ۱۰۱
▣ نسخه‌برداری در یوکاریوتها ۱۰۶
نوکلئوزومها و همانندسازی ۱۱۰
نسخه‌برداری ژنهای دسته III ۱۱۱
نسخه برداری ژنهای دسته II ۱۱۶
نسخه‌برداری ژنهای دستهٔ I ۱۲۰
خاتمه نسخه‌برداری ۱۲۱
▣ نسخه‌برداری در ویروسها ۱۲۳
همانندسازی در باکتریوفاژهای RNA دار ۱۲۳
RNA رپلیکاز ۱۲۴
ساختمان RNA - رپلیکاز ۱۲۵
▣ نسخه‌برداری در ویروسهای یوکاریوتی ۱۲۵

www.ketab.ir

تکثیر ویرسهای دارای RNA تک رشته‌ای ۱۲۶
نرمهای تکثیر شونده ۱۲۶
تکثیر ویروسهای RNA دار دو رشته‌ای ۱۲۷
تکثیر RNA با واسطه DNA ۱۲۷
▣ آنتی‌بیوتیک‌های ممانعت کننده از نسخه‌برداری ۱۲۸
☑ دیاگرام ۹: زیرواحدهای RNA پلی مراز ۱۳۲
☑ دیاگرام ۱۰: کانالهای موجود در کمپلکس RNA پلی مراز ۱۳۳
☑ دیاگرام ۱۱ : مراحل آغاز گر برای نسخه برداری ۱۳۳
☑ دیاگرام ۱۲ : عوامل موثر در ختم نسخه برداری یوکاریوتها ۱۳۴

فصل ۴: تکامل RNA (RNA Processing) ۱۳۷
▣ مقدمه ۱۳۷
▣ پایداری RNA ۱۳۹
▣ تکامل RNA در پروکاریوتها ۱۴۰
نقش آنزیمها در تکامل RNA ۱۴۱
تکامل RNA پیش‌ساز در E.coli ۱۴۲
تغییرات بازهای آلی tRNA ۱۴۴
▣ تکامل RNA در یوکاریوتها ۱۴۷
مکانیسم آنزیمی پردازش RNA ۱۴۸
مکانیسم خودپردازش RNA ۱۴۸
نقش snRNA در پردازش ۱۵۴
▣ فرضیهٔ "RNA بعنوان یک موجود کامل" ۱۵۹
▣ تکامل tRNA ۱۶۱
▣ تکامل rRNA ۱۶۲
▣ تکامل mRNA ۱۶۳
اصلاح انتهای 5´ hnRNA ، کلاهک‌گذاری ۱۶۳
اصلاح انتهای 3´ hnRNA ، دم‌پلی A ۱۶۴
حذف اینترونها از hnRNA ۱۶۶
▣ اهمیت اینترونها ۱۷۰
اینترونها و تکامل ۱۷۲
ژنهای کاذب ۱۷۵

www.ketab.ir

فصل ۵ : سنتز پروتئین و انتقال آن ۱۷۷
▣ مقدمه ۱۷۷
▣ پروتئین سازی در پروکاریوتها ۱۷۸
ریبوزومها ۱۷۸
RNA های ریبوزومی ۱۷۹
▣ ۱۶S rRNA ۱۷۹
▣ ۲۳S rRNA ۱۸۰
▣ ۵S rRNA ۱۸۰
تشکیل ریبوزومها ۱۸۰
وظائف پروتئین های ریبوزومی ۱۸۱
ساختمان و عمل tRNA ۱۸۱
کد ژنتیکی و تنوع آن ۱۸۴
ردیف بازها در کدها ۱۸۶
خصائص عمومی کد ژنتیکی ۱۸۷
اصول مولکولی کدونهای مترادف ۱۸۹
عمومیت کد ژنتیکی ۱۹۱
اتصال tRNA و اسیدهای آمینه ۱۹۲
مراحل اتصال اسیدهای آمینه به tRNA ۱۹۴
مراحل مختلف پروتئین سازی ۱۹۵
انرژی مورد نیاز پروتئین سازی ۲۰۴
ساخت همزمان mRNA و پروتئین ۲۰۵
پلی ریبوزومها ۲۰۵
▣ پروتئین سازی در یوکاریوتها ۲۰۶
ریبوزومهای یوکاریوتی ۲۰۶
▣ پروتئین سازی در میتوکندری و کلروپلاست ۲۰۹
▣ سن سلولها و خطا در پروتئین سازی ۲۱۰
▣ آنتی‌بیوتیکهای موثر در پروتئین سازی ۲۱۰
±دیاگرام ۱۳: جایگاه E/P/A در ۲۱۵
±دیاگرام ۱۴: جایگاه ۲۱۵
±دیاگرام ۱۵ : فاکتور رهاکننده ۲۱۵
▣ تغییرات و انتقال پروتئین‌ها ۲۱۷

