



دانشگاه اصفهان
دانشکده مهندسی کامپیوتر

گزارش تمرین سوم دنباله‌ی آلوده

پدیدآورنده:

محمد امین کیانی

4003613052

دانشجوی کارشناسی، دانشکده‌ی کامپیوتر، دانشگاه اصفهان، اصفهان،
Aminkianiworkeng@gmail.com

استاد: جناب آقای دکتر نقش‌نیلچی

نیمسال اول تحصیلی 1403-04

فهرست مطالب

3	مستندات
3	1-مسئله و تحلیل کلی آن:
4	2-تمرین اول و دوم:
9	3- تمرین سوم:
13	7- مراجع

مستندات

1- مسئله و تحلیل کلی آن:

ژن GAPDH (گلیسر آلدهید-۳-فسفات دهیدروژناز) یک آنزیم کلیدی در مسیر گلیکولیز است که نقش اساسی در متابولیسم انرژی سلولی دارد. این ژن به عنوان یک ژن خانه‌دار شناخته می‌شود زیرا در بسیاری از بافت‌ها به طور پایدار و بدون تغییر بیان می‌شود و به عنوان کنترل داخلی در مطالعات بیولوژیکی به کار می‌رود.

توالی دقیق ژن GAPDH انسان معمولاً شامل حدود ۱۰۰۰ جفت باز است و اطلاعات کامل آن در پایگاه‌های داده ژنوم موجود است. ساختار این ژن به طور عمده شامل نواحی کد کننده و غیرکد کننده (اینترون‌ها و اکزون‌ها) می‌باشد.

GAPDH به طور عمده مسئول تبدیل گلیسر آلدهید-۳-فسفات به ۱،۳-بیس فسفولوی گسرات در گلیکولیز است. این فرایند انرژی (ATPs) را برای سلول‌ها تأمین می‌کند و همچنین در مسیرهای بیوشیمیایی دیگر مانند تنفس سلولی و سنتز لیپیدها نقش دارد.

نکات ژن GAPDH:

1. ترجمه و بیان: ژن GAPDH به دلیل بیان پایدار، معمولاً در شرایط مختلف، نقش مهمی در مقایسه با سایر ژن‌ها دارد. به همین علت به عنوان پیام کنترل داخلی در مطالعات RT-PCR و سایر آزمایش‌ها استفاده می‌شود.

2. الودگی در نمونه‌برداری: در هنگام نمونه‌برداری، آلوده کردن ژن GAPDH با RNA یا DNA سایر میکروارگانیسم‌ها می‌تواند نتیجه‌گیری نادرستی را در تحلیل‌ها به همراه داشته باشد. بنابراین، رعایت شرایط بهداشتی و استفاده از تجهیزات استریل الزامی است.

3. تغییرات در بیان: تحت تأثیر شرایط مختلف از جمله استرس‌های محیطی، سموم یا بیماری‌های خاص، سطح بیان GAPDH ممکن است تغییر کند. این تغییر می‌تواند منجر به اشتباه در تفسیر نتایج تجربی شود.

4. اهمیت در مطالعات بالینی: در مطالعات بالینی و زیست‌پزشکی، وجود الودگی یا نوسانات در بیان GAPDH می‌تواند به اشتباه در نتایج آزمایش‌ها منجر شود، پس باید دقت زیادی برای تضمین اعتبار نتایج معطوف شود.

پس GAPDH یکی از حیاتی‌ترین آنزیم‌ها و ژن‌ها در زیست‌شناسی مولکولی است و استفاده درست از آن می‌تواند به فهم بهتری از فرآیندهای بیولوژیکی کمک کند.

مراحل آلوده کردن:

1. انتخاب دنباله DNA:

- از پایگاه داده GenBank استفاده کرده و به وبسایت NCBI می‌رویم و دنباله‌ی سالم GAPDH را انتخاب می‌کنیم.

- دنباله را به صورت دستی با وارد کردن یک یا چند نوکلئوتید غیرمعمول آلوده می‌کنیم.

2. استفاده از VecScreen:

- به بخش VecScreen رفته و دنباله آلوده خود را برای تجزیه و تحلیل وارد می‌کنیم.

- پس از بررسی، نتایج گرافیکی و alignment را مشاهده می‌کنیم که نتایج شامل نمودارهایی از درصد تطابق و توزیع نواحی آلوده می‌باشد.

3. طراحی PCR:

- از ابزار Primer-BLAST در NCBI استفاده می‌کنیم.

- دنباله سالم را وارد و شرایط PCR مورد نظر (مانند دمای ذوب و اندازه محصول) را تعیین می‌کنیم.

