



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی
درمانی شهید بهشتی - دانشکده پزشکی
گروه جزوه نویسی دانشجویان پزشکی ورودی

۹۳



مجموعه جزوات درس

ژنتیک (مقدمات)

نیمسال دوم ۹۴-۱۳۹۳



توارث

جلسه اول ژنتیک (استاد موفق)

بدن انسان از ۳۰ هزار ژن یا صفت یا پروتئین یا آنزیم یا اسید آمینه ساخته شده است. این ۳۰ هزار ژن بر روی ۲۳ کروموزوم پدر و ۲۳ کروموزوم مادر هستند. برای یکسری بیماری ها تالاسمی (که ژن آن روی کروموزوم ۱۱ است) هر دو کروموزوم ۱۱ پدری و مادری باید ژن بیماری را داشته باشند، که به این حالت هموزایگوت (همو: یکسان - زایگوت: سلول جنسی) می گویند.

اتوزومال مغلوب (autosomal recessive)

کروموزوم در بدن بر دو نوع است: جنسی و غیر جنسی (اتوزوم)

معمولا اگر افراد هر دو آلل بیماری مغلوب را داشته باشند (حالت هموزایگوت) که از پدر و مادر ناقل یا بیمار گرفته اند، بیمار می شوند. توجه شود که در این نوع بیماری پدر و مادر بیمار حتما فرزند بیمار خواهند داشت. ولی اگر فقط یک آلل بیماری در فردی وجود داشته باشد (حالت هموزایگوت) بیماری رخ نخواهد داد و یا علائم بسیار خفیفی خواهد داشت.

* در اتوزومال مغلوب بیماری و ناهنجاری ها معمولا با یک اختلال بیوشیمیایی، متابولیکی، آنزیمی یا پروتئینی همراه است.

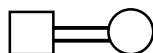
* نقص های اتوزومال مغلوب اغلب جدا کننده می باشند و بیماران به سن تولید مثل نمی رسد.

* علائم بیماری و نقائص اتوزومال مغلوب معمولا در سنین پایین بروز می کند و شدید هستند.

* حدود ۳۸۰۰ نوع بیماری اتوزومال مغلوب تاکنون شناسایی شده است.

* معمولا بیماری های اتوزومال مغلوب به صورت افقی به ارث می رسند (رجوع به اسلاید ۱) در اسلاید می بینید که مرد خانواده سمت راستی هتروزایگوت است و مادر خانواده سالم. طبق قوانین مندل یکی از فرزندان دختر یا پسر (فرق ندارد چون اتوزوم است) می تواند ناقل شود و در خانواده سمت چپ هم همینطور منتها به جای پدر، مادر ناقل است. اگر فرزندان ناقل این دو خانواده با هم ازدواج کنند، طبق قوانین مندل و احتمال $\frac{1}{4}$ آن ها سالم، $\frac{1}{4}$ آن ها بیمار هموزایگوت و $\frac{1}{2}$ ناقل خواهند بود. پس برای همین می گوییم که بیماری بصورت افقی به ارث می رسد، یعنی برای ایجاد بیماری در فرزند هم پدر و هم مادری نیاز هستند که آلل بیماری را داشته باشند و یکی به تنهایی کافی نیست!

طریقه حل شجره نامه: در شجره نامه ها معمولا از بالا نگاه می کنیم که در اینجا والدین به ظاهر سالم اند و بعد هرگاه در فرزندان، نوه ها یا نتیجه ها بیماری مشاهده شد، می فهمیم که باید ناقل بوده باشند! (؟)



نکته: در شجره نامه این علامت به معنای ازدواج خویشاوندی است:

(*) از مبحث شجره نامه حداقل یک سوال هم در علوم پایه و هم در آخر ترم خواهیم داشت!

نمونه های بیماری اتوزومال مغلوب:

XP (Xeroderma pigmentosum): به علت نقص در آنزیم لیگاز بیماران باید لباس های آلومنیومی بپوشند و به هیچ عنوان در روز نمی توانند بیرون بروند چون اشعه ی UV خورشید DNA آن ها را می شکند و آن ها برخلاف افراد سالم آنزیم لیگاز را ندارند که DNA را ترمیم کند، لذا به سرطان دچار می شوند زیر نور خورشید. این افراد شب ها فقط میتوانند به مدرسه بروند.

تالاسمی: شایع و معمولا ناشی از ازدواج خویشاوندی، نقص در آمینو اسید ها که والین به جای اسید گلوتامیک می نشیند.

Tay Sachs (گانگلیوزیدوز-۲GM): همراه با نقص آنزیمی و متابولیکی به علت نقص در آنزیم هگزوامینیداز یا همان هگز ۱ از علائم آن لکه قرمز آلبالونی رنگی است که در پشت چشم ظاهر می شود.

PKU (فنیل کتونوریا): ناشی از ازدواج خویشاوندی در آن ادرار نوزاد بوی نان کپک زده می دهد.

سندرم هورلر (Hurler): یا همان موکوپلی ساکاریدوز نوع یک که در آن انگشتان کاملا بصورت close shape کلفت و کوتاه هستند.

CF (سیستیک فیبروزیس): که در آن ریه های بسیار خلط آور دارند که کشنده است. در عرق این افراد نسبت کلر به سدیم بیشتر است.

آلبینیسم (زالی): نقص های پوست به علت فقدان آنزیم لاپاز که بصورت اتوزومال مغلوب است. نوع دیگر آن نقص در رنگدانه های عنبیه چشم است که بصورت وابسته به X مغلوب است.

درست تر است بگویم که زالی یک بیماری هتروژن است به این معنی که بیش از یک مورد نقص ژنی در ایجاد آن دخیل است. پس در سوالات بهتر است برای نوع این بیماری هتروژن را انتخاب کنیم. این بیماری مشترک بین حیوان و دام است.

اتوزومال غالب (autosomal Dominant)

در این نوع بیماری ها تنها یکی از والدین می تواند بیماری را به فرزندان منتقل کند. معمولا در این خانواده ها یکی از فرزندان به بیماری مبتلاست. فرزندان سالم از نظر داشتن آلل سالم هموزایگوت هستند و نمی توانند بیماری را منتقل کنند. این بیماری های غالبا با اختلالات و ناهنجاری های چشمگیر کلینیکی همراه است. یک فرد مبتلای هترو معمولاً نصف فرزندان خود را بدون توجه به جنسشان مبتلا می کند.

در شجره نامه (اسلاید ۲) پدر بیمار بوده ولی هتروزیگوت است. نصف فرزندان بیمار شده اند. اگر تمام فرزندان یک فرد بیمار بودند احتمالاً آن فرد هموزایگوت است.

تنوع در میزان و عوارض بیماری وجود دارد و این عوارض متغیر است. معمولاً علائم نقص در بیماران دو مورد به بالا باشد.

مثلاً پلی داکتیلی (۶ انگشتی)، اگر فرد تنها ۶ انگشتی باشد، نمی شود بگویم سندروم دارد و nonsyndromic پلی داکتیلی است و می تواند به علت حوادث زمان بارداری بوده باشد. ولی اگر علاوه بر ۶ انگشتی علائم دیگر داشته باشد آن سندرومیک و ژنتیکی است.

مثال دیگر اینکه در بیماری مارفان (اتوزوم غالب) اگر بیمار همه علائم را نداشته باشد یا علائم خفیف را داشته باشد (مثل آبراهام لینکلن) احتمال هتروزیگوت بودن بیماری می رود. (که طبعاً بخاطر غالب بودن بروز کرده ولی به شدت کمتر)

*بیماری های اتوزومال غالب به صورت متوالی به ارث می رسد به این معنی که مستقیماً از پدر یا مادر به فرزندان منتقل می شود و مثل اتوزومال مغلوب نیاز نیست که هر دو آلل بیماری را داشته باشند تا فرزندان بیمار شوند.

*گاهی اوقات در یک خانواده با سابقه کاملاً سالم ناگهان بیماری اتوزومال غالب پیدا می شود که علت آن ایجاد موتاسیون در ژن هاست که معمولاً برای ژن های دراز رخ می دهد. (هرچه ژن درازتر، احتمال موتاسیون بیشتر)

نمونه بیماری های اتوزومال غالب:

هانتینگتون کریا (هانتینگتون نام دانشمند آمریکایی و کریا به معنی رقص باله): بعد از ۳۰ سالگی مشکلات حسی عصبی پیدا می کنند و مانند کسی که باله می رقصد حرکت می نمایند. به شدت عقب مانده ذهنی می شوند.

رتینا بلاستوم: سرطان شبکیه

مارفان: بیماری عنکبوتی، احتمالاً بیماری که آبراهام لینکلن به آن مبتلا بوده است و به خاطر هترو بودن شصت و خورده ای سال توانست عمر کند. از علائم آن می توان به قد بلند، چشمان لوچ، سر قدامی خلفی (سر دراز و کله خریزه ای!)، سینه کبوتری و انگشتان عنکبوتی در افراد هموزایگوت احتمال ایجاد نقص قلبی وجود دارد که قبل از یک سالگی بیمار را از پا در می آورد.

*بطور کلی در اکثر بیماران اتوزومال غالب اگر فرد هتروزیگوت باشد، احتمال دارد تا سنین بالا هم عمر کند ولی اگر همو باشد تا قبل از دو سالگی معمولاً می میرد.

پلی داکتیلی: بیش از ۵ انگشت داشتن

OI (Osteogenesis Imperfecta): سندروم استخوان های شکننده

waardenburg syndrome (واردن برگ): سندروم چشمان دورنگ، معمولاً کمی از موی جلوی پیشانی سفیدرنگ می شود. چشم ها با فاصله، کری خفیف یک طرفه، زاویه ی قسمت lateral چشم دوار است. رنگ پریدگی (پروانه ای) در پوست و به صورت دوار روی پا ها.

سندروم اکندروپلاژیا: تولد فرزند کوتاه قد (کوتوله) در خانواده ای که سایر اعضا معمولاً قد طبیعی دارند. علت بیماری ارثی و موتاسیون است. در ۲۰٪ موارد از طریق پدر و مادر کوتوله فرد مبتلا می شود که ارثی است و در ۸۰٪ موارد وقوع جهش در ژن بیماری که روی کروموزوم ۱۴ قرار دارد (به دلیل دراز بودن ژن و موتاسیون در دوران جنینی) رخ می دهد.

اگر در خانواده ای دو یا بیشتر از دو مورد دیده شود، این در خانواده موروثی است و در غیر اینصورت، غیروراثتی و حاصل جهش است و خواهر ها و برادرها از نظر وراثتی مشکلی نخواهند داشت. البته فردی که در اثر جهش به سندروم دچار شده است، آن را به صورت ارثی منتقل خواهد کرد.

سندروم نیروفیروماتوز (سندروم فیلی): پاها شبیه پای فیل می شود. خرطوم به وجود می آید. ضخامت بدن قرینه نیست. (یک سمت بدن شکل متفاوت با سمت دیگر دارد.) حالت خفیف تر آن ماه گرفتگی است که حدود ۳۰ تا ۴۰٪ به دلیل جهش در دوران بارداری رخ می دهد. (سیگنال ماه گرفتگی)

علامت مخصوص این بیماری لیش (Lesch): لکه های داخل چشم که مشکل خاصی ایجاد نمی کند. هاله ی آبی رنگ در صلبیه چشم است.

سندروم ارگانومگالی: دست و پای پرانتری هنگام تولد، دنده های تسمه مانند، قابل تشخیص هنگام تولد. این سندروم نباید با نوع اکتسابی دست و پای پرانتری اشتباه گرفته شود. گاهی دست و پای بچه به خاطر گذاشتن کهنه ی زیاد لای پاها، پرانتری می شود که این حالت حداکثر تا دو سالگی ادامه دارد و به حالت عادی بعداً برخواهد گشت. یا مثلاً در ورزشکاران که پاها پرانتری شده و ثابت می ماند. اما در حالت های ژنتیکی این نقص مدام افزایش می یابد.

*سقط جنین دو حالت دارد:

۱) جنین رنگ پوست مادر را داشته باشد:

۲) جنین رنگ غیرطبیعی (قرمز، سیاه و ...) داشته باشد:

اهلردانلوس: نرمی استخوان و انعطاف زیاد بدن، کشیدگی غیر عادی پوست و عضلات (بدن لاستیکی!)

سندروم Apert (مرغ طوطی): لب پایین جلو آمده، بینی منقارمانند، چشمان بیرون زده، اتوزومال غالب، پشت سر صاف، دندان های بهم ریخته

سندروم نونان: مشابه ترنر، سندروم ترنر تنها در زنان دیده می شود و در صورتی که ویژگی های این سندروم در مردان دیده شود، نونان است.

*توجه کنید که هر فرد می تواند یک یا دو سندروم داشته باشد، اما چون خفیف است تشخیص داده نمی شود.

گالاکتوزومی: اشکال اصلی: نقص آنزیم G1 put این افراد به راحتی ماست می خورند اما با خوردن شیر حالت اسهال و خواب آلودگی پیدا می کنند. آنزیم G1 put پروتئین شیر را می شکند و چون در این افراد این آنزیم را نداریم، پروتئین در معده لخته شده و رسوب می کند و فرد حالت خواب آلودگی خواهد داشت.

وابسته به X:

مغلوب: گاهی مادر ناقل است. اما به علت عدم بروز فنوتیپ از بیماری خود اطلاع ندارد. هرگز دختر یک پدر و مادر که فنوتیپ را نشان نمی دهند، دیده نمی شود اما ممکن است در پسر دیده شود. بطور کلی بیماری های وابسته به X مغلوب بیشتر در مردان دیده می شود. ژن بیماری از مادر به پسر و دختر و از پدر تنها به دختر به ارث می رسد. اما در دختر در صورت هتروزایگوت بودن، به دلیل وجود یک کروموزوم سالم در کنار کروموزوم ناقص، جبران دوزی (Dosage compensation) رخ می دهد و فنوتیپ بروز نمی کند. هر چند زن ناقل معمولاً سالم است اما به ندرت فنوتیپ را بروز می دهد.

مثال: کوررنگی، شب کوری، فاویسم (تب باقلا)، هموفیلی، تحلیل عضلانی دوشن

دوشن: بیماری تحلیل عضلانی که در آن نوعی پروتئین دیستروفین ساخته نمی شود. قدرت فرد در بلند شدن کم می شود. تا دوسالگی نمی تواند بلند شود، تا ده سالگی روی نیمکت می نشیند. هنگام بلند شدن تمام نیرو را در دست و پاها جمع می کند. (چهار دست و پا) و هنگام بلند شدن به دلیل فشار زیاد عرق می کند.

*نکته: تشخیص پزشکی در بیماری خیلی مهم است، یکی از راه های مهم که متخصص روماتولوژی باید به راحتی از طریق فنوتیپ تشخیص دهد، این است که بیمار برای بلند شدن از خود کمک می گیرد. در صورتی که در سایر بیماری های روماتولوژی باید حتما به چیزهای دیگر برای بلند شدن تکیه دهد.

دیگر ویژگی ها: toe walking راه رفتن روی انگشت شست پا، عضلات به قدری ضعیف است که ران باریک تر از ساق می شود. به این دلیل که روی کمر می ایستند شانه های برجسته دارند. در این بیماری مادر ناقل سالم است و گاهی مشکلات عضلانی دارد. این مادر پسر ناقل مبتلا و دختر ناقل خواهد داشت. نوع خفیف تر این بیماری "بیکر" است.

حدود ۱۲۷ نوع بیماری وابسته به X مغلوب وجود دارد. اغلب مادران برای فرزندان پسر خود به مراکز درمانی مراجعه می کنند. در صد میلیون مورد یک دختر بیمار خواهیم داشت.

فاویسم: با خوردن باقلا، کلیه ها از کار می افتند و گلبول های قرمز می ترکند(همولیز). ادرار به رنگ کواکولا خواهند داشت.

لش نیهان(Lesch Nyhan): نقص آنزیم هیپوزانتین گوانین فسفوریبوزیل ترانسفراز(HGPRT)(رجوع شود به بیوشیمی فصل متابولیسم نوکلئوتید) بالا رفتن میزان اوریک اسید، التهاب انگشتان، بیمار انگشتان و لب هایش را می جود و گوش هایش را می کند.

تنها راه قرار دادن گارد محافظتی یا دندان ژله ای است و دست و پای بیمار را می بندند. در غیراین صورت بیمار به دلیل التهاب بسیار زیاد لب ها و انگشتان در خطر است.

راه تشخیص: در پوشک نوزاد پسر پودر پرتقالی رنگ دیده می شود.

اسید اوریک از مجرای ادرار خارج می شود. در صورت نداشتن این عارضه، بیماری ممکن است جذام یا نوعی التهاب خودایمنی باشد.

X شکننده: به شدت عقب ماندگی ذهنی دارد. در عقب مانده های ذهنی همواره بیضه کوچک است و اندام های جنسی رشد زیادی ندارند. اما استثنا در این بیماران، بیضه ها بزرگ و مملو از آب است.

افزایش توالی CGG که در افراد سالم حداکثر ۵۰ کپی در این ناحیه است، در افراد permutation(بینابین وضعیت بیمار و سالم) این کپی ۲۰۰ مورد است و در افراد بیمار ۲۰۰ تا ۱۰۰۰ کپی وجود دارد که باعث شکنندگی کروموزوم X می شود. در این بیماران برای تشخیص بیماری، نمونه باید در محیط کشت TC-199 قرار بگیرد، در غیر اینصورت شکنندگی قابل تشخیص نیست.

صفات تحت تأثیر جنس(Sex-influenced):

یک صفت در خواهر بصورت مغلوب و در برادر بصورت غالب است. مثل رویش ریش و سبیل یا طاسی که در پسران غالب و در دختران مغلوب است. رویش سینه که در دختران غالب است و در پسران مغلوب. در حالی که این صفات روی کروموزوم جنسی نیست. لذا هورمون های جنسی هستند که باعث بروز این صفات و فعال شدن ژن ها می شوند.

مثلا در زنانی که هورمون تسترون زیادی دارند، صفات مردانه بروز می کند.

مثلا در سرطان سینه که از نوع وراثتی باشد، فرزندان می توانند ژن معیوب را از پدر به ارث برده باشند ولی در دختران بروز می کند و پسران به عنوان ناقل می توانند بعدا دختران خود را بیمار کنند. چون پسران هورمون های مردانه دارند، سرطان را بروز نمی دهند.

صفات مالتوفاکتوریال: در این صفات می بینیم که نقایص ژنی وجود دارند، اما عوامل محیطی را می خواهند تا بروز پیدا کنند. مثلا قد، وزن، MS، هوش، دیابت، بیماری اسکیزوفرنی(بیماری افسردگی) شیزوفرنی، هایپرتونی و کشیدگی عضلات، آسم و صرع(Epilepsy) که اگر ما مثلا وزن را در نظر بگیریم در یک خانواده که ژن چاقی دارند، افراد آن می توانند رژیم گرفته و با تغییر عوامل محیطی از بروز چاقی جلوگیری کنند. درمورد هوش آزمایشی انجام دهند که در آن دویست دوقلو را از هم جدا کردند یکسری را به جزیره انگلیس فرستاده و سایر را در کاستاریکا نگاه داشتند. مشاهده شد که افراد دو منطقه از لحاظ هوشی باهم کاملا متفاوت بوده اند چراکه آب و هوا، تغذیه، اینترنت، کلاس، کتابخانه و... تمام این ها در هوش تأثیر دارد. بررسی شده که در برادر و خواهر هایی که تعدادشان زیاد است، معمولا هوششان پایین تر از خانواده هایی است که فرزندان کمتری دارند، چون توجه والدین به آن ها بیشتر است. یا در خانواده هایی که دوقلو یا چندقلو دارند بررسی شده که هوششان نسبت به افراد تک قلو کمتر است. چون قیافه های این چندقلو ها برای والدین تکراری تر است.

*دایره ای که وسط آن سیاه است، زن ناقل وابسته به X است.

سقط: مادرانی که چند بار پشت سر هم سقط می کنند حتما زوجین باید بررسی شوند.

علت های سقط:

وراثتی مانند نقص های آناتومیک مانند سندروم Osteogenesis Imperfecta که در آن حرکات بچه مختل شده، جنین گیر می کند و می میرد.

غیروراثتی که در آن سن خیلی کم مادر (زیر ۱۸) یا بالای ۳۵-۴۰ است که جنین هایشان معمولا ترنر یا داون هستند و سقط می شوند. فقط یک تا دو درصد این ها به دنیا می آیند که بعد از تولد بیماریشان مشخص می شود. زوجین جوانی که اولین فرزندشان داون بود حتما باید بررسی شوند چون احتمال زیاد ژنتیکی است این مورد. اگر مقصر در این نوع مورد ژنتیکی مادر باشد، مادر ۴۵ کروموزومی است اما اگر پدر باشد به این معنی است که پدر دارای چسبندگی کروموزوم ۲۱ می باشد. اگر پدر دارای این حالت بوده و ناقل سندروم داون باشد، اصلا نمی تواند دارای فرزند سالم شود و همه فرزندان وی داون می شوند!

علت دیگر سقط می تواند تفاوت در RH یا گروه خونی مادر و جنین باشد.

علت آخر سقط ها recreation است. منظور از آن این است که مثلا مادر باردار است ولی مواد مخدر یا الکل مصرف می کند، متابولیک خون نرمال ندارد، ضربه به شکم، باسن یا کمر مادر می خورد. (خانه تکانی مثلا!)

گروه ۲۲: بردیا دانایی، محمدحسین نیازاده، حسین نخعی، امیرعباس امینی

عشق چون آید برد هوش دل فرزانه دزد دانا می کشد اول چراغ خانه را

آنچه ما کردیم با خود هیچ نابینا نکرد در حیاط خانه گم کردیم صاحبخانه را

زیب النساء

ژنتیک - استاد پور اسماعیلی - جلسه دوم

اول جلسه جا داره تشکر بکنم از استاد عزیزمون که با تدریس فوق العاده خوب و کاملشون، موجب شدن که معنای "دانش" - "جو" بروز حقیقی پیدا کند و کلاً خودش مطلب را (دور از جون دانشگاه پیام نور!) یاد بگیرد. که همانا دانشجویی که دانشجو نباشد، دانشجو نیست!

بنیامین فراهانی (مُدَّ زَرْتَهُ الْعَالِی: / «مُوخَرَةُ تَایِیْسِت»)

جزوه را با تعریف عمیقی از ژن شروع می کنیم. ژن قسمتی از ماده ژنتیک کد کننده است که به طور مستقیم یا غیر مستقیم صفت یا عملکردی از سلول را کنترل می کند. (فکر نمی کنم واقعاً لازم باشه دقیق تر شیم :/)

ژن ها همیشه اطلاعات مربوط به پروتئین ها نیستند، بلکه می توانند مربوط به noncoding RNA (ncRNA) ها باشند. این RNA ها ارزش اطلاعاتی ندارند و به تولید پروتئین فعالیتشان ختم نمی شود. به طور عمده ncRNA ها دو دسته می شوند.

Small: بیشتر روی تغییرات بعد از رونویسی دخالت می کنند (مخصوصاً splicing alternative)

large: نقش در تنظیم بیان ژن (تنظیم رونویسی) و دخالت در تغییرات اپی ژنتیک

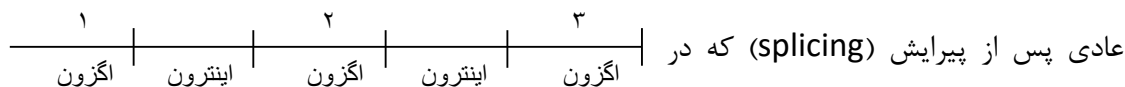
ncRNA

جالب اینجاست که خب این جزوه هست و جزوه باید طبق صحبت های استاد نوشته بشه، ولی خیلی از قسمت هایی که استاد از آن صحبت می کند، دقیقاً مثل همین اپی ژنتیک، اصلاً توی درسنامه نیست و خود استاد هم نمی فهمه منظورش از اپی ژنتیک چیه. یا مثلاً همین جوری alternative splicing رو توضیح نداده، نام می بره!