www.ketab.ir

انتقال پروتئین ها از غشاء ۲۱۸
گلیکوزیله شدن پروتئین ها ۲۲۱
▣ ساخت پروتئین بدون mRNA ۲۲۱

فصل ۶ : تـنظیم بیـان ژن ۲۲۳
▣ مقـدمـه ۲۲۳
▣ بیان ژن توسط فاکتور سیگما (d) ۲۲۴
▣ کنترل نسخه برداری توسط رپرسور و فعال کننده ۲۲۶
▣ بیان اپرون لاکتوز (کنترل منفی) ۲۲۸
▣ کنترل اپرون لاکتوز به وسیلهٔ فعال کننده (Activator) ۲۳۲
▣ کنترل اپرون تریپتوفان ۲۳۳
▣ کنترل بیان ژن بوسیله انفصال در نسخه برداری (Attenuation) ۲۳۵
▣ کنترل مصرف نشاسته ۲۳۸
▣ بیان ژن در اپرونهای باکتریوفاژ لامبدا (l) ۲۴۱
▣ کنترل سنتز پروتئین‌ها در سطح ترجمه در ویروس R17 ..... ۲۴۳
▣ تنظیم بیان ژن در یوکاریوتها ۲۴۶
تنظیم متابولیسم گالاکتوز در مخمرها ۲۴۷
کنترل بیان ژن توسط توالی‌های افزایش دهنده (Enhancers) ۲۴۹
تنظیم فعالیت ژنها به وسیلهٔ هورمونها ۲۵۲
تنظیم بیان ژن بوسیله فاکتور T (Transcription Factor) ۲۵۳
▣ القاء و فرونشاندن آنزیمی در یوکاریوتها ۲۵۴
▣ نقش hnRNA و حذف اگزون در بیان ژن ۲۵۴
▣ پایداری mRNA و بیان ژن ۲۵۶
تمایز سلولی ۲۵۸
ثبات ژنوم در حین تمایز سلولی ۲۵۹
▣ فعالیت های ژنتیکی و تنظیم آنها در چرخه سلولی ۲۶۰
▣ تنظیم فعالیت های ژنتیکی به هنگام تنوع سلولی ۲۶۲
تکثیر بعضی از ژنها در طی تکامل ۲۶۴
بیان ژن هموگلوبین مرغ ۲۶۴
غیر فعال شدن یکی از کروموزومهای X در پستانداران ماده ۲۶۶
▣ کنترل بیان ژن در هنگام ترجمه ۲۶۷