- بهترین پرایمرها را مشاهده و همچنین چهار نقشه جانشین آنها را بررسی می‌کنیم.

2-تمرین اول و دوم:

توالی ژن GAPDH انسان :



- عنوان:

Homo sapiens glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH), mRNA

- شناسه : **NM_002046.7 : GenBank**

1- سالم :

>NM_002046.7 Homo sapiens glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH), transcript variant 1, mRNA

```
GCTCTCTGCTCCTCCTGTTTCGACAGTCAGCCGCATCTTCTTTTGCCTCGCCAGCCGAGCCA
CATCGCTCAGACACCATGGGGAAGGTGAAGGTCGGAGTCAACGGATTTGGTCGTATTGGG
CGCCTGGTCACCAGGGCTGCTTTTAACCTCTGGTAAAGTGGATATTGTTGCCATCAATGACCC
CTTCATTGACCTCAACTACATGGTTTACATGTTCCAATATGATTCCACCCATGGCAAATTCCAT
GGCACCGTCAAGGCTGAGAACGGGAAGCTTGTTCATCAATGGAAATCCCATCACCATCTTCC
AGGAGCGAGATCCCTCCAAAATCAAGTGGGGCGATGCTGGCGCTGAGTACGTCGTGGAGT
CCACTGGCGTCTTCACCACCATGGAGAAGGCTGGGGCTCATTTGCAGGGGGGAGCCAAAA
GGGTCATCATCTCTGCCCCCTCTGCTGATGCCCCCATGTTTCGTCATGGGTGTGAACCATGG
AAGTATGACAACAGCCTCAAGATCATCAGCAATGCCTCCTGCACCACCAACTGCTTAGCACC
CCTGGCCAAGGTCATCCATGACAACCTTTGGTATCGTGGAAGGACTCATGACCACAGTCCAT
GCCATCACTGCCACCCAGAAGACTGTGGATGGCCCCCTCCGGGAAACTGTGGCGTGATGGC
CGCGGGGCTCTCCAGAACATCATCCCTGCCTCTACTGGCGCTGCCAAGGCTGTGGGCAAG
GTCATCCCTGAGCTGAACGGGAAGCTCACTGGCATGGCCTTCCGTGTCCCCACTGCCAAC
GTGTCAGTGGTGGACCTGACCTGCCGTCTAGAAAAACCTGCCAAATATGATGACATCAAGA
AGGTGGTGAAGCAGGCGTCGGAGGGCCCCCTCAAGGGCATCCTGGGCTACACTGAGCAC
CAGGTGGTCTCCTCTGACTTCAACAGCGACACCCACTCCTCCACCTTTGACGCTGGGGCT
GGCATTGCCCTCAACGACCACTTTGTCAAGCTCATTTCTTGGTATGACAACGAATTTGGCTA
CAGCAACAGGGTGGTGGACCTCATGGCCACATGGCCTCCAAGGAGTAAGACCCCTGGAC
CACCAGCCCCAGCAAGAGCACAAAGAGGAAGAGAGAGACCCTCACTGCTGGGGAGTCCCT
GCCACACTCAGTCCCCCACCACACTGAATCTCCCCTCCTCACAGTTGCCATGTAGACCCCT
TGAAGAGGGGAGGGGCCTAGGGAGCCGCACCTTGTCATGTACCATCAATAAAGTACCCTGT
GCTCAACCA
```

حال به دنباله ی سالم بالا دنباله های مخرب مثل 40 Simian virus 1:1-5243-49 J02400|uv|gnl> را اضافه کردیم:

GCCTCGGCCTCTGCATAAATAAAAAAAAAA

+

AGGTTACAGAATATTTTTCCATAATTTCTTGTATAGCAGTGCAGCTTTTTCTTTGTGGTGTA
AATAGCAAAGCAAGCAAGAGTTCTATTACTAAACACAGCATGACTCAAAAACTTAGCAA