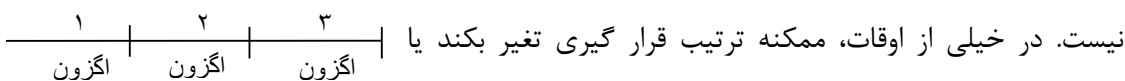
متی این دسته بندی که استاد ارائه می دهد اصلاً معلوم نیست مربوط به کباست! ولی ما با توکل به خدا جلو می ریم و...
 "رومانی متشکریم" /:

اول بگیم پیدایش متناوب (alternative splicing) یعنی چه ...

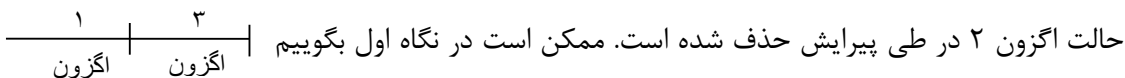
خب ما اگزون ها و اینترون ها رو یادمون میاد. این مثلاً یک mRNA است که هنوز بالغ نشده. در حالت



دبیرستان خواندیم، اینترون ها حذف می شوند و اگزون ها به شکل زیر باقی می مانند. اما این همه ماجرا



نیست. در خیلی از اوقات، ممکنه ترتیب قرار گیری تغییر بکند یا حتی یکی از اگزون ها حذف بشه. مثلاً حالت زیر را پس از صورت گرفتن پیرایش در نظر بگیرید. در این



حالت اگزون ۲ در طی پیرایش حذف شده است. ممکن است در نگاه اول بگوییم alternative splicing، ولی در

اینگونه نیست. بلکه mRNA ی دومی خود یک پروتئین مستقل و جدا می سازد. یعنی انگار از یک ژن می

توانیم ۲ تا پروتئین بسازیم!

حالا چه ربطی به بحث ما داشت؟ دو تا نکته وجود دارد:

۱- اولاً خود صورت گرفتن واکنش های splicing اغلب نیاز به یکسری RNA های کوچک دارد که

small noncoding RNA محسوب می شوند.

۲- دوماً سلول از کجا بفهمد که کی پروتئین اولی را بسازد، کی دومی را؟ خود این نیاز به یکسری

عوامل تنظیمی دارد که باز هم یک سری از همین small ncRNA ها به عنوان عوامل تنظیمی

هستند.

حالا اپی ژنتیک یعنی چه؟

یعنی اینکه استاد میاد و بحث اپی ژنتیک رو وارد کار میکنه، موجب میشه که آدم عکس العملی نداشته باشه جز کردن موهای سرش! :\$.

بیشتر بدانید! (ولی لازمه اگه براتون سواله :/)

تقریباً هممون کم و بیش با نظریه داروین و لامارک آشنا هستیم و شاید مسفره ترین قسمت نظریه لامارک، این بود که جانداران صفات را کسب می کنند و به نسل بعدشان انتقال می دهند. (حال کاری نداریم که داروین هم چنین تصویری داشت و بعداً نیوداروینسم قضیه رو راست و ریس کرد P ;)

این تفکرات لامارک مسفره به نظر می آمد که ما در دبیرستان به آم می فندیریم! اما وقتی اپی ژنتیک کشف شد، این فنده ها را بر لبان دانشمندان ماسید!

این که بگویم اهمیت تنظیم بیان ژن، از خود ژن بیشتر است، به هیچ وجه اغراق نیست. طی مطالعاتی که صورت گرفت، فهمیده شد که سلول ها در شرایط مختلف که قرار می گیرند، بیان ژن خود را تغیر می دهند (فیلی هم بدیهی!) اما در اپی ژنتیک متوجه شدیم که اگر شرایط خاصی وجود داشته، سلولو ها می توانند باز های آلی DNA را (مخصوصاً هیستون را) متیله کنند و بیان ژن را تغیر دهند. اما جالب ترین نکته این جا بود که این متیله کردن به نسل بعد انتقال پیدا می کرد! یعنی نسل سلول های بعد نیز اون نامیه ژنشون متیله بود و بیان ژن آن ها هم کمتر یا بیشتر می شد. بچه های آن ها هم همینطور! مثلاً فرض کنید افزایش بیان ژن X از طریق متیله کردن فلان جایش، موجب می شود که زرافه قدش دراز شود. حال این دراز شدن به نسل بعدی نیز منتقل می شود و نسل بعد بلند تر می شود! شبیه نظریه لامارک شد، نه؟؟

البته این مثال به شدت احمقانه است 😊 و اپی ژنتیک هنوز مسئله ای نا شناخته است. فب اینجاست که به معنای واقعی کلمه، استاد دچار خود درگیری می شود! جالبه بدانید که این قسمت ها در درسنامه وجود ندارد.

اول یه مفرمه بگم بعد می ریم سراغ صحبت های گوهر بار استاد! (///:) همانطور که گفتم، در طی اپی ژنتیک، یه قسمت هایی از DNA متیله میشن، این قسمت های متیله سیستم های پروتئین را جذب خودشون می کند که موجب می شوند که هیستون ها بیشتر * به DNA بچسبند و آن را محدود کنند و در نتیجه بیان آن را کاهش بدهند.

حالا اینا چه بلایی سر هیستون ها میارن؟؟؟ این سیستم های پروتئینی اغلب هیستون ها را متیله یا استیله می کنند. متیله کردن هیستون ها منجر می شود که بیشتر به بچسبند و بیان آن ها کاهش پیدا کند. از طرف دیگر استیله کردن هیستون ها موجب می شود که از DNA دور شوند و بیان افزایش پیدا کند. حالا بعده این همه مقدمه خواستم بگم که large ncRNA ها در این هایپر متیلاسیون و هایپر استیلاسیون نقش دارند! /:

***: فقط یه نکته اونم اینکه مهم ترین جایی که از لحاظ اپی ژنتیک داریم، کجاست؟؟ مسلماً پروموتور یا همون راه انداز! چون با تنظیم اون، کل ژن رو در اصل تنظیم کردیم!

توجه! توجه!: می دونم دارین فحش می دین (به شفه خودم: /) که استاد ۵ دقیقه صرف زرد اندازنه ساعت نوشتی، این چه

پزوه ایه؟... \$ ولی یه بارم شده بیایید یه بارم علم برامون مهم باشه نه نمره! ☺ (بنی جان تو فورث استاد: /)

حالا میریم سراغ یه مفهوم پایه ای دیگه...

کروماتین: ساختار ترکیبی از هیستون ها، پروتئین های غیر هیستونی و DNA!

بیاین با هم یه نگاهی به ساختار ژنوم هسته ای مون بندازیم.

DNA در حالت عادی، لخت و بدون هیچ هیستونی در کنارش، حدوداً 2^{nm} قطر داره. اگر ساختار های نوکلئوزومی تشکیل بشن، در حالت ابتدایی و اولیه، رشته های DNA در کنار هم قطور تر می شوند و یک

رشته ای با قطر حدوداً 10^{nm} درست می کنند. حالا اگر همین نوکلئوزوم ها به هم متصل شن و روی هم تا بخورند، یک رشته قطور تر که 30^{nm} است.

همین رشته های 30^{nm} با کمک پروتئین های اسکلت هسته ای (scaffold) (همونایی که قوام هسته رو حفظ می کنند، این جا هم نقش دارند) دوباره روی هم تا می خورند و رشته قطور تری تشکیل می دهند. اگر بخواهیم واقع نگر باشیم، ژنوم هسته ای ما بیشتر بین این فیبر های 30^{nm} و 300^{nm} هستند. هرچه فعالیت ژن بیشتر، به حالت فرم 20^{nm} نزدیک تر و هرچه فعالیت ژن کمتر، به فرم 300^{nm} ای، فشرده تر و فشرده تر می شوند تا این که به حالت کروموزوم در می آیند. در این حالت حداقل بیان ژن را داریم که آن را تقسیم های سلولی (میتوز و میوز) مشاهده می کنیم.

همانطور که میدانید ژنوم ما دو قسمت دارد! هسته ای و میتوکندری ای!

اول یه رفع ابهام! این که فکر کنیم ژنوم انسان یک چیز کامل منحصر به فرد و اینا... کلاً راه ضلالت و گمراهی است. کلی ژن مشترک بین ما و مگسه سرکه وجود دارد. این که هیچی، تفاوت ما با شامپانزه، فقط ۱ درصد است. یعنی توالی نوکلئوتیدی ژنوم ما ۹۹٪ یکسان است.

دوم اینکه تنها ۲٪ از ژنوم ما به درد می خورد! (که شامل اگزون و اینترون ها و توالی های تنظیمی و ... میشه) بقیه چرت و پرت! (junkDNA) هر از چندگاهی نقش ساختاری دارند (مثل تلومر) ولی در اغلب اوقات به هیچ دردی نمی خورن! این که منشأ این ها کجاست و چرا حذف نشدن، هنوز سواله.

سوماً قدیم فکر می کردن کلاً اینترون ها حذف می شن و به هیچ دردی نمی خورن. ولی الان فهمیدیم که منشأ بسیاری از ncRNA ها اینترون ها هستند که در splicing و تنظیم بیان ژن نقش دارند.

هر ژن دارای یک قسمت تنظیمی به نام پروموتور یا راه انداز است که در بالای ژن قرار دارد. بر حسب اتفاق (!) RNA پلی مراز نیز می تواند روی این قسمت ها قرار بگیرد و رونویسی انجام بدهد. از کجا؟ از آنجایی که پروموتور به اتمام می رسد که به آن قسمت های ساختاری ژن می گویند. در پایان قسمت

ساختاری نیز، توالی های مخصوصی از توالی های نوکلئوتیدی قرار دارند که در اتمام بخشیدن رونویسی نقش دارند.

پروموتور ها، اغلب طویل تر از آن هستند که ما فکر می کنیم. طول توالی یک پروموتور می تواند تا 10kb هم باشد. یک سری توالی های مخصوص به نام enhancer ها (افزاینده ها) در ژنوم ما وجود دارند که در تنظیم بیان ژن نقش دارند و نقش آن ها افزایش بیان است. Enhancer ها در اصل بخش های بسیار دور پروموتور هستند که به آن ها distal part پروموتور هم می گویند. (یه احساس قلبی شدید در من وجود داره که میگه، استاد داره چرت میگه، خدا شاهده! ولی این نیز بگذرد...)

تنظیم بیان ژن خیلی مهم هست، همین enhancer ها در ارتباط به هورمون ها یا گیرنده های هورمون ها هستند و فعالیت سلول را کنترل می کنند. از طرف دیگر، همچنین بسته به سلولی که هست، موجب می شوند که بعضی پروتئین ها بیان شوند یا نشوند که در اصل موجب همان تمایز می شوند.

بنیامین finished

در ارتباط با قسمت ساختاری ژن اگزونوکلئون هایی شناسایی شده اند. به طور معمول اگزون ها بخش هایی از ژن هستند که به پلی پپتید کد می شوند ولی در بعضی از وضعیت های*****شده ی تکاملی*****ها باقی می مانند و همواره با توالی های نوکلئوتیدی*****،توالی های نوکلئوتیدی*****هم به اسید آمینه کد می شوند. اینجاست که شما یک ژن متحد را دارید و این ژن ممکن است به طور مثال در یک بافت کلاژن type3 تولید کرده و در بافتی دیگر کلاژن type4 کد نماید. باز در رونویسی خواهید دانست که در این موارد بیماری زا شما alternative splicing یا وضعیت غیر نرمال دارید ولی در موقعیت های تکاملی (تکامل تعریف کرده که یک ژن در یک بافت بخصوص، پروتئینی با چه توالی اسید آمینه ای و با چه طولی تولید شود و در بافت دیگر همین ژن چه توالی اسید آمینه و چه طولی داشته باشد) در این صورت عملکرد آنها متفاوت خواهد بود. بنابراین alternative splicing گاهی

دارای شرایط نرمال و گاهی دارای شرایط غیرنرمال است، به هر حال ژن ها یا بخش های کد کننده ی ژنوم ما چیزی بیش از ۲٪ از ژنوم ما را تشکیل نمیدهند که یا پروتئین کد می کنند به عنوان final product یا ultimate product مطرح می شوند و rRNA ها و tRNA ها و RNA های کوچک که به عنوان noncoding RNA شناخته می شوند.

متخصصان ژنتیک تکاملی توضیح می دهند که به نظر می آید ما هر روزه RNA های جدیدی را که از اینترون به وجود می آید پیدا می کنیم که بسیار زودگذر هستند و ظاهراً کار و عملکرد آنها در یک لحظه ی خاص بوده و دیگر تا آخر عمر عملکردی را برای سلول نخواهند داشت.

علاوه بر توالی های منحصر بفرد، توالی های غیر انحصاری به عنوان توالی های تکراری وجود دارند. توالی های تکراری را حتی در برخی موارد می توان از خود ژن ها مهم تر دانست که به عنوان مارکرهای ژنتیکی مورد استفاده قرار می گیرند. به عنوان مثال در سلول های سرطانی تعداد مارکرهای سرطانی بسیار زیاد است که این مارکر ممکن است یک پروتئین یا اسید نوکلئیک باشد که مقدار آن در سلول افزایش می یابد و یا این که اصلاً در سلول وجود نداشته و ناگهان تولید شده و افزایش می یابد.

در حالت عادی کروموزوم های ما ماهیت وجودی خودشان را دارند اما اگر بخشی از کروموزوم ها بشکند و قسمت های شکسته شده به هم متصل شوند کروموزومی نو ترکیب حاصل می شود. در حالت عادی اگر از ما کاریوتیب تهیه شود نباید کروموزوم نو ترکیب دیده شود. کروموزوم های نو ترکیب ممکن است تغییراتی چون تغییر رفتار و ظاهر فرد داشته باشد.

این کروموزوم های نو ترکیب نیز می توانند از مارکرها باشند که در سلول نبوده، اما در بیماری به وجود می آیند

بخش های تکراری ژنوم ما مارکرهای خوبی برای بیماری های مختلف از جمله سرطان هستند که طول آنها نیز می تواند افزایش بیابد و گاهی کاهش آنها، نشانه ای بر بیماری خواهد بود.

یکی از بخش های تکراری در ساختمان ژنوم در ابتدا و انتهای کروموزوم ها (terminal) است. تلومر، انتهایی ترین قسمت ۲ پایانه ی هر کروموزوم خطی را تشکیل می دهد و در مواقعی که سرطان اتفاق می افتد طول

این قسمت ها کاهش می یابد که گویی کروموزوم ها از پایانه خرد می شوند. این خرد شدن تلومرها هم باعث از بین رفتن ژن های زیر آنها می گردد و هم موقعیتی مناسب برای اتصال کروموزوم ها از این بخش های تلومری شکسته شده را فراهم میکند و کروموزوم های نو ترکیب را ایجاد میکند (البته شرایط سرطان های مختلف با هم متفاوت است). (بسیاری از بیماری ها پیدا شده که کوتاه شدن تلومر ها مرتبط با ان ها است) یکی از ساختارهای مهم دیگر که در ساختار ژنوم هستند، تلومرها هستند.

همانطور که گفته شد سرطان ها با یکدیگر متفاوت و حتی شرایط سلول ها در یک توده ی سرطانی متغایر خواهد بود، به عنوان مثال اگر یک توده سرطانی از سرطان پستان را برداریم و کاریوتیپ تک تک سلول ها را به دست آوریم، ممکن است یک سلول ۷۸ کروموزوم، یک سلول ۴۵ کروموزوم و حتی ممکن است در یک سلول کروموزوم نو ترکیب دیده شود اما در دیگری نه!!

(شاخصه ی برخی از سرطان ها داشتن یک کروموزم کوچک در سلول است)

تلومرها ۲ پایانه هر کروموزوم خطی هستند که توانایی خاصی دارند و در انسان {CTAGGG} است، این ۶ نوکلئوتید میلیون ها بار تکرار میشوند.

توالی هایی داریم (توالی های نوکلئوتیدی که از ادنین-گوانین-سیتوزین و تیروزین) که از ۲ تا ۷ باز و در مواردی ممکن است تا ۸ باز نیز باشند، این توالی ها پشت سر هم تکرار میشوند مانند توالی تلومری که از ۶ باز تشکیل شده و میلیون ها بار تکرار میشوند (این تکرارها در موجودات مختلف متفاوت است) (در تیپ سلول های مختلف نیز ممکن است متفاوت باشد)

علاوه بر این توالی ها، توالی های دیگری نیز داریم که تعداد بازهای تکرار شونده خیلی بیشتر از ۶ یا ۷ باز بوده و ممکن است تا ۵۰ باز تکرار شوند.

Large repetitive DNA ها که توالی های بسیار بزرگی هستند که تکرار آنها به صورت پیوسته نیست، بلکه تکرار آنها به صورت پراکنده در بین ژن ها است. همین توالی را ما در کروموزوم ۱، ۷، ۱۲ و ممکن

است در کروموزوم ۲۲ نیز داشته باشیم. در هر یک نیز جایگاه مختص به خود را دارند، گاهی در بازوی بلند کروموزوم و گاهی در بازوی کوتاه آن

این توالیهای تکراری هیچ ماده ای را تولید نمی کنند (هیچ چیزی را کد نمیکنند). این توالی ها unique و برای هر فرد منحصر بفرد میباشند و وجود آنها در ژنوم انسان مانند finger print کارآمد میباشند. در انتقال توالی های تکراری از والدین به فرزندان خیلی به ندرت اتفاق می افتد که توالی های تکراری دچار تغییر شوند (به عنوان مثال کوتاه شوند)

از توالی های تکراری برای اثبات پدر بودن یک فرد و تشخیص پدر یک بچه به کار می رود، به گونه ای که از بچه، مادر و پدر نمونه خون گرفته شده، DNA هر ۳ به صورت کامل استخراج میگردد و بر اساس تطابق توالی های تکراری (در پزشکی قانونی حداقل از ۱۵ توالی تکراری استفاده میگردد) احتمال پدر بودن فرد مورد نظر بررسی میگردد، حال با توجه به این که هر بچه باید یکی از آلل ها را از پدر و دیگری را از مادر گرفته باشد میتوان اثبات کرد که این فرد پدر این بچه هست یا خیر.

رادمان finished

Posterity یعنی تعیین هویت پدر و فرزند! مثلاً مادری به دنبال به دنیا آوردن فرزندی نا خواسته به پلیس شکایت می کند و ادعا می کند که فلانی پدر فرزندش است. اما متهم این موضوع را انکار می کند. در اینگونه موارد پزشکی قانونی وارد آزمایش های مختلفی برای بررسی این امر می شود. مثلاً ساده ترین و دم دستی ترین روش، آزمایش خون است. فرض کنید مادر گروه خونی A+ و پدر نیز A+ است، اما فرزند می شود AB+. مسلماً این فرد پدر این فرزند نیست، اما در خیلی از اوقات آزمایش خون جواب نمیده و می رن سراغ آزمایش DNA. در آزمایش DNA ژن ها و آلل های بسیاری را بررسی می کنند. اینقدر بررسی می کنند تا به یک تناقض بخورند. یعنی مثلاً مادر در مورد یک ژن هموزیگوس مغلوب و پدر نیز هموزیگوس مغلوب است، ولی فرزند هتروزیگوس است. اینجوری متهم رفع اتهام می شود. همونطور که گفتیم این آزمایش در مورد ژن های مختلف صورت می گیرد تا این که به احتمال ۹۹٪ بگوییم فرد متهم پدرش است. البته ... در

مورد مادری که نا بارور است و از تخمک زن دیگری برای باروری استفاده کرده است، این داستان ها متفاوت است.

سانترومر چیست؟؟ همانطور که به یاد داریم قسمتی از کروموزوم است که رشته های دوک به آن متصل می شوند و موجب جدا شدن دو کروماتید خواهری از هم می شوند. سانترومر دارای توالی های تکراری پشت سر هم است که پروتئین های مخصوصی توانایی اتصال به آن را دارند و رشته های دوک نیز، در اصل به این پروتئین ها متصل می شود. این توالی های تکراری به α -satellite (آلفا ساتلایت) ها معروف اند که حدوداً ۱۷۱ جفت باز طول دارند و در همه ی سانترومر ها حضور دارند. این قسمت از DNA اصولاً دارای ژن کد کننده نیست و تنها ۲ یا ۳ ژن در این ناحیه کشف شده است. اما جهش در این ناحیه ها بسیار اهمیت دارد. چون ایجاد جهش ممکن است باعث شود پروتئین ها به آن ها نتوانند متصل شوند و در پب آن دوک نتواند متصل شود، در این حالت به اصطلاح *wondering chromosome* ایجاد می شود که توانایی جداسازی ندارد.

در بعضی ساول های سرطانی چندین قطب سلول به جای ۲ قطب وجود دارد که موجب می شود کروموزوم ها تکه تکه شوند و دچار انواع مشکلات کروموزومی و جهشی شوند. (یکی از ویژگی های بارز این سلول ها، کروموزوم های نا متعارف است)

از طرفی اگر در یک سلول عادی هم، کروماتید های کروموزوم ها جدا نشوند، یک کروموزوم به طور کامل وارد یک سلول می شود و سلول ها از لحاظ کروموزومی دچار مشکل می شوند.

به بعضی از کروموزوم ها *satellite chromosome* می گوئیم که شامل کروموزوم های ۱، ۴، ۵، ۱۴، ۱۵، ۱۸ و ۲۲ می شوند. این ۵ نوع، کروموزوم های آگروسنتریک (واضح نیست!!!) هستند. اینها بازوی کوتاه بسیار کوچکی با تعداد ژن بسیار کم دارند و ژن های کد کننده rRNA در این ناحیه نزدیک به تلومر این ۵ کروموزوم تجمع کرده اند.

*** تولید rRNA فقط توسط این ۵ نوع کروموزوم است.

وقتی می‌گوییم هستک در حین تقسیم نا پدید می‌شود، در واقع فقط نا پدید شدن و کمرنگ شدن بخش sub-telomeric این ۵ کروموزوم مدنظر است نه کل کروموزوم.

هستک عبارت است از تجمع ژن‌های تولیدکننده rRNA از ۵ نوع کروموزوم مختلف در یک نقطه. کمپلکس rRNA- پروتئین تشکیل‌دهنده ریبوزوم‌ها نیز، پس از تشکیل شدن پروتئین‌ها در سیتوپلاسم، در ناحیه هستک ساخته می‌شود و بعد دوباره وارد سیتوپلاسم می‌شود.

آرمین finished

همونطور که عزیزان ملاحظه کردن، استاد مربوطه بسیار بد درس داده اند، لطفاً برای جا افتادن بهتر مطالب این جلسه، حتماً جزوه‌ی متابولیسم RNA بیوشیمی هم خوانده شود. با تشکر

ای بی تو زمانه سرد و سنگین در من!

ای حسرت روزهای شیرین در من!

بی مهری انسان معاصر در توست

تنهایی انسان نخستین در من!

گروه ۲۴: آرمین احمدی، بنیامین فراهانی، علی محمدیان، رادمان مظلوم نژاد

سیکل سلولی پدیده ای است که در گرو **transcription** است، یعنی تقسیم سلولی اتفاق نمی افتد مگر این که هورمون های رشد بتوانند توسط رسپتور های سطح سلول به درستی دریافت شده و علائمی را به داخل سلول بفرستند. بعد از متصل شدن هورمون های رشد به گیرنده یک سری تغییرات فسفریلاسیون و دفسفریلاسیون در بخش هایی از پروتئین های داخل سلول از سطح سیتوپلاسمی غشا سلولی تا غشای هسته و بعد داخل هسته به وجود می آید تا گروهی از ژن ها (ژن های درگیر در تقسیم سلولی) فعال شوند. وقتی که ژن ها در اثر این علائم فعال شوند محصولاتی را تولید میکند که این محصولات گاه مستقیم و گاه غیر مستقیم در سیکل دخالت دارد مثلاً بعضی از آن ها **transcription factor** تولید میکنند که مستقیماً روی ژن های مربوط به خودش مینشینند مثل ژن کد کننده توپوایزومراز، ژن کد کننده DNA پلیمرراز، هلیکاز و هیستون و هم چنین ژن های دیگر که در ارتباط با تقسیم سلولی است بنابراین وقتی که تقسیم سلولی میخواید اتفاق بیفتد در درجه اول حجم سلول باید اضافه شود اضافه شدن حجم سلول به این معنا که لوازم و ابزارهای ملکولی و ساختارهایی که برای تقسیم لازم است را تولید کند.