www.ketab.ir

فصل ۷: اصول و تکنیکهای DNA نوترکیب ۲۶۹
▣ مقدمه ۲۶۹
▣ جدا سازی و خالص سازی DNA و RNA از سلول ۲۷۰
▣ بررسی وجود DNA و RNA در محلول ۲۷۲
▣ جدا سازی قطعات DNA و RNA ۲۷۲
▣ روشهای آشکارسازی اسیدهای نوکلئیک ۲۷۳
▣ تغییر ماهیت DNA (DNA Denaturation) ۲۷۵
▣ روش بدست آوردن Tm ۲۷۵
▣ مطالعه بر روی DNA جدا شده ۲۷۵
آنزیمهای محدودالاثر (Restriction Enzyme) ۲۷۶
انواع برشهای ایجاد شده بوسیلهٔ آنزیمهای محدودالاثر ۲۷۷
محافظت DNA خودی ۲۷۸
انواع آنزیمهای محدودالاثر ۲۷۸
استفاده از آنزیمهای محدودالاثر ۲۷۹
▣ تعیین توالی بازهای DNA ۲۸۵
۱- روش ماکسام - گیلبرت ۲۸۵
انجام عملی روش ماکسام - گیلبرت ۲۹۰
۲- روش سانجر ۲۹۱
۳- روش اتومات (Automate) ۲۹۶
▣ شناساگر یا پروب (Probe) ۲۹۸
خصوصیات شناساگر ۳۰۰
تهیه یک شناساگر برای یک ژن خاص ۳۰۰
ساترن بلاتینگ (Southern Blotting) ۳۰۲
▣ تولید و تکثیر DNA در آزمایشگاه ۳۰۴
الف) سنتز شیمیایی ۳۰۴
طریقهٔ عمل در سنتز شیمیایی DNA ۳۰۵
▣ PCR (The Polymerase Chain Reaction) ۳۰۷
▣ کاربردهای PCR ۳۱۱
۱- تهیهٔ نسخه‌های متعدد از یک ژن ۳۱۱
۲- بررسی حضور یا عدم حضور یک ژن خاص در مخلوطی از DNA ۳۱۴
▣ مشکلات PCR ۳۲۱

www.ketab.ir

فصل ۸: مهندسی ژنتیک ۳۳۱
▣ مقدمه ۳۳۱
▣ تولید DNA نو ترکیب با استفاده از آنزیمهای محدودالاثر ۳۳۳
۱- استفاده از قطعات متصل کننده ۳۳۷
۲- استفاده از آنزیم ترمینال ترانسفراز ۳۳۷
۳- استفاده از DNA لیگاز T4 ..... ۳۳۷
▣ سیستم‌های کلون کردن ژن (Gene Cloning Systems) ۳۴۰
۱- جدا سازی و قطعه قطعه کردن منبع DNA ۳۴۰
۲- اتصال به یک حامل کلون (Cloning Vector) ۳۴۰
۳- ورود به داخل میزبان ۳۴۱
۴- شناسایی و جدا سازی کلون حاوی ژن مورد نظر ۳۴۱
۵- تولید تعداد زیاد سلولها و یا باکتریهای حاوی ژن ۳۴۱
▣ حاملهای کلون (Cloning Vectors) ۳۴۱
۱- پلاسمیدها ۳۴۱
پلاسمید pBR322 ..... ۳۴۲
استفاده از پلاسمید pBR322 به عنوان حامل کلون ۳۴۴
۲- باکتریوفاژها ۳۴۵
مشخصات ضروری برای یک ویروس مورد استفاده در مهندسی ژنتیک ۳۴۶
استفاده از باکتریوفاژها به عنوان حامل ۳۴۷
باکتریوفاژ l ۳۴۷
استفاده از باکتریوفاژ l به عنوان حامل ۳۴۹
مراحل کلون کردن ژن بوسیلهٔ باکتریوفاژ l ۳۵۰
کازمیدها (Cosmids) ۳۵۱
باکتریوفاژ M13 ..... ۳۵۲
استفاده از باکتریوفاژ M13 به عنوان حامل ۳۵۳
فاسمیدها ۳۵۶
انتخاب میزبان مناسب ۳۵۸
روشهای وارد کردن حاملها به داخل میزبان ۳۶۰
▣ انتخاب کلون‌های تغییر یافته (Choosing transformed clones) ۳۶۱
پلیت‌های همانند Replica Plating ۳۶۳
▣ انتخاب ژن ۳۶۴