-2 ألوده :

```
GCTCTCTGCTCCTCCTGTTGACAGTCAGCCGCATCTTCTTTTTCGTCGCCAGCCGAGCCA
CATCGCTCAGACACCATGGGGAAGGTGAAGGTCGGAGTCAACGGATTTGGTCGTATTGGG
CGCCTGGTCACCAGGGCTGCTTTTAACTCTGGTAAAGTGGATATTGTTGCCATCAATGACCC
CTTCATTGACCTCAACTACATGGTTTACATGTTCCAATATGATTCCACCCATGGCAAATTCCAT
GGCACCGTCAAGGCTGAGAACGGGAAGCTTGTCAATGGAATCCCATCACCATCTTCC
AGGAGCGAGATCCCTCCAAAATCAAGTGGGGCGATGCTGGCGCTGAGTACGTCGTGGAGT
CCACTGGCGTCTTCACCACCATGGAGAAGGCTGGGGCTCATTTGCAGGGGGGAGCCAAAA
GGGTCATCATCTCTGCCCCCTCTGCTGATGCCCCCATGTTTCGTCATGGGTGTGAACCATGA
GAAGTATGACAACAGCCTCAAGATCATCAGCAATGCCTCCTGCACCACCAACTGCTTAGCA
CCCCTGGCCAAGGTCATCCATGACAACGCCTCGGCCTCTGCATAAATAAAAAAATTTGGTA
TCGTGGAAGGACTCATGACCACAGTCCATGCCATCACTGCCACCCAGAAGACTGTGGATGG
CCCCTCCGGGAAACTGTGGCGTGATGGCCGCGGGGCTCTCCAGAACATCATCCCTGCCTC
TACTGGCGCTGCCAAGGCTGTGGGCAAGGTCATCCCTGAGCTGAACGGGAAGCTCACTGG
CATGGCCTTCCGTGTCCCCACTGCCAACGTGTCAAGTGGTGGACCTGACCTGCCGTCTAGA
AAAACCTGCCAAATATGATGACATCAAGAAGGTGGTGAAGCAGGCGTCGGAGGGCCCCCT
CAAGGGCATCCTGGGCTACACTGAGCACCAGGTGGTCTCCTCTGACTTCAACAGCGACAC
CCACTCCTCCACCTTTGACGCTGGGGCTGGCATTGCCCTCAACGACCACTTTAGGTTACAG
AATATTTTTCCATAATTTTCTTGTATAGCAGTGCAGCTTTTTTCTTTGTGGTGTAAATAGCAA
GCAAGCAAGAGTTCTATTACTAAACACAGCATGACTCAAAAAACTTAGCAAGTCAAGCTCATT
TCCTGGTATGACAACGAATTTGGCTACAGCAACAGGGTGGTGGACCTCATGGCCCACATGG
CCTCCAAGGAGTAAGACCCCTGGACCACCAGCCCCAGCAAGAGCACAAGAGGAAGAGAG
AGACCCTCACTGCTGGGGAGTCCCTGCCACACTCAGTCCCCCACCACACTGAATCTCCCC
TCCTCACAGTTGCCATGTAGACCCCTTGAAGAGGGGAGGGGCTAGGGAGCCGCACCTTG
TCATGTACCATCAATAAAGTACCCTGTGCTCAACCA
```