Replication و transcription مراحل جدانپذیری هستند به خصوص replication که صددرصد در گرو فعالیت های transcription است.

در سلول مرحله ای وجود دارد به نام $G_1(gap1)$ که در حقیقت فرصتی است برای سلول که بتواند خودش را بزرگ کند اگر سلولی که در مرحله G_1 است را زیر میکروسکوپ ببینید متوجه میشوید که کاملاً مشخص است از سلول هایی که مرحله S را تمام کرده اند و آنهایی که S را تمام میکنند از لحاظ اندازه کاملاً مشخص تر است از G_1 ها و G_2 ها چون در S حجم DNA هم دوبرابر شده و همه این ها متفاوتند از سلول هایی که در فاز M قرار گرفتند و تقسیم سلولی و سیتوکینز هم انجام دادند، پس در مرحله G_1 دارایی های سلول که در تقسیم استفاده میشود افزایش میابد، بیشترین حجم تولید پروتئین در سلول را در این زمان مشاهده میکنیم بعد سلول آماده تقسیم ژنوم میشود (replication).

تقسیم ژنوم نیمه حفاظتی (semi conservative) است یعنی هر ملکول دو رشته DNA (double helix) باید در هنگام همانندسازی از هم جدا شوند این دو رشته وضعیت کروماتیدی دارد و با هیستون ها و غیر هیستون ها مرتبط است، پس در جاهای خاصی این double helix باید از وجود این پروتئین ها آزاد شود به این مناطق origin of replication گفته میشود یعنی مکان های شروع همانندسازی حالا که هر دو رشته از هم فاصله گرفتند هر کدام مکمل خودش را میسازد که با خودش تشکیل double helix میدهد، یکی از این رشته ها والدینی و دیگری جدید است.

اثبات نیمه حفاظتی بودن همانندسازی DNA

همانطور که میدانیم باز های آلی موجود در نوکلئوتید (G, C, T, A) ساختارهای حلقوی ازت دار هستند.

✓ اگر یک سلول خاص را برای چندین نسل در محیط دارای ازت سنگین قرار دهیم مطمئن خواهیم شد که در همانندسازی سلول ها، برای ساخت نوکلئوتیدها از ازت سنگین استفاده شده است (تمام ژنوم واجد اتم سنگین است)

✓ در مرحله بعدی سلول های نشاندار شده توسط ازت سنگین را در محیط کشت دارای ازت سبک قرار می دهیم تا یک نسل همانندسازی کند، DNA سلول های حاصل دارای یک رشته با نیتروژن سنگین و یک رشته با نیتروژن سبک هستند.

مزلسون و استال آزمایشی را انجام دادند تا نیمه حفاظتی بودن همانندسازی را اثبات کنند:

- مزلسون و استال با سانتیفریکشن DNA سلول های کشت شده در محیط دارای ازت معمولی یک بند در بالای لوله آزمایش مشاهده کردند که نشان دهنده این بود که مولکول های DNA دارای ازت سبک هستند.
 - در سانتیفریوژ DNA سلول های کشت شده در محیط دارای ازت سنگین یک باند نزدیک انتهای لوله آزمایش مشاهده کردند توجیهی که کردند این بود که تمامی مولکول صد درصد از ازت سنگین پوشیده شده بود و یکنواخت (هموزن) بود.
 - در تجربه بعد DNA سلول های نشانداری که یک نسل در محیط دارای ازت سبک کشت داده شده بود را سانتیفریوژ کردند و مشاهده کردند یک بند در میانه لوله آزمایش تشکیل شد پس نوکلئوتیدهای یک رشته دارای ازت سبک و دیگری دارای ازت سنگین است.
 - با سانتیفریوژ سلول های نشانداری که چندین نسل در محیط دارای ازت معمولی کشت داده شده بودند دو بند یکی در بالا و دیگری در میانه لوله آزمایش مشاهده گردید، بنابراین بعضی از DNA ها دارای یک رشته با ازت سبک و یک رشته با ازت سنگین و بعضی فقط دارای ازت سبک بود.
- به این ترتیب با مقایسه بندها سبک، سنگین و میانه به این نتیجه رسیدند که مولکول DNA در هر بار تقسیم یک رشته ای را که میسازد کاملاً از نوکلئوتید های جدیدی که در محیط هست میسازد و هیچ خرد شدگی ای برای مولکول parental اتفاق نمی افتد.

این قضیه با استفاده از باکتری ها و سلول های یوکاریوتی (مخمرها) باز هم تکرار شد و تجارب اثبات کرد همانندسازی نیمه حفاظتی است.

سرعت همانندسازی

سرعت همانندسازی را در کل ژنوم در نظر میگیرند

*در انسان در هر دقیقه ۳۰۰۰ نوکلئوتید همانندسازی میشود

*در E Coli در هر دقیقه ۳۰۰۰۰ نوکلئوتید همانندسازی میشود

علت بالاتر بودن سرعت همانندسازی در باکتری نسبت به انسان چیست؟

۱. باکتری غشای هسته ندارد، غشای هسته واسط سیگنال های سیتوپلاسمی و هسته است، پس در باکتری سیگنال ها با سرعت بیشتری از بیرون سلول دریافت میشوند و به ژنوم میرسند

۲. ساده تر بودن سیستم های تعمیر(دقت سیستم ویرایش نوکلئوتیدها در باکتری کم تر است) DNA پلیمراز در یوکاریوت ها خودش ویرایش را انجام می دهد ولی در پروکاریوت ها چون DNA پلیمراز به عقب بر نمی گردد تا نوکلئوتید اشتباه را بردارد و ویرایش کند ، همین مسئله نیز عاملی برای افزایش سرعت همانند سازی در پروکاریوت هاست .در حالی که در سلول های یوکاریوتی DNA پلیمراز تعداد اشتباهات نوکلئوتیدی را از یک ده هزارم به یک میلیونیم می رساند در نتیجه سرعت همانند سازی را کاهش می دهد. احتمال جهش های کروموزومی 10^{-5} یا 10^{-6} در پروکاریوت هاست ولی در یوکاریوت ها و به خصوص سلول های انسانی 10^{-11} تا 10^{-10} است

۳. باکتری ساختمان کروماتینی یوکاریوت را ندارد البته باکتری هم پروتئین های متصل به DNA دارد اما ساختمان آنها مثل هیستون نیست و پیچیدگی ژنوم پروکاریوتی کمتر است

۴. نبودن ساختار اینترونی در باکتری!!!

۵. کوتاه تر یا کوچکتر بودن ژنوم باکتری

مولکول های DNA حلقوی در باکتری هایی مثل E.coli به شدت وضعیت سوپرکویل پیدا می کنند.

تفاوت مکانیسم همانندسازی در سلول های ما با پروکاریوت ها

یکی از فواید داشتن این تفاوت ها: در بیماری های گوارشی ، بیماری های دستگاه تناسلی ، بیماری های باکتریایی دانستن تفاوت های همانندسازی کمک می کند که از رشد باکتری های مضر پیشگیری کنیم و به تکثیر باکتری های مفید کمک کنیم که این ها در درمان بسیاری بیماری ها و تولید محصولات پروبیوتیک موثر است .

در باکتری فقط یک مولکول DNA حلقوی دو زنجیره وجود دارد و یک، original of replication site و terminal of replication site دارد

در ژنوم انسان در پکیج هیستون و کروموزوم: در هر کروموزوم تعدادی original of replication site داریم که بعضی ها به صورت همزمان و بعضی ها با فاصله زمانی مختلف از هم فعال می شود و در نهایت به هم می رسند .

در کروموزوم های خطی چیزی که باعث پایان همانندسازی می شود رسیدن double ها به دو پایانه آزاد و رها و مسدود نشده کروموزوم خطی است . اگر ما یک terminal of replication site در باکتری داریم به این خاطر است که به محض این که در آخرین مراحل double ها از دو طرف به هم می رسند replication ختم می شود .

ملزومات همانند سازی در پروکاریوت ها و یوکاریوت ها شبیه هم است تنها تفاوت هایی که دارند بر اساس نوع پلیمرز و توپوایزومراز هاست که بستگی به تعداد توالی ژن ها و original of replication site دارد.

در یک کروموزوم حلقوی اگر یک فعالیت همانند سازی شروع شده (توسط آزمایشاتی با استفاده از مواد رادیو اکتیو و یا مواد جیوه ثابت شده که در هر double به صورت دو جهت همانند سازی رخ می دهد) زمانی که دو رشته از هم دور می شوند که به اینها fork همانند سازی می گویند!!!! در پشت سر این دو رشته پیچ خوردگی ها به صورت فشرده تر و متراکم تر می شوند و اگر به همین شکل ادامه پیدا کند ما در پشت قسمتی که در حال همانندسازی است یک سوپرکویل عجیب خواهیم داشت . که خود این یک سد بزرگ برای تکثیر ژنوم است . پس توپوایزومراز ها وارد عمل می شوند و یک رشته یا دو رشته را قطع می کنند (قطع پیوند بین قند و فسفات) سپس این رشته قطع شده در خلاف جهت اولیه به دور رشته مقابل میپیچد تا تعداد این پیچ خوردگی ها کمتر شود یا توپوایزومرازی وارد می شود که در دو رشته قطع ایجاد می کند و بعد از قطع هر دو رشته در خلاف جهت اولیه (مثلاً به سمت سوپرکویل مثبت) می پیچند و تعداد پیچ خوردگی ها کمتر می شود که همانند سازی بتواند ادامه پیدا کند .

سوال : چرا همانند سازی به صورت یک طرفه نیست ؟ اگر به صورت یک طرفه بود در نهایت سلول دو حلقه به هم وصل شده داشت که باید با صرف انرژی خیلی زیادی این دو حلقه را از هم جدا می کرد ولی حالا که به صورت دو طرفه انجام می شود در نهایت دو حلقه جدا از هم تشکیل می شود که نیازی به صرف انرژی نباشد

در مورد تعداد حلقه های تشکیل شده اگر محیط کشت مناسب باشد (دما و مواد غذایی) حلقه های متعدد دیده می شود که چنین وضعیتی را برای ژنوم میتوکندری در سلول های یوکاریوتی داریم که یک ژنوم حلقوی دو رشته است که تقریباً به همین روش میتوان مکانیسم همانندسازی اش دید.

original of replication site چیست؟ هر ساختاری که ما در مولکول DNA داریم در واقع توالی نوکلئوتیدی خاصی است پس باید توالی های خاص نوکلئوتیدی وجود داشته باشد که هلیکاز بتواند به آن متصل شود .

برای پروکاریوت ها توالی ای را پیدا کرده اند که در ترکیب خاصی از نوکلئوتیدهاست CAAN که N میتواند هریک از چهار نوکلئوتید باشد. 9 توالی تکراری از این توالی با فاصله در یک منطقه خاص وجود دارد. همینطور یک توالی دیگر با این ترتیب GATTNTTNTTT با سه بار تکرار متوالی با فاصله **دیری** از این وجود دارد.

توالی های نوکلئوتیدی هر ناحیه می تواند مشخص کند آن ناحیه با کدام پروتئین یا RNA یا DNA می تواند اتصال بدهد. مثلا در بخش های تنظیمی RNA های کوچکی یافت شده اند که تنظیم بیان ژن را به عهده دارند یعنی این RNA ها توالی های خاصی دارند که این توالی ها مکمل توالی های خاصی از پروموتور یک ژن هستند و با آن اتصال می دهند که یا باعث افزایش بیان ژن می شوند یا حذف بیان ژن.

اینجا هم توالی های خاصی این ناحیه و این ناحیه (اشاره به ناحیه های نامعلومی در اسلایدهای دست نیافتنی!!!!!!) نهایتا با حضور پروتئین های شروع همانندسازی یک وضعیت خاصی از ژنوم را ایجاد می کنند مثل قله هایی؟ که ما در کروماتین یوکاریوتیک در نظر داشتیم و دسترسی آنزیم همانندسازی (DNA پلیمراز) را کمک می کنند و آسانتر می کنند.

Replication های متعدد در طول کروموزوم که کاملا هم قابلیت مشاهده دارد وجود دارد.

تصاویری که در ارتباط با replication داریم، هم در یوکاریوت و هم در پروکاریوت به نظر می رسد که DNA پلیمراز که در حال ساختن یکی از رشته ها به طور مستمر و ممتد به طرف فورک همانند سازی است که در اثر فعالیت آنزیمی به نام هلیکاز؟ (توویس لیگاز شنیده میشه)!!! پیوندهای هیدروژنی جفت بازها در حال باز شدن است. به نظر می رسد آنزیمی که برای رشته ای که به صورت ممتد ساخته میشود با آنزیمی که رشته مقابل را سنتز می کند تفاوت هایی دارد و همین تفاوت ها باعث می شود که در یک رشته یک DNA پلیمراز بتواند تا پایان یک Double دوام بیاورد و بدون تغییر نوکلئوتیدهای جدید را به همین صورت در ادامه یک رشته تازه سنتز شده قرار بدهد و تا انتهای replication برسد. رشته مقابل به صورت قطعه قطعه در حال ساخت است که علت قطعه قطعه ساختن را بیشتر به توانایی تعمیر DNA پلیمراز نسبت می دهند.

محقق می توانست تصور کند وقتی فورک از هم باز می شود DNA پلیمراز وارد عمل شده و مستمر سنتزش را انجام می دهد و رشته مقابل به صورت تک رشته با کمک پروتئین هایی که آن را از خرد شدن حفظ می کنند و بعد از زمان کوتاهی که طولش به اندازه مناسب رسید DNA پلیمراز دیگری بیاید و ادامه سنتز را انجام دهد. ایرادی که به این می گیرند و اظهار می کنند که به این شکل اتفاق نمی افتد و سلول صبر نمی کند تا DNA پلیمراز از ناحیه فورک قطعه های اکازاکی را سنتز کند، توانایی تعمیر این تک رشته و این قطعه هایی است که در حال سنتز آنهاست. پس چیزی که اتفاق می افتد و هنوز بخشی از آن برای محققین اثبات نشده که با توجه به این که همه آنزیم های پلیمرازی ما که اصلی هستند DNA پلیمراز در پروکاریوت و یا RNA پلیمراز و یا DNA پلیمراز آلفا یا DNA پلیمراز سیگما

..هر کدام از این DNA پلیمراز های اصلی باید کار سنتز رشته جدید را انجام بدهند و بعد یک پلیمراز دومی بیاید و تعمیر نوکلئوتید های به اشتباه کار گذاشته شده در رشته جدید را به عهده بگیرد .

همانندسازی از نقاط خاصی شروع می شود , نیمه حفاظتی است (semi conservative) , دو جهت است. باز شدن دو رشته از هم با آنزیم هلیکاز صورت می گیرد و با مصرف انرژی ATP , توپوایزومرازها فشارهای پشت چنگال همانندسازی را آزاد می کنند , DNA پلیمراز وقتی سنتز را شروع می کند نوعش از لحاظ ساختاری در دو رشته متفاوت است . یکی توانایی این را دارد که یک رشته را به صورت مستمر سنتز کند در رشته ای که به طور مستمر ساخته می شود فقط یک پرایمر ایجاد می شود یعنی قطعه کوچک 10 نوکلئوتیدی که به وسیله یک آنزیم دیگری به نام پرایمیز در اینجا تعبیه می شود, بارفتن پرایمیز مسئولیت ادامه سنتز با DNA پلیمراز خواهد بود

چرا بین پرایمیز و DNA پلیمراز جابه جایی و تغییر شیفت کاری اتفاق میفتد؟ چون DNA پلیمراز توانایی این را ندارد که در ابتدا به یک تک رشته از DNA بچسبد و نیاز دارد که دو رشته را به صورت همزمان بگیرد, پس باید یک آنزیم دیگری که قابلیت گرفتن یک تک رشته را دارد, یک قطعه ی کوچک در اینجا بسازد تا یک ۲ رشته ای حاصل شود, سپس DNA پلیمراز این ۲ رشته را می گیرد و به همانند سازی را ادامه میدهد. اما در رشته هایی که در رشته ی مقابل (Lagging Strand) DNA به صورت قطعه قطعه ی اکازاکشی پراگمنت ساخته می شود. برای هر اکازاکی یک پرایمر نیاز است.

پس یک پرایماز (primase) پرایمر اول را میسازد و پلی مراز سنتز را ادامه میدهد، جدا میشود و داخل ماتریکس هسته (در پروکاریوت ها، داخل سیتوپلاسم) میفتد. اکازاکی دوم را دومین پرایمیز میسازد و به همین ترتیب...

قطعات جدید ساخته شده، نزدیکتر به ناحیه ی fork همانند سازی هستند (زیرا از این قسمت هست که دو رشته در حال جدا شدن هستند و تک رشته های نیازمند به سنتز آماده هستند که به وسیله پلی مراز بهره برداری شوند).

پلی مراز میچسبد به رشته ی lagging، اکازاکی پراگمنت را سنتز می کند و جدا میشود. سپس DNA پلی مراز دوم به lagging متصل شده و اکازاکی بعدی رو میسازد.

پلی مراز های ۲ رشته به وسیله ی پروتئین های CAMP مانند کلیپس (!) به همدیگر متصل هستند و همزمان حرکت میکنند. پلی مزاری که lagging را میسازد، مرتب از رشته ی lagging (اکازاکی پراگمنت هایی که ساخته است) جدا میشود. در حالی که رشته ی leading به پلی مرازش همواره متصل است و جدا نمیشود.

در همه ی این احوالات پلی مراز lagging و پلی مراز leading متصل به هم باقی می ماند و خود پلی مراز leading در پشت سرش همیشه پروتئینی وجود دارد که آن را از لغزش و به عقب برگشتن حفظ میکند. یعنی مانع بازگشت پلی مراز به عقب و همانندسازی مجدد قطعه ای که قبلا همانند سازی کرده است، می شود. در بعضی بیماری های انسانی تکرار ها ی ۳ نوکلئوتیدی اتفاق افتاده است. با تکرارهای ناحیه ی خاصی از ژنوم، بیماری حاصل می شود. و این به دلیل سر خوردن DNA پلی مراز و بازگشت به عقب و چند بار سنتز کردن یک ناحیه است.

هیستون ها

هیچ استاندارد و تضمینی وجود ندارد که هیستون های قدیمی که از DNA جدا شدن، متصل به رشته های قدیمی قرار بگیرند یا هیستون هایی که تازه ساخته شده اند با DNA جدید اتصال برقرار کنند. اما به نظر میرسد که تا زمانی که هیستون ها قدیمی فراوان تر باشند، درگیری بیشتری با مولکول DNA دارند.

DNA پلی مراز ها

تا کنون چیزی در ۱۵ DNA پلی مراز مختلف در سلول های انسانی شناخته شده است. بعضی از این ها علاوه بر فعالیتی که در سنتز DNA دارند، در سیستم ها ی repair مختلف نقش دارند، به عنوان مثال DNA پلی مراز α فقط در DNA replication نقش دارد. در حالی که DNA پلی مراز σ ، علاوه بر DNA replication در دو سیستم تعمیر مختلف نیز ایفای نقش می کند.

Check points

یک سری ژن هایی هستند که در سیکل سلولی قبل از اینکه G_1 به پایان برسد، خسارت های احتمالی DNA را بررسی می کنند. که عایا DNA کاملاً سالم است؟ جهش در آن اتفاق نیفتاده است؟ قطع شدگی در جایی از DNA وجود ندارد؟ که در صورت وجود خسارت اصلاح میشوند. در واقع سیکل سلولی پیش نمی رود تا زمانی که تعمیرات انجام شوند. این ژن ها را به عنوان ژن های ممانعت کننده از سرطان میشناسیم. پس قبل از اینکه G_1 به پایان برسد خود سلول خسارت ها را بررسی می کند، شعور دارد (😊). یا در همان مرحله قبل از آنکه سنتز صورت بگیرد (قبل از اینکه replication اتفاق بیفتد)، یا تعمیر صورت میگیرد (که تعمیرش توسط DNA پلی مرز های مختلف انجام می شود). و بعد سلول اجازه پیدا می کند که وارد S از مرحله ی Inter phase شود یعنی سنتز و همانند سازی را شروع کند، یا تعداد خسارت ها آنقدر زیاد است که سیستم های check point سلولی که همان ژن ها هستند، قابلیت و توان مندی برطرف کردن این خسارت ها را ندارند و نمی توانند جهش ها را اصلاح کنند و قطع شدگی ها و شکستگی های تک رشته ای یا ۲ رشته ای DNA را تعمیر کنند. یا به دلیل حجم بالای خسارت ها، یا به دلیل ناقص بودن و ناتوانی ژن هایی که مسئول این Check point ها هستند (مثلاً خود این ژن ها جهش پیدا کرده اند). در این صورت سلول وارد مرحله ی بعدی سیکل سلولی نمی شود و همانند سازی اتفاق نمی افتد و مرگ سلولی (آپوپتوز) رخ می دهد.

حال اگر این خسارت ها تعمیر نشوند و سیکل سلولی نیز ادامه پیدا کند، مرحله ی S به پایان رسیده و سلول وارد G_2 می شود. در حقیقت یک زمان بیشتری است که در اختیار سلول گذاشته می شود که اگر خسارت ها و آسیب ها تعمیر نشدند، در G_2 فرصت برای تعمیر وجود داشته باشد. اگر در G_2 هم تعمیر صورت نگیرد و سیکل سلولی ادامه یابد و سلول وارد آپوپتوز هم نشود، یک check point دیگری نیز در آنافاز وجود دارد.

پس یک check point قبل از G_1 ، یکی در انتهای G_2 (قبل از اینکه M phase شروع شود). و یکی هم در آنافاز.

اگر سلول آسیب بدون تعمیر از check point ها عبور کند و سلول با جهش و خسارت باقی بماند، می توند این آسیب ها و نقص ها را به نسل های بعد منتقل کند. ایجاست که سلول های سرطانی به وجود می آیند یا سلول هایی که در مراحل developmental جنینی (مراحل ارگانوژنز جنین) هستند، ارگان های ناقص تولید میکنند یا اصلاً ارگان نمی تواند به طور کامل develop داشته باشد.

تلومر

در انسان ۲ پایانه ی هر کروموزوم دارای توالی تکراری است که از ۶ نوکلئوتید TTAGGG ساخته شده است، به این توالی که همینطور تکرار میشود، توالی تلومری میگوییم. در حال حاضر اعتبارات زیادی برای شناسایی ارتباط یک سری از بیماری ها مثل بیماری های قلبی_عروقی، ناباروری ها، سرطان ها، عقب ماندگی ذهنی و... با نواحی تلومری اختصاص داده اند.

گفته می شود که طول مناسبی از تلومر کمک کننده به همانند سازی رشته ی Laging است. (می دانید که رشته- ی lagging به صورت اکازاکی ساخته می شود.) وقتی همانند سازی به انتهای کروموزوم می رسد DNA پلی مرز رشته ی Leading به آخرین نوکلئوتید که رسید جدا می شود و همانند سازی اش کامل است اما در رشته ی lagging وقتی سنتز از ۵' به ۳' انجام می شود، باید طول مناسبی از تک رشته ی DNA وجود داشته باشد، تا اکازاکی پراگمنت ساخته شود. (مثلا حداقل ۱۰۰۰ یا ۲۰۰۰ نوکلئوتید) بستگی Cell type دارد.

چگونگی ساخته شدن اکازاکی پراگمنت

گفتیم که DNA پلی مرز رشته ی lagging قابیل اتصال به هر طولی از DNA و ساختن اکازاکی را ندارد بنابراین در انتها رشته که طول مناسبی برای همانند سازی وجود ندارد، سلول تصمیم میگیرد (!) که این تک رشته ی نامناسب برای سنتز اکازاکی را extend کند. این عمل توسط آنزیمی به نام تلومراز (Telomerase) که در سلول های یوکاریوت وجود دارد، انجام می شود.