www.ketab.ir

۱- خزانه‌های DNA ۳۶۴
۲- خزانه‌های cDNA ۳۶۶
۳- سنتز شیمیایی ۳۶۷
مزیت استفاده از خزانه‌های cDNA ۳۶۷
احتمال یافتن یک ژن در خزانه‌های DNA ۳۶۸
جدا سازی کلون از خزانه DNA ۳۶۹
▣ حاملهای بیان ژن (Expression Vectors) ۳۷۲
مشخصات یک حامل بیان ژن ۳۷۳
کلیدهای تنظیمی در حاملهای بیان ژن ۳۷۵
▣ جهش در جایگاه خاص (Site Directed Mutagenesis) ۳۷۶
▣ کاربردهای عملی مهندسی ژنتیک ۳۷۷
۱- تخمیرهای میکروبی ۳۷۷
۲- واکسن‌های ویروسی ۳۷۷
۳- تولید پروتئین‌های خاص ۳۷۹
۴- حیوانات و گیاهان تغییر یافته ۳۷۹
۵- بیوتکنولوژی محیط زیست ۳۷۹
۶- تنظیم ژنها و ژن درمانی ۳۷۹
▣ تولید پروتئین‌ها و هورمونهای کاربردی ۳۸۰
▣ تولید هورمونها ۳۸۱
تولید انسولین ۳۸۲

فصل ۹ : ژنتیک در سلولهای یوکاریوت ۳۸۵
▣ مهندسی ژنتیک در مخمرها ۳۸۵
▣ بیان ژن در مخمرها ۳۸۶
▣ جذب DNA خارجی در اسفروپلاستهای مخمر ۳۸۶
▣ ادغام DNA خارجی به درون کروموزوم مخمر ۳۸۷
▣ پلاسمید در مخمرها ۳۸۷
▣ پایداری پلاسمیدهای مخمر توسط سانترومر DNA ۳۸۷
▣ بیان ژنهای مخمر در E.coli ۳۸۸
▣ انواع وکتورهای مخمر ۳۸۸
▣ کلون کردن ژنهای مخمر ۳۹۰

www.ketab.ir

- کاربردهای وکتورها در مخمر ۳۹۲
- تهیهٔ واکسن توسط کلون کردن ژن به مخمر ۳۹۵
- کلون کردن توالی‌های تلومری انسانی به YAC مخمر ۳۹۷

مهندسی ژنتیک در سلولهای پستانداران ۳۹۹

- کشت سلولی ۳۹۹
- تولید آنتی بادی منوکلونال ۴۰۰
- مزایای استفاده از آنتی بادی منوکلونال ۴۰۱
- خطرات همراه با آنتی بادی منوکلونال ۴۰۱
- ژن درمانی ۴۰۲
- تولید حیوانات ترانس ژن ۴۰۳
- انتقال ژنها به درون سلولهای پستانداران ۴۰۴