The image shows two Notepad windows side-by-side, both displaying DNA sequences. The left window, titled 'seqdump.txt - Notepad', shows a sequence from 'Simian virus 40' (GenBank accession J02400.1). The right window, titled 'seqdump (1).txt - Notepad', shows a sequence from a 'Cloning vector pSV2neo aminoglycoside phosphotransferase gen' (GenBank accession L09601.1). Both windows show the same sequence of nucleotides, which is a segment of the SV40 genome. The sequences are displayed in a monospaced font, with line wrapping. The right window has a status bar at the bottom showing 'Ln 3, Col 36', '100%', 'Unix (LF)', and 'UTF-8'.

```
>gnl|uv|J02400.1:1-5243-49 Simian virus 40
GCCCTGGCTCTGCATAAATAAAAAAATAGTCAGCATGGGCGGAGAATGGGCGGAATGGGCGGAGTTAGGGGCGG
GATGGGCGGAGTTAGGGGCGGAGTATGGTGTGCTGACTAATTGAGATGCATGCTTTGCATACCTCTGCCTGCTGGGAGC
CTGGGAGCTTCCACACCTGGTGTGCTGACTAATTGAGATGCATGCTTTGCATACCTCTGCCTGCTGGGAGCCTGGGAGC
TTTCCACACCTTAACGACACATCCACAGCTGGTCTTTCCGCTCAGAAAGTACCTAACCAAGTCTCTTTTCAGA
GGTTATTTTCAGGCTGCTGCTGCGCGGCTGTCAGCGAGGCTCCGTTAAGGTTCTGATGCTGAGGATGAAAGTAA
AAAAAGCTCAACGCTTTTTTGTGTTTGTAGAGCTTTTGTGCAATTTGTGAAGGGGAAGATGTTGACGGGA
ACGCAAAAAACGAGAAGGTTAACTGAAAAACGAGAAGTTAACTGGTAAGTTTAGTCTTTTGTCTTTTATTCAGGTC
CATGGGTGCTGCTTAACTGTTGGGGGACCTAATTGCTACTGTGTCTGAAGCTGCTGCTGCTACTGGATTTTCAGTAG
CTGAAATTTGCTGCTGGAGAGGCGCTGCTGCAATTGAAGTGCACTTGCATCTGTTGCTACTGTTGAAGGCTTAAACAC
TCTGAGGCAATTGCTGCTATAGGCTCACTCCACAGGCTATGCTGTGATCTGGGGCTCCTGCTGCTATAGCTGGAAT
TGACAGCTTTACTGCAACTGTGACTGGTGTGAGCGCTGTTGCTCAAGTGGGGTATAGATTTTATGACTGGGATCACA
AAGTTTCTACTGTTGGTTATATCAACACAGGAATGGCTGTAGATTTGTATAGGCGAGATGATTACTATGATATTTTA
TTTCTGGAGTACAACTTTTGTTCACAGTGTTCAGTATCTTGACCCAGACATTGGGGTCCAACACTTTTAAATGCCAT
TTCTCAAGCTTTTTTGGCTGTAATACAAAATGACATTCTTAGGCTCAGCTCACAGGAGCTTGAAAGAAGAACCCAAAGAT
ATTTAAGGGAAGTTTGGCAAGGTTTATAGAGAAACTACTTGAACAGTAATTAATGCTCTGTTAATTGGTATAACTCT
TTACAAGATTACTACTCTACTTTTGTCTCCCATTAGGCTACAATGGTGAGACAAGTAGCCAACAGGGAAGGTTTGAAT
ATCATTGGGCACTATGATAATATGATGAAGCAGACAGTATTCAGCAAGTAACTGAGAGGTGGGAAGCTCAAAGCC
AAGCTCTAATGTGACGTGAGTGAATTTATGAAAAATTTGAGGCTCCTGGTGGTGAATCAAGAACTGCTCCTCAG
TGGATGTGCTTTACTTCTAGGCTGTACGGAAGTGTACTTGTCTCTAAAAGCTTATGAAGATGGCCCCAACAAAA
GAAAAGGAAGTTGTCCAGGGGAGCTCCCAAAAAACCAAGGAACAGTGAAGTGCAGAGCTCGTATAAAAGGAGGA
ATAGAAGTTCTAAGAGTTAAACTGGAGTAGACAGCTTCTAGAGGTGGAGTCTTTTAAATCTCAAAATGGCAATCC
TGATGAACATCAAAAGGCTTAAGTAAAAGCTTAGCAGCTGAAAACAGTTTACAGATGACTCTCCAGACAAAGAACAC
TGCTTGTACAGTGTGGCTAGAAATTTCTTGGCTAATTTAAATGAGGACTTAACCTGTGGAATATTTGATGTGGGAA
GCTGTTACTGTTAAACTGAGGTTATTTGGGTAAGTGTATGTTAACTGCAATTCAGGACACAAAAAATCATGAAAA
TGGTGTGGAACCACTTCAAGGCTCAAAATTTTCAATTTTTTGTGTTGGTGGGAACCTTGAAGTGCAGGAGTGTGT
TAGCAAACTACAGGACCAATATCTGCTCAAACTGTAACCCAAAAAATGCTACAGTTGACAGTCAGCAGATGAACACT
GACCAACAGGCTGTTTGGTAAGGATAATGCTTTCAGAGTGGAGTCTGGGTTCTGATCCAAGTAAAAATGAAAAAC
TAGATATTTTGAACCTACACAGGTGGGAAAAATGTGCTCCTGTTTTCACATTACTAACACAGCAACACAGCTGCTTC
TTGATGAGCAGGTTTGGGCCCTTGTGCAAAAGTGCAGCTGTGATTTTCTGCTGTTGACATTTGAGGCTGTTTACC
```

```
>gnl|uv|L09601.1:5744-5858 Cloning vector pSV2neo aminoglycoside phosphotransferase gen
CTCCGCCCATGGCTGACTAATTTTTTTTATTTATGACAGAGCCGAGGCGCTCTGAGCTATTCCAGAAAGTAGTGAGGAG
GCTTTTTTGAGGCTCAGGCTTTTTCGAAAAAAGCT
```

BLAST » vector contamination » RID-RN03CVM6013

HomeRecent ResultsSaved StrategiesHelp

BLAST Results

Formatting optionsDownload

YouTubeHow to read this pageBlast report description

Job title: Nucleotide Sequence

Vecscreen

Interpretation of VecScreen Results

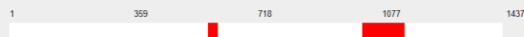
RID RN03CVM6013 (Expires on 01-06 19:51 pm)
Query ID IcdQuery_6345647
Description None
Molecule type dna
Query Length 1437