Telomerase خاصیت reverse transcriptase ی دارد. یعنی میتواند از RNA، DNA بسازد. تلومراز یک کمپلکس پروتئین- RNA است. یک تک مولکول RNA در ارتباط با بخش پروتئینی تلومراز وجود دارد. قسمتی از توالی های این RNA با توالی تلومری DNA مکمل است. یعنی توالی TTAGGG در DNA مکمل توالی AATCCC در RNA است. تحقیقات نشان داد که آنزیم طوری مرتبط با تلومر قرار میگیرد که جفت باز بین بخشی از بازهای مکمل تلومر و RNA اتفاق بیفتد. سپس بخش پروتئینی این آنزیم با خاصیت reverse transcriptase ی خود از سایر نوکلئوتید های RNA خود به عنوان الگو استفاده می کند (در اینجا RNA الگو یا Pattern است.) و نوکلئوتید های آزادی که در داخل هسته هستند، در کنار نوکلئوتیدهای تلومر، مکمل با RNA قرار می گیرد. به این ترتیب تلومر از RNA خودش مولکول DNA می سازد.

بعد از پایان ساخت این توالی DNA، تلومراز همراه با RNA ی خود از DNA جدا شده و دوباره به قسمتی که RNA با DNA جفت باز ایجاد می کند، متصل می شود و باز هم از RNA اش DNA می سازد. چندین بار این اتفاق میفتد تا جایی که تلومر اولیه آنقدر بلند شود تا بتواند به اندازه ی آخرین اکازاکی ای که لازم است در اینجا ساخته شود، مورد استفاده ی DNA پلی مرز قرار بگیرد.

در بسیاری موارد دیده می شود که آن بخشی که اضافه می شود به ناحیه ی تلومری، بیش از آن مقداری است که لازم است. انتهای ناحیه ی تلومری باید بسته شود چون اگر به همین شکل باز بماند، آنزیم های درون هسته، شروع به خرد کردن DNA می کنند. خرد شدگی، جدا شدن و قطعه قطعه شدن بخش انتهایی آزاد کروموزوم ها، باعث می شود به تدریج این ناحیه کوتاه شود و به بخش های Sub telomery برسد. (یعنی توالی های زیر و نزدیک تلومر). بخش هایی که در آن ژن های بسیاری مرتبط با عقب ماندگی های ذهنی شناسایی شده است. و اگر ناحیه ی تلومری بیشتر

خرد شود، به بخش سانترومر نزدیک می شود و کروموزوم از هر دو طرف کوتاه و کوتاه تر می شود و امکان از دست رفتن ماده ژنتیکی است و امکان اینکه کروموزوم هایی که تلومرهای شکسته دارند حذف شود هم هست.

پس باید دو انتهای هر کروموزوم ساختار بسته شده داشته باشیم تا خردشدگی در آن اتفاق نیفتد. گفته میشود که انتهای دو رشته کروموزوم که بر روی خودش تا خوردگی پیدا میکند و آن تک رشته ای اضافی ای باقی مانده بود که میتواند مزاحمت برای ژنوم ایجاد کند می آید در یک جابه جایی زیرکانه جای رشته اصلی را میگرد و جفت باز با توالی پرنال ایجاد میکند و بعد این دو قسمت از هم جدا میشوند و این تک رشته اضافی که در انتهای تلومر بود با رشته پرنال یک basal تشکیل میدهد و کمپلکس های پروتیین در جا میشیند و مثل اینکه دو کروموزوم را قفل کرده باشند protection یا سیستم حفاظتی را ایجاد می کنند تا خرد شدگی برای کروموزوم اتفاق نیفتد.

شروع رونویسی

هر پروتیینی که در داخل سلول باشد یا در هسته باشد یا در غشای سلول باشد کارهای خاص خود را دارد مثلا پروتیین هایی که در سوراخ های هسته هستند در انتقال mRNA از هسته به داخل سیتوپلاسم نقش دارند. و پروتیین هایی که در سوراخ های غشا هسته هستند در انتقال subunit های ریبوزومی از سیتوپلاسم به داخل هسته نقش دارند.

پروتیین هایی که در میتوکندری و سایر اندامکها یا غشای سلول هستند و همه انزیم ها و پروتیین هایی که باید ترشح شوند این پروتیین ها همه ژن دارند که ژن ها انها را کد کرده اند. و یک سری ژن ها هستند که پروتیین تولید نمیکند و RNA تولید میکند که میتواند تنظیم بیان سایر ژن ها کمک کننده باشد.

سوال: هم زمان قرار گرفتن تعداد زیادی از ریبوزوم ها روی یک رشته RNA چه چیزی را نشان می دهد؟ چرا از یک RNA پروتیین های زیادی ولی از یک نوع ساخته میشود؟

RNA پروکاریوتی:

چند ژن با ساختار های اپرانی در ژن های پروکاریوتی هستند یعنی اینکه چند ژن که هریک کد کننده یک پروتیین متفاوت با عملکرد متفاوت است اما تمام این پروتیین ها در ارتباط با یک FUNCTION مشابهی در سلول است مثلا نفوذ پذیری یک سلول را در نظر بگیرید در این نفوذ پذیری غشا سلول باید تغییر پیدا کند پس باید یک آنزیمی به اسم پریماز (Primase) تکثیر پیدا شود تا نفوذ پذیری غشا را زیاد کند .

یک آنزیم دیگر می تواند باعث متابولیسم کردن یا کاتابولیسم ماده ای که وارد سلول میشود شود مثلاً β گالاکتوسیدازی که توسط ژن اول تولید شده میتواند لاکتوزی که وارد سلول باکتری به عنوان SOURCE انرژی میشود را بشکند و آنرا به قند سادتر خرد کند.

به این ترتیب ۳ تا ژن که پروتیین های مختلف تولید میکند ولی با عملکرد مشابهی در درون سلول هستند کنار هم توسط یک سیستم تنظیمی مشترک کد میشوند. که این سیستم تنظیمی برای چند ژن را در انسان نداریم بلکه در انسان ها هر ژن سیستم تنظیمی یا پروموتور مخصوص به خودش را دارند.

بعضی از قطعات ژن ها که بخشی از آنها RNA ریبوزومی تولید میکنند و بخشی توالی مرتبط با tRNA هم هست که یک RNA ATP تولید میکنند که بعداً این RNA ها مثلاً در یک سیستمی با آنزیم بریده و آنهایی که rRNA هستند میروند در subunit ها و آنهایی که tRNA هستند در سیتوپلاسم ساخته و در سنتز پروتیین شرکت میکنند و به طور عمومی هر ژن یوکاریوتی یک سیستم پروموتور خاص خودش را دارد.

اما اگر یک زمانی دیدیم که در یک RNA ریبوزوم های متعددی در سراسرش نشسته این نشان دهنده اینست که آن RNA محصولش در آن زمان خاص است.

و در آن زمان خاص سلول به محصول یک ژن نیاز فراوان داشته پس در سلول ریبوزوم فراوان مینشیند و همینطور حرکت میکند و پروتیین میسازد و پشت سرش ریبوزوم های جدید می نشیند.

ما مثل DNA پلیمراز ها ، RNA پلیمراز های متعددی داریم که هر کدام فعالیت های خاص خود را دارد مثلاً ما یک سری ژن ها را داریم که توسط RNA پلی مرز های مختلفی رونویسی میشود. مثلاً:

ژن های 28SrRNA, 18SrRNA, 5.8SrRNA ها ساختاری دارند که این RNA پلی مرز I میتواند رونویسی کند.

تمام mRNA هایی رو که داریم (snRNA) توسط RNA پلی مرز ۲ رونویسی میشود.

ژن های کد کننده 5SrRNA, tRNA و RNA های کوچکی که همراه با پروتیین هستند و آنرا با U نشان میدهم (U6snRNA) توسط RNA پلی مرز ۳ رونویسی میشود.

نقش RNA های کوچکی که همراه با پروتیین ها هستند در برش دادن و شناسایی اینترون ها بعد از عمل رونویسی توسط آنزیم RNA پلی مرز ۳ است.

اولین رونوشت ما از hnRNA است چون RNA ای است که بخش های اگزونی و هم اینترونی دارند یعنی هم توالی های اگزونی و هم توالی های اینترونی دارند.

SPLICING کمک میکند به مجموعه ای از پروتیین ها و RNAهایی که با U نشانشان دادیم که به بخش های مرزی هر اینترون و اگزون متصل شوند. که به این قسمت های مرزی SPLICE JUNCTION یا مرزهای بین اینترون اگزون یا اگزون اینترون میگویند که نقطه شروع و پایان اینترون را شناسایی میکند و کمک به قیچی کردن اینترون ها میکند .

همین توالی ها اگر جهش پیدا کنند این قیچی صورت نمیگیرد و میتواند اینترون ها باقی بمانند یا برعکس جهش در ناحیه اگزونی اتفاق بیفتد و این نقطه شناسایی نشود و یک اگزون اینترون باقی بماند یا جهش باعث شود که نقطه های DONOR یا ACCEPTOR و SPLICE SITE و این نام دهنده و گیرنده را به این خاطر به این نقاط دادند ه این دو منطقه بعداز حذف اینترون میتوانند بهم بچسبند.

فضای اشتراک الکترونی که بین نوکلوتید دهنده از اگزون قبلی و نوکلوتید گیرنده از اگزون بعدی اتفاق می افتد را DONAR ACCEPTOR بودن را رقم زده است.

ودر آخر اینترون ها جدا میشوند و mRNA حاصل میشود.

تغییرات دیگری هم در mRNA باید اتفاق بیفتد اینکه در قسمت ۵ هر mRNA یک نوکلوتید خاص به نام 7متیل گوانوزین (M7G) قرار میگیرد تا عملکرد اصلیش این باشد که این قسمت را از خردشدگی و خراب شدن نجات دهد و حفظش کند تا بتواند به سیتوپلاسم دسترسی پیدا کند. یک تعداد آدنین هم بعنوان دم آدنین با آدنین A در قسمت انتهایی با نظم و تنظم بسیار خاصی انتقال می افتد که ۲۰ تا ۲۰۰ آدنین حتی میتوانند به انتها اضافه شوند که این میتوانند یکی از نقش های اصلی در انتقال mRNA به سیتوپلاسم باشد.

جلسه ی ۴ ژنتیک : تنوع ژنتیکی انسان و پیامدهای آن

ژن یک ماده ی biochemical است ، (chemical نیست چون function دارد.) که از ساختار شیمیایی به نام اسید نوکلئیک تشکیل شده و با آن ها عملکرد سلولی را تحت کنترل دارد.

این ماده شیمیایی در بدن داخل سلول در هسته هست و نقش آن کنترل عملکرد سلول می باشد. (عملکرد سلولی مثل تقسیم سلولی ، ساخت پروتئین، همه ی عملکرد سلول تحت کنترل هورمون ها ، آنزیم ها و پروتئین هاست)

ژن از اسید نوکلئیک تشکیل شده و اسید نوکلئیک هم از باز آلی، قند ۵ کربنه ، گروه فسفات تشکیل شده. این اسیدهای نوکلئیک به صورت خطی هستند از یک جایی به جای دیگر. در هسته ی یک سلول ۶ میلیارد نوکلئوتید می باشد.

یک رشته اسید نوکلئیک ۳٫۱ میلیارد نوکلئوتید پشت سرهم چیدمان می شود و از یک جا شروع و در جای دیگر ختم می شود.

آیا همه ی 3.1 میلیارد ژن است؟ با توجه به تعریف زن که از جایی شروع و در جای دیگر ختم میشود شروع از پروموتور هست بعد 5' - UTR بعد اگزون بعد اینترون و همین طور تکرار می شود تا آخرش PolyAdenylation .

در این توالی کروموزوم ها ساختارهایی دارند که بر اساس آن می گوئیم ژن شروع شده بعد این ساختار تموم میشه بعدش نه این که نوکلئوتید نباشه می گوئیم ژن نیست بعد ژن های ۱، ۲، ۳، کروموزوم ها این طور نیست که یکی این جا افتاده باشد دیگری طرف دیگر بلکه در سلول ها پشت سر هم هستند و وقتی می کشیم، باز می شود 3.1 میلیارد چیدمان میشود . این چیدمان بسیار حساب شده است و خصوصیات ظاهری و روانی و رفتاری را تشکیل می دهد. این چیدمان ها حین تقسیم تغییر پیدا میکند و diversity در انتقال به بچه به همین دلیل است. تکه هایی از قسمت های مختلف می آید به هم می چسبند و ژنوم بچه را تشکیل می دهند. بیشترین تغییر زمانی اتفاق می افتد که سلول می خواهد duplicate شود تمام این رشته باید دونه به دونه چیدمان شود که مثل سلول قبلی ایجاد کند لذا بیشترین امکان تغییر در ژنوم حین duplication و replication می باشد و سلول سیستم های فوق پیشرفته دارد که این چیدمان را تحت کنترل دارد از جمله :

DNAPol ProofReading Activity که وقتی DNA پلیمرز می خواهد نوکلئوتید را به نوکلئوتید قبلی بچسباند برمی گردد قبلی را نگاه میکند اگر درست باشد بعدی را می چسباند و اگر اشتباه باشد اصلاح می کند. این در حالت نرمال است ولی ژنوم دچار تغییر در عامل اکسترنال (!) می شود یا ممکنه در این چیدمان اشکال ایجاد شود ، تالاسمی.

تغییرات ژنوم ، فهم و کنترل آن بسیار پیچیده است و محققان از ۲۰۰۰ تا ۲۰۱۰ فهمیده اند خبرهای بسیار پیچیده ای هست. مطالب امروزه به دنبال کنترل این ها هستند (Synthetic Life) پس از فهم این ها، این تغییرات می تواند کوچک در حد یک نوکلئوتید باشد (small scale) ← تالاسمی

یا کروموزوم تغییر کند (large scale) ← سندرم داون

ممکن است از یک کروموزوم کوچکتر باشد مثلاً نصفی از آن بشکند و به جای دیگر بچسبد و بیماری ایجاد کند ، در اکثر موارد این تغییرات بیماری زا نیست .

در ژنوم ما یک سری نوکلئوتید ها هست که با دیگران فرق دارد ←

Single Nucleotide Polymorphism (SNP)

پلی مورفیزم :

یک توالی نوکلئوتیدی در یک جامعه مثل گونه ی انسان بیش از ۱٪ وجود داشته باشد یعنی در این ۳ میلیارد یک قسمتش مثلاً ۱/۵ میلیارد A تبدیل به C شده ، این بیماری زا نیست. یک مقدار از تغییرات به صورت SNP است و این به طور طبیعی در بدن انسان وجود

دارد. ولی یک تغییرات دیگر وجود دارد، یک سری توالی به نام short tandem repeat مثلاً ATTTAAA، ۱۰۰ بار تکرار می شود، در یکی ۵۰ بار یا دیگری ۲۰۰ بار. این همین نوعی تغییر به صورت نرماله. بعضی اوقات خیلی بزرگه مثلاً ۱ میلیون basepair، این هم نوعی تغییر نرماله.

رفرانس ژنوم/انسان کدام/است؟ (تاریخ ادبیات اندر ژنتیک ☺)

بعد از سال ۲۰۰۴ ژنوم انسان به صورت Final مشخص شد. ۱ اکتبر ۲۰۰۰، draft ژنوم انسان تمام شد. سه ماه بعد، ۱۵ فوریه ۲۰۰۱ منتشر شد و کار ادامه پیدا کرد و تغییرات را پیدا می کردند. این کار sequencing (توالی یابی) ژنوم انسان سال ۲۰۰۴ تمام شد با بررسی ژنوم افراد در سراسر دنیا. در آن جا گفتند ۲۵۰۰۰ ژن داریم و لذا این اتفاق هم چنان ادامه پیدا کرد. سال ۲۰۰۰، draft بیرون آمد ولی باز دیدند خبرهای دیگر هست: پروژه ی دیگری search شد..

پس این تغییرات چه به صورت single چه به صورت STRP چه به صورت CNV (Copy Number Variation) که توالیش خیلی بزرگه در ژنوم وجود دارد. بعضی از تغییرات باعث میشه سلول فعالیت اضافه پیدا کند و در نتیجه بیان ژن اضافه شود و عملکردش تغییر پیدا کند ← Gain of Function یعنی یک عملکرد جدید به دست آورده به علت افزایش بیش از حد فعالیتش.

گاهی این تغییرات باعث میشد فعالیت سلول از بین برود ← Loss of Function

بعد این ها تقسیم بندی می شوند به خصوص در حوزه ی سرطان خیلی مد نظر قرار میگیرد.

ما در حوزه ی فنوتیپ دو تا الل داریم (۴ تا الل که ۲ تا باهم مشابه اند) یا recessive (مغلوب) یا dominant (غالب) یعنی اگر یک الل دچار تغییر بیماری را شود، اثر غالبی می گویند. اگر هر دو دچار تغییر بیماری را بشوند، مغلوب می گویند.

Loss of Function یعنی بیماری هایی که در اثر از دست دادن فعالیت ژن ایجاد می شود، معمولاً ۲ الل باید از بین برود مثل تالاسمی. بعضی بیماری ها به شکل غالب است یعنی یک الل از بین یرون، بیماری خودش را نشان می دهد، می گویند Dominant Effect دارد. گاهی در recessive یعنی تغییرات یک اللی (تناقض!!) انتظار بروز بیماری نداریم ولی آن الل دیگر نمی تواند کار خود را به خوبی انجام دهد، بیماری خود را نشان داده و dominant negative effect داریم یا insufficient haploid sufficiency یعنی نصفش کافی نیست.

اشکالی که ایجاد میکند آن است که آن اللی که مانده یا خودش کار نمی کند یا این که نمیگذارد آن مقدار پروتئینی که ایجاد شده هم کار بکند به خاطر همین می گویند Dominant Negative Effect یعنی هم Dominant است و recessive نیست و هم اثر negative است.

البته توجه شود با همه ی این پیچیدگی هایی که گفتیم ژنوم فقط در هسته نیست، در میتوکندری هم هست و از طرفی سلول ها با هم interaction دارند. (درس شیرین ژنتیک ترم ۴!!)

کروموزوم چندین بار fold میشه بعد یک نوار به نام H1 قرار میگیره، دورش چیدمان میشه، بچرخه و بتونه تو هسته جا بشه. اگر باز وبسته شدن اشکال پیدا کند و Chromatin Folding خراب شود، بیماری اتفاق می افتد و فنوتیپ بروز می کند. همین باز و بسته شدن که همین الان که اینجا نشسته و هورمون و آنزیم در بدن ما در حال ترشح است یعنی یک جایی باز می شود، دستور می آید که ژن آنزیم را بسازد پس این همین طور دارد باز وبسته می شود. این فولدینگ تحت تأثیر استیلایسون و متیلایسون است که تکنولوژی ۴-۵ سال اخیر همه ی این ها را بررسی می کند. این ها چیدمان می شوند، باز می شوند. در نوکلئوتید ۱۰۰۰۷۵۰۰۰۰ بعد شروع کند لیگاز بیاید و بعد transcription factor ها بیایند آن جا بچسبند و شروع کنند و ختم شود و از هسته به سیتوپلاسم بیاید و پروتئین ساخته شود و وارد جریان خون شود و در بافت اثر بگذارد، به همین سادگی!! و این دائماً دارد اتفاق می افتد.

RNA زود Degrade (تخریب) می شود ولی DNA خیلی Stable است مثلاً DNA انسان پس از ۲۰۰۰ سال تغییر نمی کند چون DNA ، کربن شماره ی ۲ OH ندارد ولی RNA دارد پس :

دلیل instable شدن RNA وجود OH در کربن ۲ .

ساختار DNA :

UTR , Promoter , Transcription Factor ، اگزون ، اینترون و نهایتاً ناحیه ی 3'-UTR داریم. تعداد اگزون همیشه یکی بیشتر از اینترون است. قسمت های دیگری هم هست مثل acceptor site یا قسمت های splicing که ابتدا و انتهای اینترون هستند.

ساختار را دیدیم که سه نوع تغییر شایع در ژنوم SNP , STRP , CNP هستند. این تغییرات به صورت نرمال ممکن است باعث بروز بیماری بشود یا نشود . محققان در این مورد بحث می کنند. SNP ها تعداد زیادی دارند و به هر شکلی که بتوانیم فکر کنیم در توالی ژنوم چیده می شوند . کدام بیماری زا هست یا نیست، آیا ۱۰ تا از ۱ میلیارد با ۵۰ تا از ۲ میلیارد با ۳۰ تا از ۳۰ میلیارد همه با هم کار میکنند یا هر کدام برای خودشان هستند؟ نمی دانیم.

آیا SNP یا STRP با هم interaction دارند؟ (احتمالاً این را هم نمی دانیم :)

توالی ژنوم من و شما مثل همه فقط یک تعدادش با هم فرمیکند که خیلی نادر است. SNP از هر ۳۰۰ تا یک اللش فرق می کند. این SNP پلی مورفیسم را به صورت RS نشان می دهند. در مقالات و ارتباطات در حوزه ژنتیک با RS شروع می شود و یک digital number هم میگیرد که به صورت سریال دسته بندی کردند و وقتی حرف می زنیم بر اساس آن شماره ها حرف می زنیم : RC2548543 اگر در گوگل شماره را search کنیم، توالی ژنوم را می دهد.

وقتی یک توالی ژنوم در بیش از ۱٪ افراد جامعه دیده شود ، پلی مورفیسم و بیماری زا هم نیست به صورت clinical و بالینی می گوئیم رنگ موی نسلی در آسیا پلی مورفیسم چون در بیش از ۱٪ مردم جهان هست و این کد ژنتیکی در اروپا نادر است و لذا در اروپا رنگ مو بور ، چشم آبی ، پوست روشن (آه مااای گاااا :)) شایع است و برعکس در آسیا این پلی مورفیسم نادر است . (آن فور چنتلی :)

D6S282 : D مربوط به STRهاست. D یعنی DNA ، کروموزوم شماره ی ۶، S یعنی Single Copy .

٪۷۰ توالی نوکلئوتیدی در هسته Single Copy ست یعنی یک رشته و یک نوع ازش فقط وجود دارد پس اول یک single copy sequencing می دهد و بعد یک digit می دهد.

Nomenclature یعنی استاندارد و دستورالعملی که برای یک موضوع عنوان می شود. می خواهیم بگوئیم کروموزوم ۸ تکه اش شکسته از p ، و به q کروموزوم ۱۲ چسبیده . این گونه نوشته میشود :

g.621 +1G>T یعنی در ژنومیک DNA اسید نوکلئیک ۶۲۱ که آخرین نوکلئوتید اگزون شماره ی ۴ است ، بعد از آن که اینترون آغاز می شود ، اولین نوکلئوتید که +۱ است ، G به T تبدیل شده است. همین موضوع در مورد اسید آمینه ها هم هست که در درسنامه کامل گفته شده است.

پروژه ی بعد سال ۲۰۰۳ شروع شد که HapMap یا Haplo Typing Mapping ژنوم انسان که می خواست بفهمد تغییرات SNP در ژنوم چگونه است. این پروژه ی ۵ ساله در ۲۰۰۸ بود. از ۲۰۰۵ تا ۲۰۰۸ ، ۱۱.۵ میلیون SNP در ژنوم انسان پیدا کردند که از فردی به فرد دیگر متفاوت است.

بعد وِلش کردند :دی چون هر چقدر جلو می رفتند اضافه میشد و پروژه تمام شد . (رحمه و... من یقراً فاتحه مع الصلوات :)

الان چون مدام داره توالی یابی میشه بالای ۶۰ میلیون SNP تا حالا کشف شده ، کشف یک طرف این که این ها در ژنوم چه کار می کنند ، موضوع اصلی است.