++Ca، جذب DNA توسط سلولهای مهره داران را تحریک می‌کند ۴۰۵

تیمدین کیناز (TK) بعنوان نشانگر انتخابی در یوکاریوتها ۴۰۵

ریزتزریق DNA به درون سلولهای پستانداران ۴۰۸

نقش متیلاسیون در انتقال DNA ۴۰۹

- جداسازی ژنهای منتقل شده ۴۱۰
- برقراری حضور ژنهای خاص سرطانی انسان بواسطهٔ آزمایشات انتقال ژن ۴۱۴
- کلونینگ انکوژنهای انسان ۴۱۵
- حاملان ویروسی برای ورود ژن به سلول حیوانی ۴۱۷
- حاملان SV40 ..... ۴۱۷
- ویریونهای SV40 در نقش حاملین ۴۱۸
- جایگزینی ناحیهٔ تأخیری SV40 ..... ۴۱۸
- جایگزینی ناحیهٔ اولیهٔ SV40 ..... ۴۱۹
- بررسی ژنهای کلون شدهٔ آنتی ژن سطحی ۴۲۰
- همانندسازی قطعات پلاسمید مانند DNA در سلولهای COS ۴۲۱
- کشف توالیهای افزایش دهنده (Enhancers) با استفاده از حاملان SV40 ..... ۴۲۲
- رهائی DNAی ادغام شدهٔ SV40 توسط الحاق سلول COS ۴۲۳
- DNAی ویروس پاپیلوما همانند یک پلاسمید در سلول موش ۴۲۶
- ویروس‌های توموری RNAدار می‌توانند بعنوان حاملین ۴۲۶
- گیاهان و مهندسی ژنتیک ۴۲۸
- پرورش گیاهان ۴۲۹

www.ketab.ir

- تولید گیاه از طریق کشت سلولی ۴۲۹
- ساختن گیاهان دورگه با استفاده از ادغام پروتوپلاستی ۴۳۰
- نقش آگروباکتر و پلاسمید Tiدر ایجاد تومر تاجی ۴۳۱
- پلاسمید Ti در آگروباکتریوم ۴۳۳
- موتانهای پلاسمید Ti ۴۳۳
- ادغام T-DNA باکتری با کروموزوم گیاه ۴۳۳
- ادغام T-DNA به داخل کروموزوم گیاه ۴۳۴
- استفاده از پلاسمید Ti بعنوان یک حامل ۴۳۶
- تمایز سلولی بعد از انتقال TDNA به سلول گیاهی ۴۳۷
- استفاده از ویروس برای ورود ژن نوترکیب به گیاه ۴۳۸
- انتقال DNA به گیاه از طریق شوک الکتریکی ۴۴۰
- کاربرد عملی مهندسی ژنتیک در گیاهان ۴۴۰
- ترانسپوزونها و نقش آنها در مهندسی ژنتیک ۴۴۰

فصل ۱۰ : ساختمان و عمل غشاء سیتوپلاسمی ۴۴۷

- ساختمان و عمل غشاء سیتوپلاسمی ۴۴۷
- مروری بر ساختار غشاء سیتوپلاسمی ۴۴۸
- ترکیب غشاء ۴۴۹
- چربیهای غشاء ۴۵۱
- چربیهای دو لایه غشاء ۴۵۲
- پروتئین‌های غشاء ۴۵۳

الف) پروتئین‌های عمقی ۴۵۴

- کربوهیدراتهای غشاء ۴۵۵

ب) پروتئین‌های سطحی یا (Prepheral proteins) ۴۵۷

ج) پروتئین‌های متصل و یا در دام چربی (Lipid-Anchored proteins) ۴۵۷

- اهمیت سیالیت غشاء ۴۵۸
- حفظ و ابقای سیالیت غشاء ۴۵۸
- عدم تقارن (Assymetric) لیپیدهای غشاء ۴۵۹
- پخش غشاء سلولی پس از ادغام سلولها ۴۶۰
- غشاء پلاسمایی گلبولهای قرمز ۴۶۲
- پروتئین‌های عمقی یا اینتگرال غشاء گلبول قرمز ۴۶۲
- اسکلت غشاء اریتروسیتها ۴۶۳

www.ketab.ir

فصل ۱۱ : برخی از تکنیکهای عملی در زیست مولکولی ۴۶۵
- روش عملی PCR ۴۶۵
- اشتباهات DNA پلی‌مراز ۴۶۷
- آنالیز و خالص سازی محصولات PCR ۴۶۹
- تشخیص مولکولی پاتوژنهای میکروبی با استفاده از PCR ۴۷۶
- جداسازی و آنالیز DNA ۴۸۵
- جداسازی DNA اشریشیاکلی ۴۸۵
- جداسازی DNA دروزوفیل ۴۸۸
- تعیین غلظت DNA استخراج شده ۴۸۹
- روش الکتروفورز روی ژل آگارز ۴۹۸
- تعیین خلوص و وزن مولکولی پروتئینهای حاصل از کروماتوگرافی ۵۰۷