Database Name screen/UniVec
Description UniVec (build 10.2)
Program BLASTN 2.16.1+ » Citation

Other reports: » Search Summary » Taxonomy reports » Distance tree of results » MSA viewer

Graphic Summary

Distribution of Vector Matches on the Query Sequence



Match to Vector: Strong Moderate Weak
Segment of suspect origin:

Segments matching vector:
Strong match: 577-607, 1026-1149

Alignments

Questions/comments

Alignments

Download Graphics

Next Previous

gnl|uv|J02400.1:1-5243-49 Simian virus 40
Sequence ID: Length: 5292 Number of Matches: 1

Range 1: 4271 to 4394 Graphics Next Match Previous Match

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
249 bits(124)	2e-63	124/124(100%)	0/124(0%)	Plus/Plus

Query 1026	AGGTTACAGAAATATTTTCATAATTTCTGTATAGCAGTCAGCTTTTCCTTTGTGG	1085
Sbjct 4271	AGGTTACAGAAATATTTTCATAATTTCTGTATAGCAGTCAGCTTTTCCTTTGTGG	4330

Query 1086	TGTAATAGCAAGCAAGCAGAGCTTCTATTACTAAGCAGCATGACTCAAAAACCTTA	1145
Sbjct 4331	TGTAATAGCAAGCAAGCAGAGCTTCTATTACTAAGCAGCATGACTCAAAAACCTTA	4390

Query 1146	GCAA	1149
Sbjct 4391	GCAA	4394

Download Graphics

Next Previous

gnl|uv|U09601.1:5744-5858 Cloning vector pSV2neo aminoglycoside phosphotransferase gene region with intron and partial exons from Mesocricetus auratus mu class glutathione s-transferase gene
Sequence ID: Length: 115 Number of Matches: 1

Range 1: 20 to 50 Graphics Next Match Previous Match

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
62.6 bits(31)	3e-07	31/31(100%)	0/31(0%)	Plus/Minus

Query 577	CGCCTCGGCTCTGCATAAATAAAAAAATT	607
Sbjct 50	CGCCTCGGCTCTGCATAAATAAAAAAATT	20

RN03CVM6013-Alignment.txt - Notepad

File Edit Format View Help

BLASTN 2.16.1+

Reference: Stephen F. Altschul, Thomas L. Madden, Alejandro A. Schaffer, Jinghui Zhang, Zheng Zhang, Webb Miller, and David J. Lipman (1997), "Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs", Nucleic Acids Res. 25:3389-3402.

RID: RN03CVM6013

Database: UniVec (build 10.2)

6,111 sequences; 1,270,404 total letters

Query= Length=1437

Sequences producing significant alignments:	Score (Bits)	E Value	Max Ident
gnl uv J02400.1:1-5243-49 Simian virus 40	249	2e-63	100%
gnl uv AF058756.1:4795-5000 Cloning vector pFR-Luc	212	1e-52	99%
gnl uv NG000029.1:2930-3028 Invitrogen cloning vector pCDM8	98.7	3e-18	100%
gnl uv NG000030.1:2716-2807 Invitrogen cloning vector pCDNA1	98.7	3e-18	100%
gnl uv U09601.1:5744-5858 Cloning vector pSV2neo aminoglycosid...	62.6	3e-07	100%
gnl uv AH003157.2:2047-2044 Unidentified cloning vector galk a...	60.6	1e-06	100%
gnl uv AH003157.2:225-322 Unidentified cloning vector galk and...	60.6	1e-06	100%
gnl uv U14626.1:189-288 Cloning vector pSVSport1 beta-lactamas...	60.6	1e-06	100%
gnl uv Q0188846.1:1639-2515 Synthetic Renilla luciferase repor...	60.6	1e-06	100%
gnl uv U57027.2:1-189 Reporter vector pCAT<R>-Promoter vector	60.6	1e-06	100%
gnl uv AF033313.1:4191-4292 Cloning vector pADGal4 2.1	60.6	1e-06	100%

ALIGNMENTS

>gnl|uv|J02400.1:1-5243-49 Simian virus 40
Length=5292

Score = 249 bits (124), Expect = 2e-63
Identities = 124/124 (100%), Gaps = 0/124 (0%)
Strand=Plus/Plus

Query 1026	AGGTTACAGAAATATTTTCATAATTTCTGTATAGCAGTCAGCTTTTCCTTTGTGG	1085

Ln 1, Col 1 100% Unix (LF) UTF-8

بررسی آلودگی توالی DNA با استفاده از ابزار **VecScreen**:

خلاصه اطلاعات:

1. **RID (شناسه جستجو):**

- شماره **RID-RN03CVM6013** نشان‌دهنده نتایج تحلیل خاصی از توالی مورد بررسی است که تا تاریخ 6 ژانویه 2025 معتبر خواهد بود.