از این variant SNP ، ۳ ال دیگر هست مثلاً یکی A ولی ممکنه C ، T یا G باشد. این، پیچیدگی در تحلیل نتایج ایجاد می کند. آیا باعث بروز بیماری می شود یا نه؟ مشکل وقتی بیشتر می شود که SNP دوتایی شود یعنی جایگزینی نباشد، insert یا delete شود و پیچیدگی بیشتر می شود. این یک ژنوم واقعی برای فردی در کروموزوم ۷ است . در بعضی CA هست ، بعضی CT . یعنی میتونه A یا T باشه. پایین میتونه TA باشه یا GA (البته به نظر من GT باشه یا GA !!) فاصله اش هم خیلی نیست ، حدود ۲۰۰۰ basepair و این در ژنوم همه ی ما وجود دارد . این پراکندگی اش یا به صورت cluster است یا تکه تکه یا باهم interaction دارند که در مورد این ها تحقیق می شود .

این SNP ها گاهی در توالی هایی از ژنوم اتفاق می افتد که ما می گوییم Palindromic Sequence :

5'- ACGATT:GAATTC:TAGGATC - 3'
3'- TGCTAA:CTTAAG:ATCCTAG - 5'

این توالی ها توسط آنزیم های خاصی شناسایی می شوند. (Term 4 agaiiin !!)

ما چه طور بفهمیم ژنوم ما/ این جاش T یا G هست یا ...؟ با تکنیک آزمایشگاهی که یک تکنیکش همینیه که ما آنزیم ها را به توالی PCR Product اگر آن جا آن ترتیب باشد میاد تیکه اش می کند اگر نباشد تیکه اش نمی کند . (really???)

ما روی ژل آگارز آن را تشخیص می دهیم که اونجا C بوده یا T بوده و این کمک می کند در شناسایی کل SNP ها. الان دیگر با این ها کار نمی کنند (فرنگی ها :((() ، ژنوم را می دهند ، کل ۳ میلیارد را تحویل می دهند (یا می گیرند؟!) ولی اصول همینیه.

بیشتر SNP ها سایتی برای restriction enzyme ها ندارند و ما نمی توانیم تشخیص دهیم . بعضی ها را می توانیم که بعداً اشاره می کنیم .

این SNP ها می توانند سایت آنزیماتیک ایجاد کنند، می توانند از بین ببرند ، ممکن است یک توالی به صورت نرمال وجود داشته باشد و سایت آنزیماتیک باشد و یک SNP آن را از بین ببرد.

اولین جایی که این linkage را ایجاد کردند به وسیله ی همین تکنیک بود به نام :

(RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphisms) (← ترم ۴)

حدود ۵۰٪ از ژنوم انسان از توالی تکرار شونده تشکیل شده که در کل ژنوم پراکنده است. این توالی های تکرار شونده غیر از SNP می توانند کوچک یا خیلی بزرگ باشند.

اگر کوچک باشد ، می شود (SINES (Short Interspread Nuclear Elements بین ۱۰۰-۳۰۰ bp ، ۱،۵ میلیون بار ممکن است تکرار شود ، ممکن است ۵۰ یا ۲۰۰۰ بار تکرار شود (تا ۱،۵ میلیون بار ممکنه این ۱۰۰ باز تکرار بشه)

ممکن است بزرگتر باشد ، بین ۶۰۰۰-۸۰۰۰ basepair ، ۸۵۰ هزار بار تکرار شود ، در chapter 1 به عنوان allorrepeat شناخته شده اند ← توالی تکرار شونده که function ندارند. البته واقعاً function دارند یا نه را نمی دانیم . قسمت هایی در ژنوم هست به نام ترانسپوزون مثل ویروس وقتی ژنوم می خواهد تشکیل شود به خصوص در قسمت recombination ، یک دفعه یک قطعه می پره یک جای دیگر توالی جدید ایجاد می کند و لذا منشأ LINES و SINES از ترانسپوزون هاست.

بخش هایی از بعضی کروموزوم ها دیده شده ، چرایی نداره، که prone اند که این توالی ها داخلشان قرار بگیرد . این تغییرات مربوط به بعضی کروموزوم هاست. همه ی کروموزوم ها این تغییرات را ندارند.

بیماری هانتینگتون یک بیماری complotive است که شناسایی فرد مثلاً در ۳۰ سالگی خانه اش را فراموش می کند . به خاطر اختلال سلول های مغزی . این به چه دلیل به وجود می آید؟ یک توالی هایی در ژنوم هست که این برای همه تکرار میشود به اسم repeated

CAG. در بخشی از کروموزوم که اگر این تعدادش بیشتر بشه باعث بیماری می شود مثلاً تا ۳۵ تا، اگر ۳۴ تا بود پلی مورفیسم، یکی ۱۵، دیگری ۱۶ و ۱۷ و ... ولی اگر رسید به مرز ۳۵ از آن به بعد بیشتر بیماری ایجاد می کند.

طیفی از بیماری ها به خاطر تغییرات repeat هستند ولی این ها توالی هایشان ۲، ۳، ۴ تا هست. همین بیماری ایجاد می کند. یک دسته از repeat ها هستند. یک دسته دیگر از repeat داریم که بزرگترند مثلاً 100bp. تکرار بالا هم دارند که به این ها satellite می گویند. توالی satellite که تعدادش از repeat قبلی بیشتر است. بنابراین نباید repeat ها راقاطی کنیم، اگر خیلی بزرگ باشد، macro satellite، اگر کوچکتر باشد، mini satellite و اگر خیلی کوچکتر باشد micro satellite. این ها برای تشخیص هویت استفاده می شوند. همین توالی ها به ارث می رسند. با repeat قبلی این کار را نمی کنند، با STR ها هم این کار را نمی کنند ولی همه repeat هستند. (توالی های تکرار شونده) اگر بیش از ۱۰۰ نوکلئوتید باشند معمولاً می گویند Satellite، ۵۰-۱۰۰ ← MiniSatellite و اگر ۱،۲،۴ ← Micro Satellite.

در پزشکی قانونی از Micro Satellite استفاده می شود مثلاً ۳۰ تا micro را که در جاهای مختلف ژنوم وجود دارد بر می دارند amplify می کنند و پدر و مادر یا مظنون را بررسی می کنند. برای تشخیص هویت فرزند، پدر و مادر را Fingerprinting می کنند که در دادگاه ها انجام می شود و می گویند DNA Analysis کردیم. ببینند این repeat ها را دارد یا نه، اگر دارد از کی به ارث رسیده، اگر نه از پدر بود، نه از مادر، می گویند بچه ی آن ها نیست. یا اگر دوقلو باشند می توانند از طریق micro satellite ها توالی هایی که به ارث رسیده را شناسایی کنند.

(Slide 26)

D6S282، در کروموزوم ۶، CAها تکرار شدند ← در قسمت A

AGAT، ۱۵ بار تکرار شده ← B

TCTA، ۴ بار تکرار شده، TCTG، ۶ بار، TCTA، ۳ بار ← C

← Repeat ها چقدر می توانند تکرار شوند و diversity بالایی دارند.

به دو علت این STRs تکرار می شوند: (۱) Meiotic Recombination که اشاره شد و دیگری (۲) stuttering در حین DNA Replication است. عمدتاً حین replication ولی عمدتاً mini satellite ها به علت Meiotic Recomb. اتفاق می افتد. Micro sate. به علت DNA Replication است که stuttering اتفاق می افتد که وقتی replicate می شود، در یک ال می شود و در دیگری نه. که repeat، micro را ایجاد می کند که بعداً می گوئیم که این همان Slipped Strand Mismatch یا stuttering است. DNA Polymerization به هنگام DNA Replication از اولی نرماله ... CAG - CAG - CAG، دومی یک insertion ایجاد میکند در نتیجه این یکی که insert میشه، اون یکی رو می کشه عقب، stutter می شود، به هنگام DNA Replication اگر این ها درست بشه که دیگه STR ایجاد نمی کنه یا برعکس به صورت deletion که یکی ایجاد میشه، یکی نمیشه و یکی رو به سمت جلو می بره.

تا حالا حدود ۱۵۰۰۰ STR پیدا شده، الان حدود ۶۰ میلیون SNP است. آیا ما می توانیم در بین این همه SNP تشخیص فنوتیپ بدهیم؟ خیر. ولی STR، ۱۵۰۰۰ تا بیشتر نیست و می توانیم بگوئیم نقش آن چیست؟ بروز فنوتیپ چگونه است، راحت تره نه حتمی.

CNV: توالی های خیلی خیلی بزرگ که حتی با مطالعات کروموزومی هم می توان بررسی کرد، بر روی کروموزوم های خاص دیده شده، یک بخش سانترومیک دارد، ۱، ۹، ۱۶ و بازوی بلند ۷ دیده شده، یک بخشی هم روی کروموزوم آکروسانتربیک ۱۳، ۱۴، ۱۵، ۲۱ و ۲۲. به صورت satellite در انتهای برخی کروموزوم ها دیده شده. این satellite با sate. هایی که قبلاً گفته شده فرق می کند. این مخصوص CNV است.

چگونه / این ها را تشخیص می دهند؟ روشی به نام Array-CGH (ترم ۴) که حدود ۷-۸ سال پیش ابداع شد. Comperative Genomic Hybridization که ژنوم سالم را با ژنوم موردنظر مقایسه و تغییرات را بررسی می کنند. عمدتاً در حوزه ی cancer استفاده می شود چون تغییرات ژنوم سرطان خیلی زیاده. همه جاش پخش میشه. برای شناسایی کل ژنوم را با کل ژنوم نرمال مقایسه می کنند و تغییرات را می گذارند بیرون یعنی اختلاف را discilonate (!) می کنند. تکنولوژی که برای پیدا کردن STR ها و به خصوص CNV ها چون بزرگترند استفاده می کنند ← array-CGH و یا این که بعدش باید whole genome SNP Array می کنند کل ژنوم را نوکلئوتید به نوکلئوتید بشمارند SNP را بکشند بیرون.

فایده : در بعضی بیماری ها مثل سرطان چون خیلی مهمه و business زیادی برای داروهاش هست، باید بیولوژی آن را بفهمند چگونه دارو تولید کنند تا مؤثر باشد، این قدر معضل ایجاد شده به خاطر تحقیقات و نتایج به دست آمده که هر چی جلو می روند به جای جواب بیشتر سوال ایجاد کرده و به خاطر پیچیدگی بیولوژیک سلول، مشکلات زیادی در درمان سرطان ایجاد کرده است. این تکنولوژی ها array-CGH یا whole genome SNP Array مثلاً می خوان بگن بیماری هست که ما فکر می کنیم نمی دونیم gene چی هست؟ زیاد هست هر هفته چند بیماری عجیب هست که نمی دانند مشکل چیست dismorphic است و علائم عجیب دارد فقط می دانیم gene مشکل دارد، کاریوتایپ هم سالم است. نمی شود ۳,۰۰۰,۰۰۰,۰۰۰ ژن را هم بررسی کنی چون اطلاعات عجیبی می دهد که نمی دانیم کجاش مربوط به بیماریه. می آییم Shrink می کنیم. Exon Sequencing تمام اگزون های ۲۵۰۰ ژن را که بررسی می کنند (در port coding شرکت دارند) شاید بفهمیم. تکنولوژی جدید کمک می کند در بیماری های مختلف به خصوص مندلی، بیماری روان پریشی و رفتاری.

سوال : در سرطان که یک قسمت هایی از ژنوم تغییر پیدا کرده است و ما آن ها را شناسایی می کنیم، ما که نمی توانیم ژنومش را تغییر بدهیم. دارو ها را بر اساس تغییرات ژنوم می سازند می گویند اگر این ژن تغییر پیدا کرد در تولید port و عملکرد سلول چه نقشی داشته تا شما ندانید چه نقشی داشته و چگونه عمل می کرده نمی توانید دارو تولید کنید لذا شناسایی اون تغییر. Signature Mutation.) من که نفهمیدم چی شد، امیدوارم شما بفهمید :|) در سرطان یک تغییر اتفاق نمی افتد صد ها هزار تغییر اتفاق می افتد و بعد یک signature می دهد یا یک profile سلولی می دهد بر اساس اون دارو طراحی می کنند، ما قرار نیست ژن را تغییر دهیم عملکرد سلول ناشی از آن تغییر را تحت کنترل قرار می دهیم.

سوال : ولی موقتی است و درمان کامل نمی شود؟ خیر، سلول را آپوپتوز می کنند.

سوال : مگر بیماری نادر با همان روش CGH شناسایی نمی شود؟ خیر، CGH توالی خیلی بزرگ را بررسی می کند. هر کدام از این روش ها یک جا کاربرد دارد.

γ

اون پروتئین گلوبین که با هم است، چسبندگی پیدا می کند و خاصیتی که باید هموگلوبین داشته باشد را از دست می دهد و باعث بروز سیکل سل می شود. به خاطر چی؟ به خاطر این که تغییر این Missense Mutation، formation، پروتئین را تغییر می دهد و لذا Missense Mutation ها چقدر می توانند باعث بیماری شوند به اشکال مختلف که یکی از آن ها این است که تغییرات شارژی سطح داخلی و خارجی پروتئین های گلوبولین را تغییر می دهند. (در درسنامه بهتر توضیح داده شده است ..)

هموگلوبین بیشترین اطلاعات در موردش وجود دارد یعنی هیچ ژنی به اندازه ی HBB مورد مطالعه قرار نگرفته و همانطور که می دانیم گلبول قرمز مثل Donut (P:) است که وسطش فرورفتگی وجود دارد. که همین شکلش باعث می شود که لغزشش در عروق بهتر انجام شود و کمتر به هم چسبیده باشند. اگر این تغییر اتفاق بیفتد، به هم می چسبند و لغزندگی شان از بین می رود و انسداد عروق ایجاد می کند. آنمی داسی شکل باعث می شود که شکل گلبول قرمز عوض بشه، لغزشش هم تغییر پیدا کند و باعث آنمی شود.

چیزهای عجیب تر هم داریم که تمام سیستم بدن را به هم می زند. پوستش، کله اش، قلبش، جمجمه اش، به علت یک Missense در پروتئین Element به طور مثال چون برخی از ژن ها، ژن های developmental هستند یعنی وقتی یک embryo بخواد تشکیل شود، آن ها اگر بد عمل کنند، جنین دچار آسیب وحشتناک می شود.

Nonsense Mutation (جهش های بی معنی) :

اگر نوکلئوتیدی با نوکلئوتید دیگر جابه جا شود و برای ما Stop Codon ایجاد کند (GAT, GTA, GAA) آتا اون جایی که من میدونم کدون های پایان UGA, UAG, UAA بود !!! اگر این اتفاق بیفتد، پروتئین از این به بعد ساخته نمی شود. اگر این اتفاق در انتهای ژن بیفتد، پروتئین ساخته می شود ولی خیلی کمتر ولی اگر در ابتدا این اتفاق بیفتد، دیگر هیچی نیست. بعضی مواقع بهتر است هیچی نباشد مثل بیگر. اگر باشد ولی خراب باشد مثل دوشن.

دوشن بیماری است که بجه ضعف عضلانی پیدا می کند که بیکر نوع خفیف تر آن است. نوع جهشش با هم فرق می کند. ژن همان ژن است، نوع جهش است که فرق می کند. در دوشن پروتئین هست ولی interact می کند با اون یکی الی سالم و اون رو هم خراب می کند و عوارض خیلی شدیده ولی بیکر نوعی جهش است که اون پروتئین یک مقداری تولید می شود و در نتیجه علائم خفیف تر است و لذا nonsense بستگی داره که کجا اتفاق بیفته و اتفاقی که می افتد نوکلئوتید باعث به وجود آمدن Stop Codon می شود. مکانیسم هایی که بدن دارد برای این که از این همه تخریب جلوگیری کند، یکی از آن ها NMD (NonSense-Mediated Dacey) ولی اگر جهش اتفاق افتاد سیستمی وجود دارد به نام RNA Surveillance Mechanisms که فنومنی (Phenomenon) که ایجاد می کند NMD است یعنی اگر RNA ای ساخته شد ولی خراب بود یعنی در آن Stop Codon بود، RNA رو target می کند، نمی گذارد که پروتئین ساخته بشه و لذا مکانیسمی وجود دارد که Nonsense Mutation ها رو که باعث تخریب RNA و پروتئین می شود را جلوییشان را بگیرد، برای همین است که ما حالمان خوب است (اما تو باور نکن)

اگر این سیستم ها نباشند که اصلاً Developmental انجام نمیشود. (به درسنامه رجوع شود ...)

الآن نگاه کنید (اسلاید ۵۳) TGG (در نرمال) شده TGA یعنی G→A. در ژن PAX3 که باعث بروز بیماری خاصی می شود. وقتی که RNA ساخته می شود، می آید داخل سیتوپلاسم، ریبوزوم به آن می چسبد. اگر به آن Stop Codon باشد، ریبوزوم همان طور که دارد scan می کند، سه تا سه تا کدون ها رو جایی که EJC (Exon Junction Complex) اون جا یکی یکی آزاد می کند، وقتی برسه اگر در آن stop codon باشد دیگر آزاد نمیشود و چسبندگی RNA به ریبوزوم متصل باشد آماده می شود تا RNA تخریب شود این مکانیسم NMD ست. ولی اگر این جهش در اگزون آخر یا ۵۰ نوکلئوتید انتهایی که به splice site می خورد رخ دهد، این سیستم NMD نمی تواند فعال شود در نتیجه پروتئین ناقص تولید می شود.

: Splice Site Mutation

اگر splice site ها که در ابتدا (donor site) و انتها (acceptor site) ی اینترون هست، محور GT....AG، دچار جهش شود وقتی که می خواهد pelyvate (مسلماً این نیست!!) انجام بشود و transcription اتفاق بیفتد، به آن قسمت که می رسد دیگر انجام نمی شود و یک دفعه اینترون می آید تو! یک دفعه اگزون می پره رو اون O: و (اسلاید ۶۵) اگر جهش در acceptor site اینترون اول اتفاق بیفتد دیگر از آن جا cut نمی کند، اینترون باقی می ماند اینترون هم که 1 bp و 2 bp نیست، 50000bp است، این پروتئین کجا، اون پروتئین کجا و لذا از عوارض Splice Site Mutation ها intron retention است و می شود فهمید که در اینترون ریتشن چه اتفاقی برای پروتئین می افتد.

بعضی مواقع جهش در donor site اتفاق می افتد و به جای اینکه cut کند، اینترون رو اگزون دوباره می پره، exon skipping می شود و لذا آن قسمت های انتهایی می تواند در acceptor باشد، می تواند در donor باشد، اگزون وسطی حذف شده چون cut نمی کند این ادامه پیدا می کند و در نتیجه اگزون میره تا برسه به بعدیش که acceptor site است در نتیجه اگزون بینی از بین می رود و یک قسمت از اگزون شما نیست. و در نتیجه پروتئین هایی که مربوط به آن می باشد ساخته نمی شود پس Splice Site Mutation ها باعث exon skipping و intron retention می شود و عوارض مربوط به آن.

گاهی اوقات جهش هایی اتفاق می افتد که برای ما splice site ایجاد می کند، ما نمی خواستیم، یک جهشی اتفاق می افتد (مگه قبلاً می خواستیم؟؟!!) مثل cryptic splice site یا splice site های نهفته و در نتیجه در اینترون یک splice site ایجاد می شود.

: Silent Mutation

جهش هایی هستند که هیچ گونه آمینو اسیدی را عوض نمی کنند.

تقسیم بندی پاتوژنیک ها :

- اون ابتدایی ها که نرمال بودند و می توانستند بیماری را باشند.
- یعنی پاتوژنیک ها یا base of situation (به نظر من base substitution باید گفته باشه....) هستند یا insertion / deletion

که base of situation ها تقسیم می شوند یا Missense است یعنی یک نوکلئوتید با یک نوکلئوتید دیگر یا nonsense است یا silent. Silent اون هایی هستند که آمینواسید عوض نمی شود ولی سوال آیا silent همیشه silent است؟ خیر. می تواند در شرایط خاص باعث بروز بیماری هم شود.

اسلاید ۶۴ که سایلنت است همانطور که می بینید TTT تبدیل می شود به TTC که هر دو تا فنیل آلانین را کد می کنند بدون این که اتفاق دیگری بیفتد ولی همین باعث بروز SMA (Spinal Muscular Atrophy) می شود که بچه اختلال عضلانی می دهد. بچه اگر خیلی بماند از بین می رود و انواع مختلفی هم دارد به علت همین Silent Mutation است.

SMA اسم بیماری، SMN اسم ژن آن است که دو تا ژن دارد: SMN1 و SMN2. محل قرار گرفتنش سانترمر یک است و SMN2 محل قرار گرفتنش تلومر یک و SMN2 عمل نمی کند و یک عمل می کند.

گاهی اوقات اتفاق می افتد که در SMN، TTC اونجا ببینید که یک تغییری در آن اتفاق افتاده، این Splicing ژن را تحت تأثیر قرار می دهد و باعث بروز بیماری می شود. اگر SMN2 وجود داشته باشد، بخشی از علائم را خفیف می کند و علائم رو کم می کند. اگر نداشته باشد علائم خیلی خیلی شدید است. می تواند SMN2 به جای SMN1 تا حدی کار کند ولی خیلی نه و لذا یک Silent Mutation می تواند باعث بروز بیماری شود، به علت این که inactive می کند splice site اول ژن رو.

جفتش هم در اگزون ۷ است هم ژن SMN1 هم SMN2 که این جهش سایلنت باعث بروز بیماری SMN تایپ یک می شود.

SMN2 کار نمی کند بعضی مواقع اگر SMN1 نباشد ، SMN2 کمی کار می کند و علائم رو خفیف می کند. اگر جهش اتفاق بیفتد در SMN1 است که اون جهش باعث می شود splice site ، inactive شود و در نتیجه پروتئین ساخته نشود.

★ ناحیه ی تلومری برخی از ژن ها بیان می شود.

: Frame Shift Mutation

وقتی که جهش ها مضربی از ۳ نباشد. اسلاید ۶۵ پایین رو ببینید و ترجمه اش کرده :

Now you can see How the RNA can get Hit

بعد یک T ← insert (delete) شده و همه ی فرمت وچیدمان آن جمله به هم می خورد. فرض کنید این جملات کلماتش آمینواسید بود و در نتیجه چیدمان اون حرف ها به هم می خورد و اصلاً مفهومی ندارد. برای همین اسمش رو میذارند frame shift Mutation . تمام ترتیب آمینو اسیدها را به هم می زند. اتفاق دیگری که می افتد، در آن ها آمار نشان می دهد که حداکثر 50bp بعد از آن تغییر stop codon هم اتفاق می افتد یعنی اگر این موضوع ابتدا هم باشد علاوه بر این که آن به هم می ریزد ، truncate هم پایین ترش اتفاق می افتد یعنی stop codon جزء لا یَتَفَكُّ (جدا نشدنی) frameshift است. منتهی ممکن است نزدیکش باشد یا دورترش باشد ، یک تعداد آمینو اسید به آن اضافه کند . خیلی خیلی مخرب هستند، از nonsense ها مخرب تر هستند چون چیزهایی رو ایجاد می کند (پروتئین) که ممکن است با الل نرمال interact بدهد و آن را از کار بیندازد ولذا بیکر به دلیلی اتفاق می افتد که علت Nonsense می باشد ولی دوشن به علت frameshift می باشد یعنی عوارض frameshift به مراتب بیشتر از nonsense mutation ها می باشد.

بیماری مربوط به ناشنوایی GJB2 است (اسلاید ۶۶) که connexin26 را کد می کند و اگر یک جهش این طوری اتفاق بیفتد، ببینید بالا ۶ تا G اس و پایین ۵ تا G . یکی که حذف شده بلافاصله پشتش Stop Codon اتفاق افتاده، بیشترین deletion و insertion ها ی بزرگ در بیماری دوشن اتفاق می افتد. همان طور که می بینید میزان این رخداد را در بیماری دوشن و ژن دیستروفین نشان می دهد. (اسلاید ۶۹)

به نام خدا

جلسه ۵ ژنتیک

استاد قادیان

گروه ۱۳ جزوه نویسی

اعضای گروه: سید امین آبادیان زاده، علیرضا شمس، کریم کهنسال، بابک قوامی لاهیجی

ساختارهای کروموزومی

ژنوم هسته‌ای به وسیله‌ی دو فاکتور شناخته می‌شود:

۱. جرم (cadency)

۲. تعداد ساختارهای (کروموزوم) متمایز

یک سلول دیپلوئید مثل درم، از لحاظ $2n$ ها، است.