فصل ۱۲ : تولید پروتئین‌های نوترکیب ۵۱۵
سیستم فیوژن ژن GST ۵۱۵
انتخاب شرایط مناسب برای سیستم GST فیوژن ژن ۵۱۶
انتخاب وکتور مناسب برای سیستم GST فیوژن ژن ۵۱۶
مراحل استفاده از سیستم GST فیوژن ژن ۵۱۷
غربال گری سلول نوترکیب ۵۲۲
مراحل آزمایش ۵۲۳
کنترل رشد و بیان در سلول ۵۲۴
محلول لازم برای آنالیز SDSpage ۵۲۵
خالص سازی پروتئین ادغام شده توسط گلوتاتیون سفارز ۴B ۵۲۵
تولید باکتری لیز شده در مقیاس بالا ۵۲۷
خالص سازی پروتئین فیوژ شده با GST ۵۲۸
نکات مهم در خالص سازی فیوژن GST پروتئین ۵۳۰

www.ketab.ir

پیشگفتار

امروزه پیشرفتهای زیست مولکولی قابل مقایسه با هیچ دورانی نیست. پیشرفت مهندسی ژنتیک باعث توسعهٔ علوم دیگر از قبیل پزشکی، پیراپزشکی، میکروبیولوژی، بیوتکنولوژی، کشاورزی و دامپروری نیز شده است. با تولید *DNA* نو ترکیب می‌توان بسیاری از بیماریها را درمان نمود و بسیاری از مواد را تولید کرد. یکی از وظایف مهم دانشگاهها، آشنایی جامعه با علوم نوین می‌باشد. مراکزی در ایران وجود دارد که پژوهشهایی در این زمینه انجام می‌دهند ولی کاربرد این علم در ایران هنوز تحقق نیافته است. بسیاری از دانشگاههای معتبر دنیا بخشهای میکروبیولوژی را به بخش زیست مولکولی تغییر داده‌اند، زیرا این علم اساس و بنیان میکروبیولوژی مدرن می‌باشد.

تدریس زیست مولکولی، تحقیق در زمینهٔ نو ترکیبی باکتریها به همراه مجموعه عوامل فوق مرا بر آن داشت که کتابی تحت عنوان مبانی زیست مولکولی و مهندسی ژنتیک تدوین نمایم و آقای محسن کریمی در این امر مرا یاری نمودند.

www.ketab.ir

در تألیف این کتاب از مجموعه کتابهای معتبر دانشگاهی استفاده شده است و حاوی مطالبی در مورد زیست مولکولی و مهندسی ژنتیک می‌باشد و طبق سرفصلهای شورای عالی انقلاب فرهنگی برای درس زیست مولکولی تهیه و تنظیم گردیده و مورد استفادهٔ دانشجویان رشتهٔ زیست‌شناسی، میکروب‌شناسی، ژنتیک، داروسازی، پزشکی و پیراپزشکی می‌باشد.

در چاپ جدید این کتاب سعی بر آن شده است که ضمن حفظ ساختار قبلی کتاب مطالب جدید از کتاب واتسون ۲۰۰۶ به صورت دیاگرام و یا تابلو ارائه شود تا دانشجویان عزیز بتوانند با مراجعه به دیاگرامها مطالب جدید را فراگیرند. از آنجاکه سعی شده مطالب کتاب حتی‌الامکان ساده و روان بیان شود از صاحب نظران، دانشجویان و همکاران دانشگاهی درخواست می‌گردد مرا در ارائه بهتر مطالب در چاپهای بعدی یاری دهند.

پروفسور گیتی امتیازی
تابستان ۱۳۸۶

www.ketab.ir