2. **طول توالی ورودی (Query Length):**

- طول توالی بررسی‌شده 1437 نوکلئوتید است.

3. **پایگاه داده مورد استفاده:**

- **UniVec (build 10.2)** : این پایگاه داده شامل توالی‌های برداری استاندارد است که برای شناسایی آلودگی‌های احتمالی در توالی DNA استفاده می‌شود.

4. **مطابقت‌ها (Matches):**

- آلودگی‌های شناسایی‌شده در دو بخش از توالی ورودی:

▪ **Strong Match**

- بخش 607-577 (مطابقت قوی با یک وکتور).
- بخش 1149-1026 (مطابقت قوی با توالی وکتور. Simian Virus 40)
- جزئیات بخش‌های آلوده:

- توالی‌ها به طور کامل با بخش‌های مرتبط از پایگاه داده وکتور مطابقت دارند.

تحلیل هم‌ترازی (Alignment Analysis):

1. **بخش اول:**

- **وکتور Simian Virus 40** :

- تطابق کامل (100%) با توالی از پایگاه داده.
- بدون هیچ شکاف (Gap) بین توالی‌ها.

2. **بخش دوم:**

- **Cloning vector pSV2neo** :

- مطابقت کامل (100%) در یک بخش کوچک (31 باز).

نتایج گرافیکی:

- توالی ورودی با توالی‌های وکتور در پایگاه داده UniVec بررسی شد و موقعیت‌های آلوده (Strong و Moderate Match) به صورت گرافیکی مشخص شدند.

حال می‌توان بخش‌های آلوده به توالی‌های وکتور را شناسایی و حذف کرد تا از صحت و خلوص توالی اطمینان حاصل شود.

3- تمرین سوم:

ابتدا برشی از دنباله را داده تا آن تکه را با همانندسازی به صورت کامل تشکیل دهد (هرچه دنباله طولانی‌تری بدهیم تطبیق و پیدا کردن درست‌ترین دنباله راحت‌تر است، در ابتدا با سه خط از توالی به مشکل دریافت دو نوع دنباله برخورد کرد اما با طولانی‌تر کردن توالی به تطبیق و خروجی درست رسید).

```
GCTCTCTGCTCCTCCTGTTTCGACAGTCAGCCGCATCTTCTTTTTCGCGTCGCCAGCCG
AGCCACATCGCTCAGACACCATGGGGAAGGTGAAGGTCGGAGTCAACGGATTG
TCGTATTGGGCGCCTGGTCAACAGGGCTGCTTTTAACTCTGGTAAAGTGATATTGT
TGCCATCAATGACCCCTTCATTGACCTCAACTACATGGTTTACATGTTCCAATATGAT
TCCACCCATGGCAAATTCATGGCACCGTCAAGGCTGAGAACGGGAAGCTTGTCAT
CAATGGAAATCCCATCACCATCTTCCAGGAGCGAGATCCCTCCAAAATCAAGTGGG
GCGATGCTGGCGCTGAGTACGTCGTGGAGTCCACTGGCGTCTTCACCACCATGGA
GAAGGCTGGGGCTCATTTGCAGGGGGG
```

An official website of the United States government. [Here's how you know.](#)

NIH National Library of Medicine
National Center for Biotechnology Information

Primer-BLAST A tool for finding specific primers

Finding primers specific to your PCR template (using Primer3 and BLAST).

Primers for target on one template | Primers common for a group of sequences

PCR Template Retrieve recent results Publication Tips for finding specific primers Save search parameters Reset page

Enter accession, gi, or FASTA sequence (A refseq record is preferred) [Clear](#)

GGAAAGAGAGAGACCTCACTGCTGGGAGTCCCTGCCACTCAGTCCCAACACACTGA
ATCTCCCT
CCTCAGATTGGCATGTAGACCCCTTGAAGAGGGGAGGGGCTAGGGAGCCGACCTTGTC
TGTACCAT
CAATAAAGTACCTGTGCTCAACCA

Or, upload FASTA file Choose File No file chosen

Primer Parameters

Use my own forward primer (5'→3' on plus strand) [Clear](#)

Use my own reverse primer (5'→3' on minus strand) [Clear](#)