کروموزوم‌ها نقش نگه داشتن ژن را در خود دارند. ژن هویت فیزیکی ندارد و DNA و توالی نوکلئوتیدی ماهیت فیزیکی دارند.

به طور معمول سلول‌های بدن $2n$ هستند. سلول‌هایی نیز به طور طبیعی وجود دارند که تعداد n شان بیشتر از $2n$ است. $3n$: تریپلوئید. $4n$: تتراپلوئید. بیشتر از $4n$: پلی‌پلوئیدی. در داخل بدن پلی‌پلوئیدی نیز وجود دارد. این سلول‌ها در داخل بدن از لحاظ فیزیولوژیکی آماده شده است که برای عملکرد خاصی ژنوم آن‌ها گسترده شده است. بخاطر اینکه در آن واحد بتوانند پروتئین را به میزان زیاد تولید کنند.

کاردیومیوسایت از $48n$ تا $88n$ هستند. مگاکاریوسایت از $60n$ تا $64n$ هستند. N در واقع ست کروموزومی است. سلول‌هایی هم وجود دارند که هاپلوئیدند، مثل گامت‌ها. سلول‌هایی هم هستند که $none\ ploid$ هستند مثل گلبول‌های قرمز (RBC) و سلول‌های شاخی پوست و پلاکت‌ها.

پلاکت‌ها از مگاکاریوسایت که می‌توانند تا $64n$ بسازند، از طریق جوانه زدن ایجاد می‌شوند. در این جوانه زدن در واقع یک غشا ایجاد می‌شود و داخل آن یکسری پروتئین ذخیره می‌شود و این پروتئین ذخیره‌ای باعث می‌شود تا سلول مدتی زنده بماند. بعد آن با مصرف پروتئین‌های داخل سلول، از بین می‌رود. در واقع سلول‌های $none\ ploid$ عمر مشخصی دارند.

بعضی سلول‌ها توانایی افزایش n شان از طریق نیوژن ایجاد می‌کنند، نه از طریق $endomitosis$ ، یعنی تقسیم هسته بدون تقسیم سلول.

بعضی سلول‌ها از طریق نیوژن عملکرد را گسترش می‌دهند. نه از طریق پلی‌پلوئیدی با عملکرد اندومایتوسیز. این سلول‌ها mayoblast ها هستند. مایوبلاست‌ها با نیوژن داخل هم نمی‌روند بلکه به هم می‌چسبند و یک سلول به نام nasal fiber cell ایجاد می‌کنند. همه‌ی این پلی‌پلوئیدی‌ها علت فیزیولوژیک دارند و هیچ‌کدام پاتولوژیک نیستند.

برای تقسیم‌بندی کروموزوم‌ها از روش‌های مختلف استفاده می‌کنند:

۱. اندازه: Smallest , Small , Medium , Large , Largest

۲. محل سانترومر:

a. Metacentric: سانترومر وسط

b. Submetacentric: سانترومر نزدیک وسط

c. Upocentric: سانترومر نزدیک انتها

d. Telocentric: سانترومر کاملاً انتهایی (در بدن انسان تلوسنتریک نداریم).

۳. Mix: هم اندازه، هم محل سانترومر برای طبقه‌بندی کروموزوم استفاده می‌شود. درacrocentric ها دو زیرگروه به نام دارای satellite و فاقد satellite هستند.

کروموزوم‌ها را بر اساس اندازه مرتب می‌کنند. بزرگترین شماره‌ی ۱ و به همین ترتیب کوچک می‌شود تا شماره‌ی ۲۲. شماره‌ی ۲۳ در واقع وجود ندارد و کروموزوم جنسی هستند. در بعضی از موارد ۱۰ و ۱۱ از ۱۲ و ۲۱ از ۲۲ کوتاه‌تر است.

وقتی می‌خواهیم مکان یک ژن را که به آن لوکوس می‌گویند، روی کروموزوم مشخص کنیم، نیاز به مشخص کردن بازوی بلند و کوتاه کروموزوم داریم. در metasentric قراردادی است بازوی کوتاه را با p (مخفف کلمه‌ی petite به معنای کوچک) و بازوی بزرگ را با q (چون بعد از p در حروف الفبا است).

وقتی می‌خواهیم ژنی را روی کروموزوم مشخص کنیم (لوکوس)، کاریوتایپ می‌نویسیم.

تهیه‌ی کاریوتایپ به این شکل است: کاریوتایپ حاصل گرفتن خون محیطی است. در خون محیطی اکثر سلول‌ها لنفوسیت هستند. این لنفوسیت‌ها هم اکثراً لنفوسیت T هستند. با یک ماده تحریکشان می‌کنیم، کشتشان می‌دهیم تا تکثیر شوند و با یک ماده‌ی دیگر در مرحله‌ای دیگر از تقسیم آن‌ها را فریز می‌کنیم. در این حالت با ماده‌ای دوباره هسته را خارج می‌کنیم و با giemsa، کروموزوم‌ها را band می‌کنیم و در گروه‌بندی مخصوص قرار می‌دهیم.

گروه a: کروموزوم‌های ۳, ۲, ۱: بزرگترین کروموزوم‌ها، ۱, ۳ متاسانتریک، ۲ ساب‌متا

گروه b: کروموزوم‌های ۵, ۴: کروموزوم‌های بزرگ، ساب‌متا

گروه C: کروموزوم‌های ۶ تا ۱۲ و کروموزوم X: کروموزوم‌های متوسط، ساب‌متا

گروه d: کروموزوم‌های ۱۳ تا ۱۵: کروموزوم‌های متوسط، اکروسنتریک، satellite دار

گروه e: کروموزوم‌های ۱۶ تا ۱۸: کروموزوم‌های کوچک، ۱۶ متاسانتریک، ۱۸, ۱۷ ساب‌متا

گروه f : کروموزوم‌های 20 , 19: کروموزوم‌های کوچک، متاسانتريک

گروه γ: کروموزوم‌های 21 , 20: کوچک‌ترین کروموزوم‌ها، آکروسنتريک.

تفاوت این ۳ کروموزوم: Y, satellite ندارد؛ یعنی بازوی p آن functional است و در آن ژن‌هایی وجود دارد و در تولید پروتئين نقش دارد.

Satellite : یک توالی نوکلئوتیدی تکراری است و ترجمه نمی‌شود. در نتیجه بازوی p آن‌ها از نقش خارج می‌شود. در نتیجه افرادی که بازوی p در این ناحیه ندارند یا دوتا دارند، تاثیری در فنوتیپ آن‌ها ندارد.

روش‌های مختلف banding

- G banding: روش معمول، کروموزوم‌ها را با رنگ Giemsa (گیمسا) رنگ‌آمیزی می‌کنند. بخش‌هایی pale یا رنگ‌پریده می‌شود و بخش‌هایی هم پررنگ می‌شوند که همان bandها هستند.
- Q banding : استفاده از یک رنگ فلوئورسنت به جای Giemsa. نواحی که A,T rich هستند، یعنی A,T آن نسبت به C,G بیشتر است، پررنگ‌تر می‌شود. چون از رنگ فلوئورسنت استفاده می‌شود، Detection Rate آن بالاست.
- R banding : در فرانسه معمول است. معکوس G banding است. یعنی پررنگ‌ها در G banding اینجا pale نمایش داده می‌شوند. نواحی A,T را رنگ نمی‌کند و معکوس Q banding است. یعنی نواحی A,T را باز می‌کند و در نتیجه رنگ نمی‌گیرند. این رنگ‌آمیزی اختصاصی G,C است، یعنی نواحی G,C rich را رنگ می‌کند.
- T banding : مخفف تلومریک است. تلومر دو انتهای کروموزوم است و کار آن جلوگیری از چسبیدن دو انتهای کروموزوم به هم و همچنین چسبیدن به کروموزوم دیگر است. اگر تلومر از بین برود (قطع شود)، دو انتهای کروموزوم به هم می‌چسبند و یک کروموزوم ring ایجاد می‌کند. معمولاً کروموزوم‌های functional, ring, نیستند؛ یعنی در مراحل رونویسی و ترجمه فعال نیستند. اگر دو کروموزوم به هم بچسبند، یک ساختار پاتولوژیک ایجاد می‌کنند.
- C banding : c مخفف سانترومر است. کار سانترومر alignment کروموزوم‌ها روی دوک تقسیم در میتوز و میوز برعهده دارد. بنابراین کروموزومی که سانترومر ندارد، در تقسیم شرکت نمی‌کند، که نتیجه‌ی آن مونوزومی یا عدم وجود کروموزوم د سلول حاصله خواهد بود. به کروموزوم‌های بدون سانترومر Fragmented گفته می‌شود.

این banding ها به طور معمول در ایران انجام نمی‌شود.

تعداد کروموزوم‌ها دلیل بر پیچیدگی موجود نمی‌باشد. مثلاً سیب‌زمینی ۴۸ کروموزوم دارد.

آیدیوگرام:

شمای کارتونی کروموزومها و محل استقرار ژن‌ها روی کروموزومها. از این روش برای نامگذاری محل‌های banding استفاده می‌کنیم.

چگونه نام‌گذاری کنیم:

از چپ به راست کاریوتیپ را می‌نویسیم و از راست به چپ می‌خوانیم.

عدداول نشان‌دهنده‌ی ناحیه یا region

عدد دوم نشان‌دهنده‌ی band

عدد سوم که بعد از point است نشان‌دهنده‌ی sub band (زیرگروه band) است.

متافاز: مرحله‌ای از تقسیم است که کروموزومها حداکثر فشردگی را دارند. اگر تعداد باندها را در این حالت مشاهده کنیم، نسبتاً کم است، اما اگر رنگ‌آمیزی کمی قبل‌تر از متافاز صورت بگیرد، کروموزومها بازتر و کشیده‌تر هستند و تعداد بازوهای بیشتری را خواهیم دید.

سوال: نحوه‌ی تفکیک باندها چگونه است؟

با نرم‌افزار باندهای n (هاپلوئید) را می‌شماریم. اگر تعداد باندهای ارائه شده تا ۴۵۰ عدد باشد، کاریوتایپ استاندارد است و اگر تا ۶۰۰ تا باشد، High resolution band است.

آن‌هایی که زیرمجموعه‌ی باندهای استاندارد بودند و با افزایش resolution مشاهده شدند، subgroup آن‌ها می‌شوند، مثلاً یک باند در مدل استاندارد به ۵ باند در high resolution تبدیل می‌شود.

تقسیم میوز و میتوز:

فاز G_1 (Presynthesis Gap): در سلولی مانند سلول‌های اپی‌تلیال پوست که دائماً در حال تقسیم هستند، از ۲۴ ساعت، ۱۰ ساعت در فاز G_1 هستند.

فاز S (Syntesis): که همانندسازی یا سنتز DNA صورت می‌گیرد.

فاز G_2 (postsynthesis Gap): که در آن ارگانل‌های سیتوپلاسمی شروع به تقسیم کنند که ER، میتوکندری و گلژی از جمله‌ی آن‌هاست.

فاز میتوز/میوز: که در سلول‌های زایا (germinal) به صورت میوز و در سلول‌های غیر زایا به صورت میتوز است. در این مرحله DNA هایی که به شکل کروموزوم سنتز شده‌اند، به وسیله‌ی سانتریول‌ها در ۲ قطب قرار می‌گیرند و ردیف (align) می‌شوند که این Alignment به ردیف شدن کروموزومها در یک ردیف کمک می‌کند. (با یک قانون که

کروموزوم‌ها و دوک متصل به آن‌ها در یک صفحه، که صفحه‌ی متافازی باشد، قرار بگیرند. و الیاف Y-tubulin توسط پروتئین کینه‌توکور (kinetochore) که در محل سانترومر قرار دارد، به کروموزوم بچسبند.

سوال: چرا الیاف گاما توبولین مستقیم به سانترومر نمی‌چسبند؟

بخاطر اینکه اجزا و ساختمان DNA آسیب نبیند و مخدوش نشود، بنابراین یک پروتئین واسطه شده و الیاف به این ناحیه نزدیک شده، و بعد چون این پروتئین ۲ قطبی است، الیاف گاما توبولین با قطبیت + نزدیک قطب - آن شده و یک پیوند موقت ایجاد کرده که سبب ایجاد کشش می‌شود. (slide 24 : cell division)

فرض کنید کروموزوم‌ها را به میخ‌هایی که در ۲ قطب سلول کوبیده‌ایم با کش متصل کنیم. اگر آن‌ها را رها کنیم، مشروط به اینکه فاصله‌ی آن‌ها از ۲ طرف یکسان باشد، کروماتیدهای خواهری که کنار هم قرار گرفته‌اند، متمایل به قطبین می‌شوند. اما اگر فاصله‌ی آن‌ها از قطبین یکسان نباشد، یعنی فرضاً یک کروموزوم به یکی از قطبین نزدیک‌تر باشد، حالتی ایجاد می‌کند که کروماتیدهای خواهری از هم جدا نشوند و به یک طرف متمایل شوند که قطب دیگر آن سلول فاقد این کروموزوم‌ها خواهد بود.

سوال : فرق alignment در میوز و میتوز چیست؟

در میتوز ۲ برابر میوز ردیف داریم (در فاز اول). زیرا در میوز تتراد داریم ولی میتوز تتراد ندارد.

سوال : چه فرقی می‌کند که بگوییم توبول‌ها از طریق پروتئین به سانترومر وصل شود یا به طور مستقیم به آن متصل شوند؟ مگر در هر ۲ حالت امکان کنده شدن DNA وجود ندارد؟

در سازه‌های سنگین وقتی که می‌خواهند چیزی را در ارتفاع نگه دارند، معمولاً اینگونه است که جسمی به عنوان سازه‌ی مستقل درست می‌کنند، روی قسمتی از سازه که می‌خواهند نگه دارند (همانند سفینه‌های فضایی) و به صورت cover در آن قرار می‌دهند. در نتیجه سطح تماس بین این ۲ زیاد شده و این سطح تماس را تعریف می‌کنند. در مورد پروتئین‌های متصل به سانترومر هم اینگونه است، یعنی وقتی به قطبین رسیدند و رشته‌های دوک از آن‌ها جدا شدند، ساختار آن‌ها از بین می‌رود و برای اینکه این از بین رفتن ساختار برای DNA رخ ندهد، این کشش و فشار را به پروتئین وارد می‌کنند. از طرف دیگر قطبیت DNA است ولی ساختار پروتئینی یک طرف قطبیت + دارد که توسط بعضی آمینواسیدها به طرف DNA می‌رود و طرف دیگر آن - است. (مانند همانندسازی که لیزین و گلیسین سبب قرار گرفتن DNA در مسیر درست قطبیت می‌شوند).

سوال : چه سیستمی سبب قرارگرفتن کروموزوم‌ها در مرکز سلول می‌شود؟ (اصلاً چطور کروماتیدهای خواهری که مولکول یا نواری از مولکول هستند، همدیگر را پیدا می‌کنند؟) (در جواب این سوال بحثی داریم به نام بوکت یا بوخت که فرانسوی است و فنومر می‌باشد ولی دقیقاً استاد نگفته که منظور از آن چیست.)

فرض کنیم کروموزوم‌ها در هسته آماده‌ی شروع تقسیم هستند. با شروع تقسیم این کروموزوم‌ها به envelope می‌چسبند و کروموزوم‌های دیگر می‌آیند و از کنار آن رد می‌شوند. سپس اگر اتصال بین آن‌ها صورت نگیرد، یعنی کروموزوم‌های هم‌تا یکدیگر را نیافتند، این کروموزوم از این قسمت اتصالی به هسته جدا شده و به قسمت دیگری از

envelope هسته می‌چسبد و دوباره همین مسیر رخ می‌دهد. حال اگر کروموزومی از محل سانترومر با این کروموزوم اتصال برقرار کرد، اگر این اتصال point to point نبود و هموژنسیته‌ی آن مشخص نشد، این اتصال کامل نیست و به عنوان اتصال قطبیتی محسوب می‌شود ولی اگر که point to point اتصال برقرار کرد، نوعی پیوند کووالانسی موقت بین آن‌ها ایجاد می‌شود (bridge) که این پیوند برخلاف پیوند با کروموزوم‌های دیگر به راحتی جدا نمی‌شود. حال اگر ۲ کروموزوم به هم متصل شده یکی بزرگ و دیگری کوچک باشد و چون پیوند بین آن‌ها ضعیف است و point to point نیست، در اثر اتصال یک کروموزوم دیگر، اتصال بین این ۲ شکسته و از هم جدا می‌شوند. پس تا وقتی که بوکت فنومر در حال انجام است، تمام کروموزوم‌ها همدیگر را پیدا می‌کنند تا envelope محو شود.

در مرحله‌ی بعد پروفاز که متافاز است، کروموزوم‌ها باید در وسط قرار بگیرند. وقتی سانتیریول‌ها در قطبین هستند، توپولین‌ها شروع به حرکت می‌کنند. این حرکت توپولین‌ها سبب تمایل کروموزوم به حرکت به وسط سلول می‌شود. یکی از دلایل کشیده شدن کروموزوم توسط آن‌ها قطبیت آن‌هاست، یعنی این توپول‌ها مانند ۲ آهن‌ربا سبب کشیده شدن کروموزوم‌ها می‌گردند. این حرکت کاملاً فیزیکی است و شیمیایی نمی‌باشد، زیرا هیچگونه پیوندی صورت نگرفته است. مرحله‌ی پروفاز ۱ در میوز شامل مراحل لیپتونما - زایگونما - پاچنما - دیپلونما است که به آن‌ها مراحل دایتوکنزیس یا جداشدن cell wall ها می‌گویند. تمام این مراحل در میتوز سبب تقسیم تسهیمی کروموزوم می‌شود، که فرق میتوز با میوز هم در همین است. (تقسیم تسهیمی یعنی اینکه از ۴۶ کروموزوم در نهایت ۴ سلول ۲۳ کروموزومی داریم).

نو ترکیبی (recombination)

این نو ترکیبی به معنای ترکیب کروموزوم‌هاست و به معنی ترکیب ساختار کروموزوم‌های همولوگی (crossing over) نیست.

کراسینگ اوور یعنی یک جفت کروموزوم همولوگ در مرحله‌ی پاچنما کنارهم قرار گرفته و تشکیل تتراد می‌دهند و می‌توانند با هم داد و ستد قطعات داشته باشند که وقتی این قطعات کنده می‌شوند، از لحاظ ژن و محتوای ژنتیکی (contentity) یکسان ولی از لحاظ ترکیب توالی‌های نوکلئوتیدی mix جدا می‌شوند. (یعنی یک قسمت از یکی با یک قسمت از دیگری جدا شود) فرم کروموزوم به هم نمی‌خورد و فشرده (condence) هم هست که معمولاً در ۲ یا ۳ ناحیه این اتفاق می‌افتد که سبب می‌شود کروموزومی که مادری است حاوی بخش‌هایی از ژن پدر برای پدر یا مادر پدر باشد. بنابراین یک چیز مخلوط به دست می‌آید. (بنابر این توضیحات اینکه فنوتیپ یک فرزند مشابه پدر و مادرش است درست و منطقی به نظر می‌رسد).

علت‌های گوناگونی در جانداران ، ۲ چیز است:

۱. ترکیب کروموزوم‌ها

۲. کراسینگ اوور (ترکیب ساختار کروموزوم‌های همولوگی)

سوال: آیا تنوع‌زایی همیشه خوب است؟

اگر سبب گسترش ژن بیماری یا ژن مربوط به آن شود، اصلا خوب نیست. ولی ما از این تنوع ژن ها برای رده گیری نواحی از ژنوم که با هم link هستند و اصلا از هم جدا نمی شوند استفاده می کنیم.

مثال: طول یک DNA 6mb است.  دهنده ی 10^6 (مگا) و b نشان دهنده ی نوکلئوتید است.

سوال: فاصله ی دوباند از یکدیگر را چگونه اندازه می گیرند؟

براساس اندازه ی DNA غلط است زیرا اگر یک نوکلئوتید کم یا زیاد شود، در محتوا تغییری ایجاد نمی کند. (البته اگر در بیان ژن نقشی نداشته باشد). البته نه در ژن بلکه در فاصله ی بین ژن ها که توالی های لاینوساین قرار دارند که توالی های decline هستند. این توالی های تکراری مواردی هستند که ژنوم را بزرگ کرده ولی چون قابل ترجمه نیستند، پروتئین به ما نمی دهند. اگر در فاصله ی بین ۲ ژن حتی ۱۰۰ نوکلئوتید کم یا زیاد کنیم ایجاد اشتباه در بیان ژن نمی کند بنابراین اگر فاصله ی بین ۲ ژن را ملاک اندازه گیری DNA قرار دهیم، طول اشتباهی به ما می دهد. بنابراین فاصله ی دو ژن را توسط مارکر یا ملاکی به نام morgan تعیین می کنیم.

سنتی مرگان: اگر حد فاصل ۲ ژن یک سنتی مرگان باشد، یعنی در هر ۱۰۰ نوترکیبی یکبار این ژن ها از هم جدا می شوند.

Nail patella syndrome: genesis) disgenesis (به معنی تکوین و تولید) ناخن و کشکک پا (این بیماری در در سنامه نیست و احتمالا نیازی هم به دانستن آن نیست!!)

احتمال مبتلا بودن به این سندرم در نوزادی با گروه خونی A با پدری با گروه خونی A و واجد سندرم به مراتب بیشتر از نوزادی با گروه خونی B با مادری با گروه خونی B و واجد سندرم است. به این معنا که مکان ژن این سندرم نزدیک به ژن های گروه خونی روی کروموزوم های ماست؛ بنابراین یک پیش آگاهی است که ممکن است این سندرم را داشته باشند.

کروموزوم های جنسی

اینکه بگوییم جنسیت برپایه ی کروموزوم های جنسی است، غلط است. جنسیت به external genital بستگی دارد که اگر penis و testis داشته باشد، مذکر و اگر vagina داشته باشد، مونث است. (یعنی اگر 44+XY هم باشد ولی vagina داشته باشد، مونث است).

کروموزوم X جزو گروه C یا medium size ها بود که چیزی حدود ۵ درصد ژنوم ما روی این کروموزوم است.

اولین باری که بحث تمایز جنسی مطرح شد، چون کروموزوم Y خیلی کوچک بود، وقتی کاریوتیپ می گرفتند آن را جزو کروموزوم حساب نمی کردند و آن را Fragment (قطعه ی متلاشی شده) به شمار می آوردند. موقعی به آن پی بردند که مشاهده کردند آن هایی که سندرم ترنر دارند حاوی کاریوتیپ 44+X هستند و افراد با سندرم کلاین فلتر 44+XXY دارند و جنسیت آن ها متمایل به مذکر است، بنابراین به این نتیجه رسیدند که Y نقشی اساسی در تمایز جنسی دارد.

در میوز

• Crossing over : تبادل قطعات بین کروموزوم‌های همولوگ

• Translocation : تبادل قطعات بین کروموزوم‌های غیرهمتا

استثناءً به تبادل قطعه بین کروموزوم X و کروموزوم Y در جنس مذکر که سبب نوترکیبی می‌شود، کراسینگ اوور به حساب می‌آید. زیرا بین قطعاتی از ۲ کروموزوم تبادل قطعه صورت می‌گیرد که دقیقاً مشابه هستند و به آن Pseudoautosomal region می‌گویند. (زیرا این ناحیه جز اتوزوم‌ها نیست و مانند همولوگ عمل می‌کند).

کروموزوم Y :

- آکروسنتریک است.
- مهم‌ترین قطعه‌ی آن، در قسمت P ، درست زیر ناحیه‌ی سودواتوزومال است که به آن SRY (Sex Region of Y) یا TDF (Testis Determining Factor) می‌گویند که این قطعه برای تمایز جنسی بسیار مهم است، زیرا سبب تکیل بیضه می‌شود.
- حدود ۳ ژن مشخص دارد که در توبرتوریتوجنیس نقش دارد، اما از همه مهم‌تر یک ناحیه زیر سانترومر است که در بازوی بلند که ناحیه‌ی هتروکروماتین نام دارد قرار دارد. در این ناحیه یک سری ژن وجود دارد که بعضی شناخته شده و بعضی شناخته نشده‌اند که این‌ها در مراحل مختلف گامتوژنز جنس مذکر نقش حیاتی دارند، بطوری که حذف برخی قسمت‌های آن سبب آروسپرمی یا عدم تشکیل اسپرم می‌شود که سبب عقیم شدن یا استریل شدن فرد می‌گردد.

(male specific of chromosome Y)MSY

- مخصوص مردان است.
- به ۳ قسمت تقسیم می‌شود:
 - X-Transposed sequence : ۱۰ تا ۱۵ درصد که ژن‌های کد کننده‌ی پروتئین را ناحیه بندی می‌کند.
 - X-Degraded sequence : ۲۰ درصد. این ناحیه تقریباً مشابه با توالی کروموزوم X است. عقیده‌ای وجود دارد که این ژن گرفته شده از کروموزوم‌های بزرگ جانوران شبیه ماست که چون بزرگ بود به ۲ نیمه تقسیم شده است.
 - Palindrome-ridden region(amplicans) : این ناحیه این‌گونه است که چپ به راستش با راست به چپش یکی است.

نواحی داخل کروموزوم

- یوکروماتین
- هتروکروماتین
- Facutative (اختیاری): تحت شرایطی می‌تواند بیان شود مانند barr body
- Constative (اجباری) : تحت هیچ شرایطی بیان نمی‌شود مانند سانترومر

اگر کسی SRY نداشت...

- اگر SRY باشد، به واسطه‌ی فاکتورها و ژن‌های دیگر، high potential gonad به بیضه تبدیل می‌شود.
- اگر SRY نباشد (یعنی کاریوتایپش XY باشد ولی فاقد SRY باشد)، به واسطه‌ی فاکتورها و ژن‌های دیگر، high potential gonad به تخمدان تبدیل می‌شود.

برای external genitals یک هورمونی داریم به نام آندروژن که اگر رسپتور آن روی testis و بافت‌های genital وجود نداشته باشد، این testis با فیدبک منفی روی غده‌ی فوق کلیه نمی‌تواند external genital ایجاد کند. یعنی تنها وجود گناد هدایت کننده نیست.

درباره‌ی سوال یکی از بچه‌ها: در اسلایدها نوشته شده Y chromosome absent. این بدان معنی نیست که کروموزوم Y وجود ندارد بلکه به معنی عدم وجود SRY است.

۱۰۰ درصد کسانی که آمبیلوس ژنیتال دارند، male XX هستند، یعنی ژنیتال‌هایشان به male نزدیک‌تر است نه female. بنابراین در اتاق زایمان می‌نویسند male است و در پرانتز می‌نویسند که آمبیلوس است، یعنی تحقیقا male است.

اکثر مواردی که XX هستند همافروdit هستند یا XX هستند ولی male هستند، دستگاه تناسلی خارجی شان نشان می‌دهد که وجود SRY به تنهایی نشانه‌ی نبود مشکل نیست، بلکه باید موارد دیگری که به همراه SRY باعث تمایز جنسی می‌شوند را نیز مورد بررسی قرار داد. مهم‌ترین این مواد AZF_cها هستند که تابحال بیشترین تحقیق بر روی آن انجام شده است. اگر اتفاقی بر روی AZF_c بیافتد باعث وازوسپرمیا می‌شود. اهمیت موارد a و b هنوز به وضوح روشن نشده است.

ممکن است کروموزوم Y که SRY خود را به X داده است، با کروموزوم X دیگری بارور شود. در این حالت با اینکه XY است ولی چون SRY خود را از دست داده است، جنسیت Female است.

۵ درصد ژنوم انسان روی کروموزوم X وجود دارد.

در سندرم کلاین فلتر هرچه تعداد Xها بیشتر باشد به دلیل Overexpression عقب‌ماندگی فرد بیشتر است. (XXY یا XXXY)

بر روی بازوی بلند کروموزوم X (q) منطقه‌ای به نام Xist وجود دارد. در دوران جنینی (روز ۱۲ بعد از لقاح) منطقه‌ی Xist یکی از کروموزوم‌های X (بصورت رندوم) بیان می‌شود و RNAی به نام Non – coding تولید می‌کند. این RNA باعث متیله شدن نوکلئوتیدهای یکی از کروموزوم‌های X می‌شود که اینکار باعث غیرفعال شدن آن می‌شود. ولی در هنگام تقسیم این کروموزوم باید دی متیله شود تا بتوان از روی آن همانندسازی انجام داد، در نتیجه آخرین کروموزومی که به فاز Alignment می‌رود، کروموزوم X است. به کروموزوم X غیرفعال شده Barrbody گفته می‌شود.

(که Facultative heterochromatin است.) بین ۱۵ تا ۳۵ درصد کروموزوم X دوباره اکتیو (دی‌متیله) می‌شوند. این مناطق اکتیو بیشتر روی بازوی کوتاه وجود دارد.

در مواردی که کروموزوم X در دو بازو q باشد فرد به سندرم ترنر نزدیک‌تر است. (به شرط سالم بودن کروموزوم دیگر) چون q نسبت به p مناطق غیرفعال بیشتری دارد و اگر هر دو بازو q باشد در نتیجه آن کروموزوم تقریباً غیرفعال است. کروموزوم X غیرفعال می‌تواند پدری یا مادری باشد، در نتیجه یک تعداد از سلول‌ها X پدری و تعدادی از سلول‌ها X مادری آن‌ها غیرفعال است که به آن موزایسیسم می‌گویند.

غیرفعال شدن کروموزوم X همیشه به صورت رندوم نیست. اگر هر دو کروموزوم X سالم باشند به صورت رندوم است؛ ولی اگر یکی از دو کروموزوم X غیرطبیعی بود، خلقت بصورتی است که آن کروموزوم X غیرطبیعی غیرفعال شود.

حال اگر غیرطبیعی بودن کروموزوم X بصورتی باشد که مثلاً آن کروموزوم X با کروموزوم 6 جابجایی ژن انجام داده باشند و قسمتی از کروموزوم X روی کروموزوم 6 و بالعکس باشد؛ در این حالت با غیرفعال شدن کروموزوم X غیرطبیعی قسمتی از کروموزوم 6 نیز غیرفعال می‌شود و اینکار باعث نقص و بیماری در فرد می‌شود. در نتیجه در این موارد کروموزوم X طبیعی غیرفعال می‌شود.

اختلالات کروموزومی

(۱) نومریکال: کم و زیاد شدن تعداد کروموزوم

(a) پلی‌پلوئیدی: کم و زیاد بودن یک دسته‌ی کامل (۱ تا ۲۳) از کروموزوم‌ها

(i) تریپلوئیدی: ترکیب اسپرم با یک تخمک

(ii) تتراپلوئیدی: ترکیب یک اسپرم $2n$ با یک تخمک $2n$ (تخمک و جسم قطبی)

(b) آنیوپلوئیدی: کم و زیاد بودن یک یا چند کروموزوم (مثلاً ۲۱) به دلیل جدا نشدن یکی از کروماتیدهای خواهری

از هم

(۲) استراکچرال: ناهنجاری در ساختمان کروموزوم‌ها.

تریپلوئیدی مسئول تقریباً ۱۵ درصد از ناهنجاری‌های کروموزومی در انسان می‌باشد.

آنیوپلوئیدی:

(۱) اتوزومی (Autosomal)

(۲) کروموزوم جنسی (Sex Chromosome)

Sex Chromosome

اسپریم	تخمک	نمایش کروموزومی	وضعیت
$22 + X$	$22 + Y$	$44 + XY$	نرمال
$22 + X$	$22 + X$	$44 + XX$	نرمال
$22 + XX$	$22 + Y$	$44 + XXY$	کلاین فلتر منشا مادری
$22 + XX$	$22 + X$	$44 + XXX$	سندرم کلاین فلتر منشا مادری
22	$22 + X$	$44 + X$	سندرم ترنر منشا مادری
$22 + X$	22	$44 + X$	سندرم ترنر منشا پدری
$22 + X$	$22 + YY$	$44 + XYY$	سندرم جاکوب
$22 + X$	$22 + XX$	$44 + XXX$	تریزومی X
$22 + X$	$22 + XY$	$44 + XXY$	سندرم کلاین فلتر منشا پدری

ترنری که X اش را از پدر می‌گیرد، قدرت کلام بالاتری نسبت به ترنری که X اش را از مادر می‌گیرد، دارد. بنابراین ترنها از این لحاظ از هم جدا می‌شوند.

تریزومی‌ها

• ۲۱، $\frac{1}{800}$ تا $\frac{1}{826}$: سندرم داون. مهم‌تر از بقیه است.

• ۱۸، $\frac{1}{6000}$ تا $\frac{1}{10000}$: سندرم ادوارد

• ۱۳، $\frac{1}{12500}$ تا $\frac{1}{21700}$: سندرم پاتائو

- (۱) کل کروموزوم به جفت ۲۱ اضافه شده باشد.
 - (۲) قسمتی از کروموزوم به جفت ۲۱ اضافه شده باشد. با توجه به میزان و اندازه‌ی قطعه‌ی اضافه شده، شدت سندرم و میزان فنوتیپ آن متفاوت است.
 - (۳) در دو مورد قبل، قبل از لقاح جفت ۲۱ دچار تغییر می‌شود، ولی در این مورد بعد از لقاح و در هنگام تقسیمات تخم جفت ۲۱ دچار تغییر می‌شود.
- هرچه تغییر در جفت ۲۱ به سلول جنینی نزدیک‌تر باشد، فنوتیپ ما کلی‌تر و برای بافت‌های بیشتری است و هرچه از سلول جنینی دورتر باشد، فنوتیپ در بافت‌ها و سلول‌های خاصی ظاهر می‌شود و شدت فنوتیپ کاهش می‌یابد.
- ۲ تا ۴ درصد افرادی که با فنوتیپ تریزومی ۲۱ متولد می‌شوند، واجد موزائیسیم‌اند.

نحوه‌ی نشان دادن موزائیسیم $47,XY,+21 - 46,x$ ←



نشانه‌ی وجود موزائیسیم

موارد مختلف تریزومی ۲۱ بیشتر مربوط به خانم‌هاست. زیرا تخمک زنان از زمان جنینی با افزایش سن دچار تغییراتی می‌شود که ممکن است باعث این بیماری شود.

همه‌ی جنین‌هایی که تریزومی ۲۱ هستند متولد نمی‌شوند.

به نام خدا

جلسه ششم ژنتیک

گروه ۷

چرا بعضی از سندرم داون ها Severe اند و بعضی نه؟

مجموعه ی ژن های انسان اثراتی بر هم دیگر دارد. برای رونویسی از ژن ها نیاز به Transcription Factor ها داریم این Transcription Factor ها خودشان نیز ژن دارند و باید ژن ها بیان شود، بیان ژن این ها نیز تحت کنترل یه سری فاکتور رونویسی دیگر می باشد بنابراین این طور نیست که بگوییم فردی که Full trisomy 21 دارد چرا علائمش با فرد دیگری که سندرم داون دارد متفاوت است ! از آنجایی که تمام ژن های دو فرد با یکدیگر از لحاظ عملکرد و توالی یکسان نیستند ، گاهی اوقات کنترل بیان ژن ها باعث میشود این Over Expression تا حدودی کنترل شود و یا اینکه به حد نهایت برسد، همه ی سندرم داون ها متولد نمی شوند، بعضی ها که خیلی Severe هستند و علائم بالینی زیادی دارد و ایجاد مشکل در Development جنینی می کند، سقط می شود. معمولا اختلالات کروموزومی باعث می شود جنین قبل از ۴ ماهگی سقط شود، (در اختلالات کروموزومی) این گونه نیست که جنین رشد کند و در ۸-۹ ماهگی سقط شود . در عوض بعضی از اختلالات از جمله اختلالات متابولیک هستند که جنین رشد می کند حتی به دنیا می آید و در ۷-۶-۵ روزگی به طور مثال در اثر اسیدوز متابولیک از بین می رود (در اختلالات کروموزومی تفکر اینکه اختلالات دیگه ای هم وجود داشته باشد و علائمش Overlap بکند کمتر حادث می شود).

علائم بالینی سندرم داون بسیار متنوع است و چندین صفحه علایم دارد ، بیماری است که تمام ارگان ها را درگیر می کند و طیف فنوتایپی دارد بنابراین تشخیص این بیماری در سندرم های داون مختلف مشابه نیست. انواع مختلف سندرم داون از لحاظ ژنتیکی داریم (۱) Full تریزومی ۲۱ است (تا ۹۴٪) البته در بعضی از کتابها تا ۹۵ درصد هم نوشته اند. (۲) ۲/۴ موزائیسیم است (بعد از لقاح و در اثر اختلال تقسیمات میتوز، ایجاد شده اند) (۳) ۳/۳ به علت Trans Location می باشد، ۷۵٪ از این نوع Translocation ها ، denovo می باشد یعنی با یک علامت زمینه ای ناشناخته معمولا ایجاد شده و ۲۵٪ familial Trans Location است، یعنی اینکه پدر یا مادر حامل Translocation اند مثلا بین کروموزوم ۱۵ و ۲۱، یعنی کروموزوم ۲۱ و ۱۵ بازوی کوتاه خود را از دست داده اند و به یکدیگر متصل شده اند . یعنی مادر یا پدر یک کروموزوم ۱۵ و یک کروموزوم ۲۱ طبیعی دارد این مادر یا پدر مشکلی ندارد و بالانس است. زیرا بازوی کوتاه کروموزوم ۱۵ و ۲۱ از لحاظ ژنومی فعال نیست (فعال بودنش به این واسطه است که یک پروتئین و فاکتوری را ، کد کند نیست) بنابراین این پدر یا مادر مشکلی ندارند و باروری دارند و می توانند به طور مثال

گامتی را ایجاد کنند که یک کروموزوم ۲۱ طبیعی و یک کروموزوم (۲۱-۱۵) داشته باشد این گامت عملاً ۲ تا کروموزوم ۲۱ دارد، حالا اگر ۲ تا ۱۵ داشت و لقاح صورت می گرفت تریزومی ۱۵ پدید می آمد با ۲ تا کروموزوم ۲۱ (یعنی یک کروموزوم (۲۱-۱۵) جای کروموزوم ۲۱ را گرفته باشد در گامت، پس گامی ایجاد می شود که ۲ تا کروموزوم ۱۵ دارد و ۱ کروموزوم ۲۱ اگر این گامت با گامت سالم لقاح داده شود، زیگوت ۳ تا کروموزوم ۱۵ دارد که در اصل یکی از آنها (۲۱-۱۵) است و ۲ تا ۲۱ که یکی ۲۱-۱۵ می باشد در نتیجه تریزومی ۱۵ داریم که بدنیا نمی آید، پس مادر و پدری داریم که سقط دارند و یا با یک احتمال دیگر جنین شان تریزومی ۲۱ دارد، این Full تریزومی از لحاظ میزان کروموزم است اما از نوع Translocation می باشد نه از نوع Pure تریزومی ۲۱. در این موارد اگر بچه کاریوتایپ شد و یکی از کروموزوم ها (۲۱-۱۵) یا (۲۱-۱۴) یا (۲۱-۱۳) بود باید پدر و مادر رو بررسی کنیم و ببینیم که حامل این Translocation هستند یا نه؟!

۴) ایزوکروموزوم ۲۱، گفته بودیم که ایزوکروموزوم معمولاً فعال نیست در مورد کروموزوم X. ولی کروموزوم های دیگ اینجوری نیست یعنی ۲ تا کروموزوم ۲۱ روی همدیگر است و یک کروموزوم ۲۱ ایجاد کرده عملاً اگه گامتی داشته باشیم ۲ تا کروموزوم ۲۱ داریم.

سوال دانشجو: در Translocation، بازوی کوتاه حذف می شود؟ و چرا با حذف آن مشکلی به وجود نمی آید؟ این نوع ترنسلوکیشن (که بازوهای کوتاه کروموزوم های غیر همولوگ حذف می شوند و دو کروموزوم به هم اتصال می یابند) روبرتسونین ترنس لوکیشن نامیده می شود. در بازوی کوتاه کروموزوم های آکروسنتریک، ژن های مربوط به سنتز rRNA قرار دارد اما از آنجا که ژن های مربوط به سنتز ریبوزومال RNA در کروموزوم های دیگر نیز وجود دارد و این ژنها در کروموزوم هایی که دارای این توالی ها هستند کاملاً مشابه اند (به عبارت دیگر این ژن ها برای هر کروموزوم اختصاصی نیستند) کروموزوم دیگری نیز میتواند وظیفه قسمت حذف شده را انجام بدهد و مشکلی به وجود نیاید همانطور که در بالا گفتیم در مادر یا پدری که این Translocation رو به حالت بالانس دارند مشکلی وجود ندارد. نکته دیگر این که گفتیم تلومر از اتصال دو کروموزوم به یکدیگر جلوگیری میکند، در نتیجه برای اتصال دو کروموزوم به هم لازم است در نقاط اتصال توالی تلومر از بین برود. افراد مبتلا به سندرم داون یک "اسلوپی فوری هد" دارند یعنی بخشی از استخوان nasal فرورفته است، در نشستن مشکل دارند، جلو آمدن helix گوش به سمت بیرون دارند، "ترانسورس کریز" یک خط ممتد در کف دست دارند که در تشخیص بیماری خیلی کمک می کند.

یکی از روش های بررسی سندرم ها خط کف دست و پا و رویش موها، فرم قرارگرفتن چشم ها به صورت قرینه با فاصله یا فاصله کم می باشد.

ژن هایی که Overexpress دارند: (۱) DYRK که یک ژن کنیاز است که Over Expression این باعث می شود در یادگیری مشکل داشته باشیم (memory defect)

(۲) APP (β Amyloid precursor protein) روکد می کند و Overexpression و accumulation آن در مغز باعث آلزایمر می شه، آلزایمر را از ۴۰ سالگی به بعد داریم این افراد اگر سن دار بشوند که با امکانات امروزی به ۴۰ سال می رسند ، علائم آلزایمر را بروز می دهند.

علاوه بر این ژن ها ، «اینتر فرون رستپور» که فعالیت سیستم ایمنی بدن را کم می کند و «سوپراکساید دیس موتاز» که prematurating ایجاد می کند (در حالت Overexpression)

OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man) = یک سایتی است که تمام بیماری هایی که با زمینه ی شناخته شده ژنتیکی به عنوان Chromosomal abnormality هست در این جا وجود دارد، یک دیتابیس دارد که اگر دارید در مورد این ژن صحبت می کنید defect یا overexpression آن چه تاثیری می گذارد و به عنوان رفرنس میتوان از آن استفاده کرد.

M در اینجا مخفف «مندلی» می باشد (توارث کروموزوم میتوکندریایی (سیتوپلاسمی) از قوانین مندل تبعیت نمی کند که برای این ها OMIM نمی آوریم)

- مندل می گفت که یک کروموزوم از مادر می گیریم و یکی از پدر برای همین به توارث کروموزوم میتوکندریایی غیر مندلی می گویند.

تریزومی ۱۸ = سندرم ادوارد و تریزومی ۱۳ = سندرم پاتائو در این ۲ سندرم فقط ۵ درصد تا سال اول زنده می مانند و به سال دوم می رسند و ۹۵٪ از بین می روند.

سندرم ادوارد : ۹۰٪ از این افراد Maternal problem دارند و کروموزوم اضافی را از مادر می گیرند بخاطر سن بالای مادر ، بالای ۹۵٪ تریزومی کامل دارند که تشخیص آن راحت تر است نسبت به افرادی که موزائیسیم هستند. علائم Club foot دارند، انگشتان خود را به حالت خاصی نگه می دارند.

در تریزومی ۱۳: متأسفانه فقط ۱۸٪ (در درسنامه نوشته شده ۸۰٪!!!!) Full تریزومی هستند یعنی وقتی خون محیطی می گیریم ممکنه تریزومی نشان ندهد و فکر کنیم تریزومی نیست ولی اگر از مخاط یا جای دیگر بیوسپی کنند و کاریوتایپ بگیرند تریزومی نشان می دهد (حالت موزائیسیم) و باعث می شود همیشه به راحتی نتوانیم تشخیص بدهیم مگر اینکه علائم بسیار مشخص باشد مثلاً لب شکری و شکاف کام. این افراد می توانند عمل شکاف کام و لب انجام دهند و مشکلات راه رفتن رو با واکر حل کنند.

آنوپلوئیدی های کروموزوم جنسی = (۱) کلاین فلتز (۲) ترنر (۳) جاکوب (۴) تریزومی X

ترنر: Y ندارند و زن هستند معمولاً اختلالات جنسی و بدشکلی های تخمدان دارند، ۴۵٪ دارای کاریوتایپ ۴۵X اند. ۳۰-۴۰٪ موزائیسیم اند. ۲۰-۱۰٪ از بیماران سندرم ترنر deletion یا short arm در X رو ندارند.

۸۰-۶۰٪ از سندرم ترنر به علت عدم حضور X پدری می باشد. بالای ۹۹ درصد قبل از لقاح این X رو ندارند یعنی از دست رفتن کروموزوم X مربوط به گامت هاست.

یک ژن مهم که در علائم سندرم ترنر خیلی تاثیر دارد ژن shox است که در هر دو کروموزوم X و Y وجود دارد و در دوران development جنینی باید از هر دو کروموزوم بیان شود، این ژن ایجاد رشد اندامی می کند افرادی که ترنر دارند (در نتیجه فقط یک نسخه از این ژن را بیان می کنند) قد کوتاه اند ولی کوتوله (dwarf) نیستند، بلکه نسبت به قد مادر و پدر کوتاه تر اند. صورت مثلثی دارند، helix گوش در آنها چرخیده (posterior rotation) ، وب های گردنی شدید دارند (گردن پره دار)، متاتارس ۴ و ۵ کوتاه دارند (انگشت ها کوتاه نیستند، استخوان کف پا در این بخش کوتاه است) ، ناخن به حالت فرورفته ای در انگشت قرار دارد و به حالت مورب فرورفته است . در بعضی از موارد هیدروما داریم ، همه ترنرها به دنیا نمی آیند، پشت دست و پا ادم دارند.

بعضی از ترنرها که مزائیسیم اند ممکن است در سن ۱۶-۱۷ سالگی با اختلالات تیروئید یا تیموس مراجعه کنند، پاتولوژی و نمونه برداری می کنند و می بینند ۴۵X است ولی خون محیطی طبیعی دارند، حالت هایی که تریزومی کامل نیستند دیرتر تشخیص داده می شوند . این افراد آمنوره دارند و پرپود نمی شوند در این شرایط کاریوتایپ می کنند و به سندرم پی می برند.

آیا این افراد میتوانند گامت سالم ایجاد کنند؟ این افراد آمنوره و ovarian disfunction دارند و گامت زایی به این علت مشکل دارد. در واقع افراد مبتلا به سندرم ترنر طیفی از ovarian disfunction را نشان می دهند، در افرادی که موزایسم دارند این علایم خفیف تر است. اگر ovarian disfunction شدید باشد نمی توان برای آنها کاری انجام داد، اما اگر خفیف باشد از نظر تئوری این اتفاق ممکن است.

کلاین فلتر: ۴۵XXY، هیپوگنادیسم، مذکر، از متوسط جامعه قد بلندترند، در بیماری مارفان هم یکی از علائم بلند بودن است ولی در مارفان، هارمونی بین تنه و دست و پاها وجود دارد (تنه و دست و پا متناسب باهم رشد کرده اند) ولی در کلاین فلتر تنه نسبت به دست و پا کمتر کشیده شده و این هارمونی وجود ندارد تستیس کوچک دارند، آتروفی seminiferous tubule دارند و بخاطر این آژنزی و آتروفی استرایم هستند .