PCR product size Min 70 Max 1000

of primers to return 10

Primer melting temperatures (T_m) Min 57.0 Opt 60.0 Max 63.0 Max T_m difference 3 [Clear](#)

Exon/intron selection A refseq mRNA sequence as PCR template input is required for options in the section [?](#)

An official website of the United States government [Here's how you know.](#)

NIH National Library of Medicine
National Center for Biotechnology Information

Primer-BLAST A tool for finding specific primers

Making primers specific to your PCR template. [more...](#)

Status	Running	Check	Cancel
Current time	05 January 2025, 08:46:18		
Time since submission	22 sec		
Progress Message			

FOLLOW NCBI

Twitter Facebook LinkedIn YouTube RSS

Connect with NLM: Twitter Facebook YouTube

National Library of Medicine
8600 Rockville Pike
Bethesda, MD 20894

Web Policies
FOIA
HHS Vulnerability Disclosure

Help
Accessibility
Careers

NLM | NIH | HHS | USA.gov

از بین ده جفت primer که داریم، کدام primer بهتر است؟ (مپ کردن)

1 - دمای ذوب (Tm) :

- **Tm (Melting Temperature)** باید بین 55-65 درجه سانتی‌گراد باشد.
- اختلاف **Tm** بین پرایمرهای Forward و Reverse نباید بیش از 2-3 درجه سانتی‌گراد باشد.
- پرایمر با **Tm** مناسب تضمین می‌کند که اتصال بهینه در دمای PCR انجام شود.

2 - محتوای GC :

- درصد بازهای **G** و **C** در پرایمر باید بین 40-60% باشد.
- پرایمرهایی با محتوای GC مناسب اتصال قوی‌تر و پایدارتری ایجاد می‌کنند.
- اگر محتوای GC خیلی زیاد باشد، ممکن است منجر به تشکیل ساختارهای ثانویه شود.

3 - ساختارهای ثانویه:

- پرایمر نباید ساختارهای ثانویه مانند **Hairpins** (ساختار حلقه‌ای) یا **Self-Dimers** ایجاد کند.
- برای بررسی این موارد می‌توان از ابزارهای آنلاین مانند **OligoAnalyzer** استفاده کرد.

4 - خودتکمیلی (Self-Complementarity) :

- پرایمرها نباید تمایل به جفت شدن با خود یا پرایمر مکمل (Reverse Primer) داشته باشند.
- این ویژگی می‌تواند باعث تشکیل **Primer-Dimer** شود و بازده PCR را کاهش دهد.

5 - اندازه پرایمر:

- طول پرایمرها باید بین 18-25 نوکلئوتید باشد.
- پرایمرهایی با این طول اتصال اختصاصی به توالی هدف را تضمین می‌کنند.

6 - جایگاه اتصال به توالی هدف:

- پرایمرها باید به صورت خاص به توالی هدف متصل شوند.
- از ابزارهای BLAST در NCBI استفاده کنید تا مطمئن شوید پرایمرها به نواحی غیرهدف متصل نمی‌شوند.

7 - همپوشانی در انتهای 3' (End '3) :

- ناحیه انتهایی 3' باید به اندازه کافی اختصاصی باشد تا از اتصال به توالی‌های غیرهدف جلوگیری کند.
- پرایمرهایی که انتهای 3' مناسبی دارند، کارایی بالاتری دارند.

8 - جلوگیری از توالی‌های تکراری یا ساده:

- از پرایمرهایی که حاوی توالی‌های تکراری (مثل AAAAA یا TTTTT) هستند اجتناب می‌کنیم.
- این پرایمرها تمایل به اتصال غیراختصاصی دارند.

انتخاب نهایی:

پس از بررسی تمام معیارها، بهترین پرایمر جفتی است که:

- Tm مناسب و نزدیک به پرایمر دیگر داشته باشد.
- درصد GC مناسب داشته باشد.
- فاقد ساختارهای ثانویه و خودتکمیلی باشد.
- به توالی هدف با بیشترین اختصاصیت متصل شود.

در نهایت، آزمایش PCR برای تأیید عملکرد پرایمر ضروری است.

حال باید بهترین پرایمر و چهارمورد بعد از آن را به عنوان مپ شده انتخاب کنیم که خودسایت بر اساس بهترین بودن و به صورت مرتب شده از اول تا دهم را به ما داده و بهترین همان اولی است و چهارمپ بعدی جانشین همان شماره های دوم تا پنجم هستند که در ادامه تصاویر مربوطه الصاق شده است:

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/primertool.cgi?ctg_time=1736087630&job_key=Mjjs1BXgGEg_dh1zEBM5QWoIKHNHGzNuRq&CheckStatus=Check

Primer-BLAST» JOB ID:Mjjs1BXgGeg_dh1zEBM5QWolkHNHGzNuRg

Primer-BLAST Results

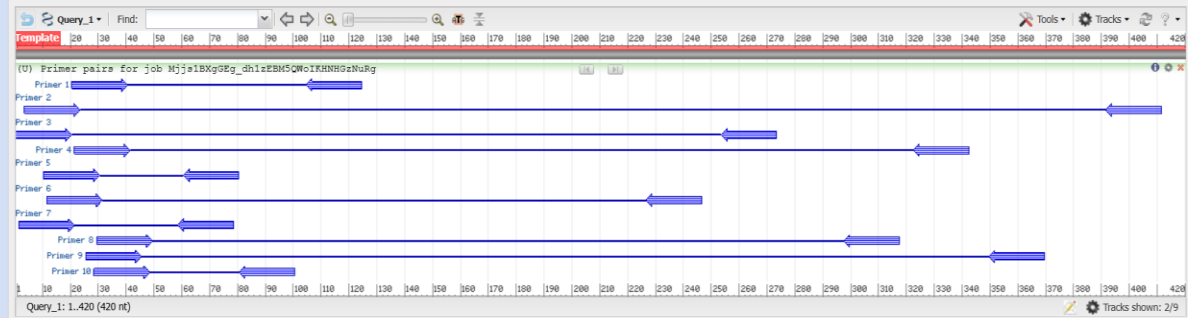
Input PCR template Id|Query_1

Range 1 - 420

Specificity of primers Primers may not be specific to the input PCR template as targets were found in selected database:Refseq mRNA (Organism limited to Homo sapiens)...help on specific primers

Other reports [Search Summary](#)

Graphical view of primer pairs



Detailed primer reports

Detailed primer reports

You can re-search for specific primers by accepting some of the unintended targets, check the box(es) next to the ones you accept and try again to re-search for specific primers

[Submit](#) [?](#)

[Download primer pairs](#)

Primer pair 1

	Sequence (5'→3')	Template strand	Length	Start	Stop	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	GACAGTCAGCCGATCTCT	Plus	20	21	40	60.11	55.00	5.00	0.00
Reverse primer	GCGCCCAATACGACCAATC	Minus	20	124	105	59.97	55.00	4.00	0.00
Product length	104								

Primer pair 2

	Sequence (5'→3')	Template strand	Length	Start	Stop	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	CTCTGCTCCTCTGTTGAC	Plus	20	4	23	59.83	60.00	4.00	2.00
Reverse primer	AAATGAGCCCCAGCCTTCTC	Minus	20	411	392	60.03	55.00	3.00	0.00
Product length	408								

Primer pair 3

	Sequence (5'→3')	Template strand	Length	Start	Stop	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	GCTCTGTCTCCTCTGTTG	Plus	20	1	20	59.82	60.00	2.00	0.00
Reverse primer	TTCCCGTTCTCAGCCTTGAC	Minus	20	273	254	59.97	55.00	3.00	1.00
Product length	273								

Primer pair 4

	Sequence (5'→3')	Template strand	Length	Start	Stop	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	ACAGTCAGCCGATCTCTT	Plus	20	22	41	59.68	50.00	3.00	0.00
Reverse primer	TCGCCCCACTTGATTTTGA	Minus	20	342	323	59.89	50.00	3.00	0.00
Product length	321								

Primer pair 5

	Sequence (5'→3')	Template strand	Length	Start	Stop	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	CCTCTGTTTCGACAGTCAGC	Plus	20	11	30	60.39	60.00	6.00	3.00
Reverse primer	CCATGGTGTCTGAGCGATGT	Minus	20	80	61	60.11	55.00	6.00	1.00
Product length	70								

7- مراجع

- [1] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
برای واکنشی توالی:
- [2] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>
برای شناسایی آلودگی:
- [3] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/vecscreen/>
برای طراحی PCR:
- [4] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>
معرفی دستی این آلودگی ها:
- [5] <https://bioedit.software.informer.com/download/>
گلیسر آلدئید-۳-فسفات دهیدروژناز:
- [6] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/2597>
- [7] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/vecscreen/about/#aboutvecScreen>
- [8] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/vecscreen/univec/>
- [9] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/vecscreen/uvcurrent/#Statistics>
- [10] <https://ftp.ncbi.nlm.nih.gov/pub/UniVec/UniVec>
- [11] https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/primertool.cgi?ctg_time=1736087630&job_key=Mjjs1BXgGEg_dh1zEBM5QWoIKHNHGzNuRg&CheckStatus=Check