تستوسترون در بلوغ کم است ، زیرا اسپرم که در واکنش به هورمون ها تولید می شود خارج نمی شود و با فیدبک منفی سطح هورمون را در دوران بلوغ پایین می آورد و در نتیجه سطح تستوسترون از حالت نرمال کمتر است، Gynecomastia دارند یک سوم این افراد که پستان بزرگ دارند، متمایل اند به سرطان پستان و یکی از دلایل سرطان پستان در جنس مذکر بزرگ بودن پستان می باشد. رویش موها بعد از بلوغ عادی نیست، توده عضلانی کاهش یافته دارند، IQ verbal کمتری دارند. کروموزوم X اضافه رو ۵۰٪ از مادر و ۵۰٪ از پدر می گیرند. نیمی از این افراد سقط شده و بدنیا نمی آیند. ۱۵٪ هم موزائیسیم اند. در کلاین

فلتر حداقل یکی از کروموزوم های X، غیرفعال می شود به این معنا که اگر بیش از دو کروموزوم X داشته باشند، به ازای هر X بعد از اولی غیرفعال شدن داریم ولی چون حداقل ۱۵٪ از این کروموزوم ها فعال باقی می ماند، overexpression داریم و علائم فنوتیپی ایجاد می کند.

فعال بودن حداقل ۱۵ درصد از کروموزوم X در زن سالم ایجاد compenstation (بالانس جنسی بین مذکر و مونث) می کند یک ژن مهم در این مورد shox است که هر دو تای آن باید فعال باشد.

کلاین فلتر علائم زیادی دارد ممکن است فلج پرده دیافراگم را نشان دهند طوری که فشار - و +، قفسه صدری باعث تنفس عادی نمی شود. امفالوسل ممکن است داشته باشند، رویش موهای زنانه دارند.

تريزومی X: تنها تريزومی است که وقتی بچه به دنیا می آید تشخیص آن تقریباً غیر ممکن است. بچه، با قیافه ی سالم و بدون مشکل به دنیا می آید، اما این افراد کم کم در رشد تخمدان ها و تولید تخمک مشکل پیدا می کنند، این افراد طی گامتوژنیز در segregation کروموزوم های X ممکن است به مشکل بر بخورند و عملاً این را به نسل بعدی منتقل کنند (یا به صورت تريزومی یا به صورت کلاین فلتر).

Jacob syndrom: دو کروموزوم Y و یک کروموزوم X دارند. ۹۶ درصد این افراد ظاهر نرمال دارند، آکنه ها ی زودرس شدید روی پیشانی دارند، معمولاً بلند قد هستند ولی نه بلندی کلاین فلتر ها. دیر زبان باز می کنند. ۵۰ درصد مشکلات یادگیری دارند (Learning disability).

دندان های جلویی این افراد خیلی خیلی بزرگتر از حالت عادی است. مشکلاتی دارند که به حساب اختلالات ظاهری گذاشته می شود. آکنه ها و گوش بزرگ دارند و در بعضی موارد این سندرم خیلی با تاخیر تشخیص داده می شود.

abnormal structure را اگر بخواهیم نشان دهیم با ABCDEF... نشان می دهیم. مثلاً اگر Duplication داشته باشیم DEF اضافه میشود، وقتی Inversion داشته باشیم به جای DEF، FED نوشته می شود.

دو نوع ترنس لوکیشن داریم: reciprocal translocation و robertsonian translocation در reciprocal یعنی اینکه اگر یک کروموزوم دهنده باشد، دیگری گیرنده است. اما در robertsonian translocation دو کروموزوم آکروسانتريک بازوهایشان را از دست می دهند و به هم متصل می شوند که نشان دهنده ی تبادل قطعات کروموزومی بین کروموزوم های غیر همولوگ است. مثلاً در reciprocal، 46XX,t(3p,6p) یعنی بین بازوی کوتاه کروموزوم ۳ و بازوی کروموزوم ۶ قطعات جا به جا شده اند، فرقی نمی کند که قطعات مساوی باشند یا غیر مساوی، وقتی جا به جایی از نوع robertsonian باشد میگوییم کروموزوم derivative.

45XY,der(14,21)(q10,q10) یعنی از محل نزدیک سانترومر به هم چسبیده اند. ۵ درصد از سندرم داون هایی که از طریق ترنس لوکیشن ایجاد می شوند بابت این نوع است. به طور مثال اگر در پدر و مادر

یکی robertsonian translocation داشته باشد مثلاً (14,21) از ۶ حالتی که ایجاد می شود، یک حالت نرمال است ، یک حالت بالانس است، یک حالت تریزومی ۲۱ را نشان می دهد (translocation dawn syndrome)، حالت های دیگر عبارتند از تریزومی ۱۴، مونوزومی ۱۴ و مونوزومی ۲۱ که همه ی اینها سقط می شوند. بنابراین از ۶ حالت گفته شده در ۳ مورد (سندرم داون، نرمال یا بالانس) می تواند به دنیا بیاید (1/2 به دنیا می آیند ، 1/6 سالم اند ، 1/6 ممکن است سندرم داون ایجاد شود و 1/3 از نوزادان به دنیا آمده سالم اند) .

Deletion : اگر یک بازو حذف شود مانند بازوی کوتاه کروموزوم ۵، سندرمی به نام cri-du-chat رخ می دهد . بنابراین اگر یک بازو حذف شود ، جنین در مواردی به دنیا می آید ولی با اختلالات بسیار شدید و عقب ماندگی ذهنی . سندرم هایی که microdeletion دارند ، یعنی حذف بسیار کوچک است و development جنینی را دچار مشکل نمی کند، جنین با علایم ارگانی (یک یا چند ارگان) به دنیا می آید. به طور مثال angelman syndrome و prader willi syndrome .

در wolf hirschhorn syndrome بازوی کوتاه کروموزوم ۴ قطع شده است. یکی از علایم این بیماری تنگی شاخه صعودی آئورت است .

subtelomeric rearrangements : گاهی اوقات یک deletion خیلی کوچک در ساب تلومر می تواند مشکلات زیادی را به وجود آورد. اگر از شما پرسند accumulation ژنی در کدام قسمت کروموزوم بیشتر است، پاسخ ساب تلومر است . (accumulation ژنی در اطراف سانترومر از همه جا کمتر است)
uniparental disomy : یعنی یک والد ۲ کروموزوم بدهد و والد دیگر کروموزوم ندهد که البته نادر است. در این حالت هر دو کروموزوم از پدر یا مادر است . اگر متعلق به مادر باشد می گوئیم maternal uniparental disomy در اینجا نیز باز دو حالت داریم : به طور مثال مادر دو نسخه از کروموزوم ۷ پدری خود را در گامت بگذارد به این حالت می گوئیم isodisomy . اگر مادر یک کروموزوم ۷ پدری و یک کروموزوم ۷ مادری خود را در تخمک بگذارد ، می گوئیم :

maternal uniparental heterodisomy

اهمیت این مسئله این است که اگر به طور مثال پدر این خانم سیستمیک فایبروزیس داشته باشد مثلاً روی کروموزوم ۷ و این مادر ۲ کروموزوم ۷ پدری اش را به فرزندش بدهد، این فرزند مبتلا به سیستمیک فایبروزیس می شود، از آنجاییکه این بیماری مغلوب است و باید دو آلل مغلوب باشد تا به این بیماری مبتلا شود ، شجره نامه نمی تواند ابتلا شدن این کودک به سیستمیک فایبروزیس را توجیه کند، در واقع به دلیل isodisomy این اتفاق رخ داده است .

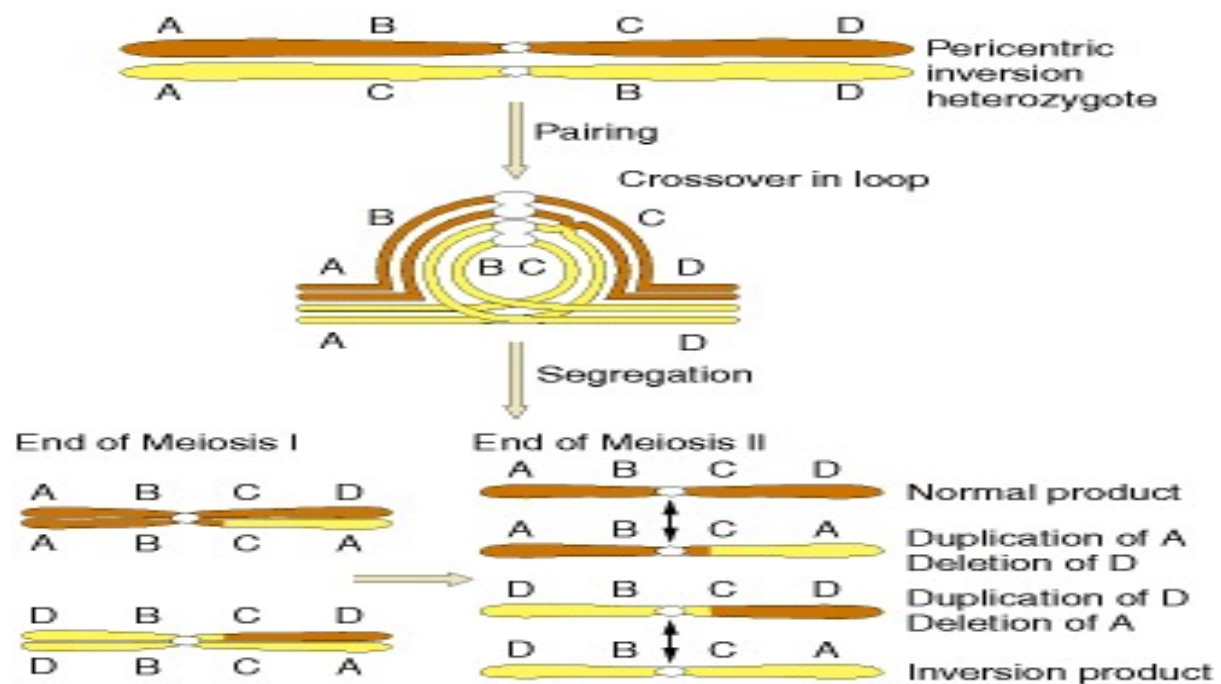
Duplication : اگر اطراف سانترومر رخ دهد، خیلی اهمیت ندارد و علامت فنوتیپی نمی هد . هر چه از سانترومر دورتر شویم علایم بالینی دارد.

ring chromosome : کروموزوم های حلقوی اگر ایجاد شوند، غیر فعال اند و در تقسیم شرکت نمی کنند در نتیجه باعث ایجاد مونوزومی می شوند.

Inversion : دو نوع است pericentric , paracentric inversion

Pricentric یعنی اطراف سانترومر و para یعنی دور.

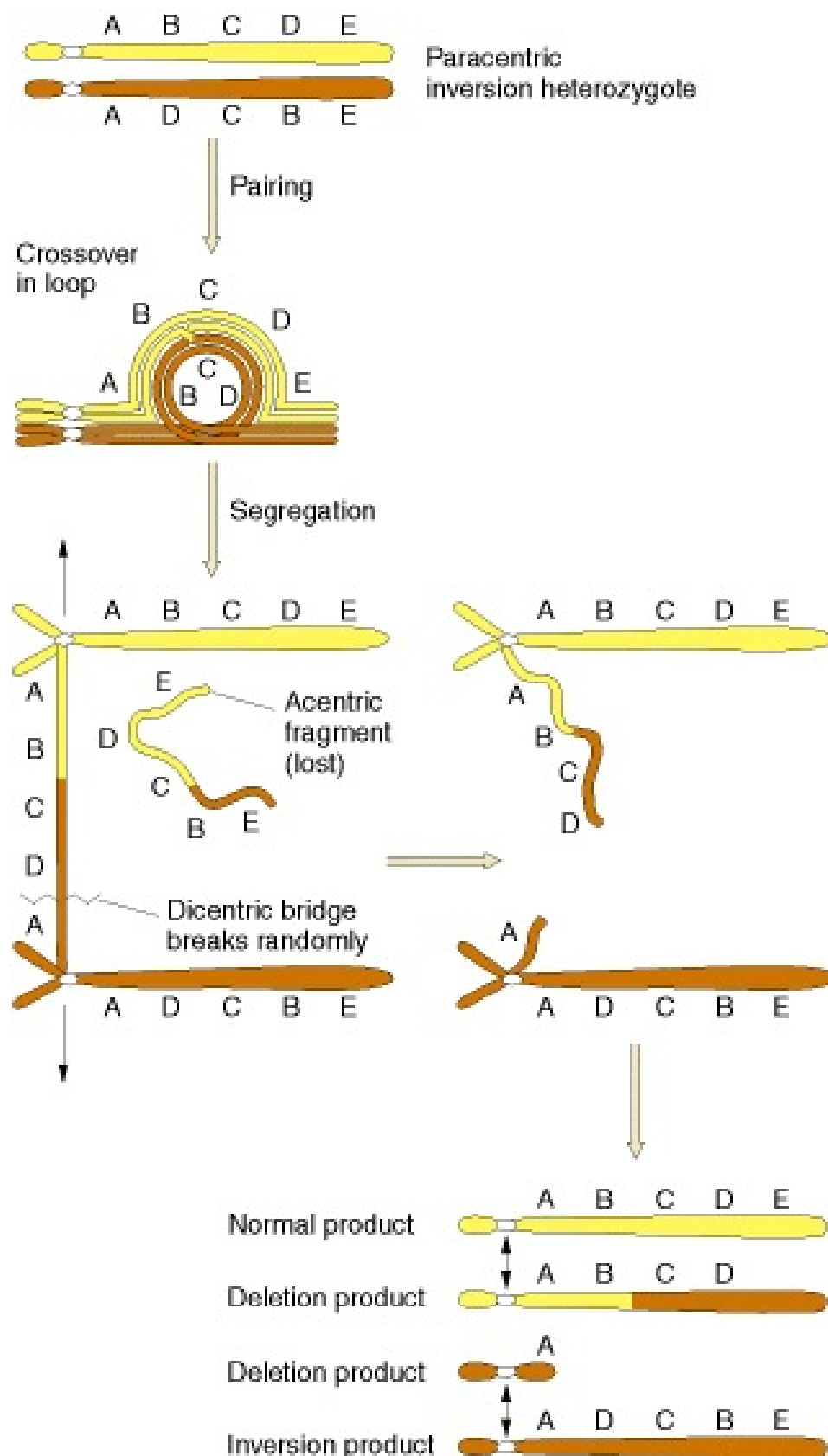
در کراسینگ اور در مادر یا پدر اگر یکی از کروموزوم ها pericentric inversion باشد ، حاصل آن 4 حالت می شود . (اسلاید استاد در دسترس نیست . شکل های زیر از کتاب ژنتیک گریفیث برداشته شده .)



در paracentric inversion دو حالت dicentric , acentric پدید می آید (شکل صفحه بعد) اما در pericentric inversion دو حالت deletion and duplication ایجاد می شد ، در هر دو (pericentric , paracentric inversion) یک حالت سالم و یک حالت inversion نیز داریم.

(پاراگراف بالا خیلی مهم است)

در شکل قسمتی که کروموزوم بدون سانترومر تشکیل میشود ، از آنجاییکه این کروموزوم در تقسیم شرکت نمی کند ، مونوزومی پدید می آید.



بیشتر موارد prader willi و angelman syndrome ، deletion است . imprinting یعنی پدری و مادری با یکدیگر تفاوت دارند ، یعنی اگر مثلاً یک ناحیه از مادر بیاید سندروم آنجل من ایجاد میشود ، در این بیماری فرد نسبتاً لاغر یا متوسط و دارای اختلالات نوروموتور (حرکتی عصبی) است . اما در اگر همان ناحیه از کروموزم پدری بیاید سندرم پرایدر ویلی پدید می آید که فرد مبتلا چاق، فربه و دارای اختلالات متابولیک است .

تکامل

تکامل دو مفهوم دارد، یک مفهوم در سطح سلولی و یک مفهوم در سطح ارگانیسم ها (موجودات) . در سطح سلولی یعنی یک سلولی بتواند در طی روند تکثیر یا تقسیم خود ، خود را با محیط اطراف fit کند ، مثال : ویروس ایدز اگر فقط تقسیم انجام دهد ، نهایتاً توسط سیستم ایمنی شناسایی می شود . اما مشکل اینجاست که ژنوم این ویروس ده هزار باز دارد و در هر ۵۰۰۰ نوکلئوتید آن در هر تقسیم، یک تغییر نوکلئوتیدی (یک SNP) ایجاد می شود . یعنی در هر تقسیم دو تغییر نوکلئوتیدی . این تغییر باعث می شود که سیستم ایمنی سیستم ایمنی بعد از چند تقسیم دیگر این ویروس را شناسایی نکند. تکثیرش نیز خیلی سریع است . در واقع این ویروس توانسته، با یک تکاملی که در خود ایجاد کرده، خود را با محیطش fit کند و جلوی از بین رفتن خودش را بگیرد .

در دستگاه ایمنی B-Cell ها در واقع به گونه ای خود را متکامل می کنند طی روندی این سلولها بعضی آنتی بادی ها را بیان می کنند تا بتوانند در مقابل آنتی ژن ها مقابله کنند . اگر این سلول این قابلیت را نداشت و همیشه یک نوع آنتی بادی تولید می کرد، عملاً تکامل سیستم ایمنی که توسط این سلول باید جلو برود ، به وجود نمی آمد و موجود از بین می رفت . این باعث شده ما برای هر آنتی ژن یک کلون یا مجموعه ای از B-Cell ها را داشته باشیم که آنتی بادی اختصاصی تولید کنند . این کلون ها مانند طبقه بندی حافظه ما هستند . همانطور که یک فرد ۷۰ ساله ممکن است ۳۰ سال قبل را به یاد آورد سیستم ایمنی نیز وقتی یک آنتی ژن چندین سال بعد مجدداً وارد بدن شود، بدن دوباره از نو سلول آداپته و آنتی بادی تولید نمی کند . بلکه در کلون ها می گردد و اگر کلون اختصاصی برای آن آنتی ژن وجود داشت کلون مناسب را سریع تکثیر می دهد . این باعث می شود که حمله آنتی ژن طول نکشد و بدن بلافاصله مبارزه کند . اما سلول های خاطره عمری حدود ۴۰ سال دارند . بنابر این یک فرد ۴۰ ساله که ۴۰ سال قبل با آنتی ژن مواجه شده الان می تواند مقابله کند ولی یک فرد ۷۰ ساله اگر الان با آنتی ژنی که که ۶۰ سال پیش با آن برخورد کرده ، مجدداً برخورد کند ، به دلیل از بین رفتن سلول های خاطره طول می کشد تا مبارزه کند . به همین دلیل می گویند در افرادی که سنشان بالاست ، در صورت رخ دادن حمله میکروبی ، دارویی بدهیم که در مراحل اولیه بیماری بتوانند مقابله کنند تا سیستم ایمنی زمان پیدا کند تا فعال شود.

فرضیه تکامل: داروین به سرزمین هایی رفت و بقایای موجودات آن مناطق را بررسی، یادداشت برداری و با یکدیگر مقایسه کرد و در نهایت کتابی منتشر کرد در رابطه با تغییرات موجودات روی زمین، به فاصله ی یک سال مندل نیز کتاب خود را چاپ کرد، این دو کتاب های خود را برای یکدیگر پست کردند ولی هیچ کدام کتاب دیگری را نخواندند، اگر مطالعه می کردند، نگرششان در رابطه با توارث فنوتیپ ها و تکامل موجودات متحول می شد و ما زمانی را به صورت آزمون و خطا طی نمی کردیم.

هیچ سندی نداریم که بتواند ۶ میلیون سال حلقه ی مفقوده بین انسان امروزی و انسان اولیه (*human-likes*) را توجیه کند. برداشت این است که چون نظم حاصل از تکامل موجودات تا رسیدن به حلقه ی مفقوده، دارای هارمونی و هماهنگی است، مانند این است که شما یک ساختمان را در نظر بگیرید، اگر یک مهندس را بیاورید، چشمش را ببندید و سالن طبقه یک را به او نشان دهید، سپس دوباره چشمش را بسته و به مکان های مختلف ببرید و در نهایت طبقه ۶ همان ساختمان را به او نشان دهید، به شما خواهد گفت مکان های فیزیکی مختلفی بود اما سازنده ی آنها یک فرد است.

۴/۵ میلیارد سال پیش زمین ایجاد شد. اولین RNA ۴/۲ میلیارد سال پیش در دمای بالا ساخته شد. RNA منشا ژنتیکی DNA است زیرا می تواند به تنهایی از روی خودش بسازد و همانند سازی کند (تنها مولکولی است که توانایی خود همانند سازی دارد). اولین موجودی که اطرافش یک پوششی داشت و می توانست تکثیر شود ۳/۷ بیلیون سال پیش به وجود آمد.

درخت فیلوژنی تعدادی شاخه و تعدادی گره دارد، فاصله گره ها از یکدیگر نشان دهنده ایجاد یک موجود از موجودی دیگر است هر چه فاصله گره ها از یکدیگر بیشتر باشد یعنی زمان بیشتری نیاز داشته تا آن موجود به وجود بیاید.

۱/۴ بیلیون سال پیش یوکاریوت ها ایجاد شدند که هسته داشتند. ۱ میلیارد سال پیش اجداد گیاهان و جانوران پدید آمدند. ۷۰٪ تا ۹۵٪ موجودات طی 4-6 انقراض گروهی از بین رفتند. و موجودات کوچک که توانایی تحمل شرایط را داشتند باقی ماندند (مانند موش ها) این موجودات تولید مثل کردند و جهش یافتند و انقدر تحول یافتند تا به انسان امروزی رسیده است!

بنابراین ۶ میلیون سال برای تبدیل گونه *human-like* به انسان امروزی زمان بسیار بسیار کمی است و در این زمان کم *new creation* ساده تر است برای ایجاد یک تحول عظیم.

مثال: خارپوست و ستاره دریایی شباهت بسیار زیادی به یکدیگر دارند و تفاوت آنها فقط در ارتباط یک ژن هماهنگ کننده (که در هر دو حضور دارد) با ژن های دیگر در ستاره دریایی است.

بین ما و موش، بالای ۸۲٪ شباهت ژنی وجود دارد. بین ما و یک آمریکایی، حدود ۹۹/۹٪ شباهت ژنی وجود دارد و همه این تفاوت بین انواع گونه ها، به خاطر تفاوت معنا دار چند ژن تنظیم کننده است.

هنوز هم نتوانسته اند، یک سیر تکاملی کامل بین موجودات پیدا کنند تا به انسان امروزی برسند. از آنجا که گونه های متعددی داریم ، اگر تغییرات به تدریج شکل گرفته باشند تا به انسان امروزی برسند انتظار داریم در این ۶ میلیون سال حالت های حد واسط این تغییرات را در موجودات دیگر ببینیم اگر دیده نشود این فرضیه در ذهن پدید می آید که این تفاوت یک تفاوت کلیدی یا ناگهانی است. چه اتفاقی افتاده است که این همه تفاوت فقط در یک موجود پدید آمده و در هیچ موجود دیگری این تفاوت ها ایجاد نشده ؟ در واقع تلاش های زیادی انجام شد تا موجودی پیدا شود که در روند تکامل این ۶ میلیون سال وجود داشته باشد اما این مسیر را کامل طی نکرده باشد، ولی تاکنون موفق نشده اند.

شامپانزه از لحاظ مغزی ۹۹ درصد به ما شباهت دارد (از آنجایی که ما می توانیم کل ژنوم را تعیین توالی کنیم ، این اعداد به طور دقیق به دست آمده اند در گذشته تنها از روی فنوتیپ ها درصد تشابه را حدس می زدند) بنابراین اهمیت بحث تکامل این است که شما به عنوان یک پزشک وقتی دارید به بیماری و فنوتیپ های اطرافتان نگاه می کنید، ممکن است یک ارتباط معنادار بین بعضی از این فنوتایپ ها تحت همان harmony وجود داشته باشد. به طور مثال علت اینکه ژنوم ما انقدر طولانی و بزرگ است در صورتی که فقط حدود ۲٪ آن به صورت فعال است، چیست؟

حدود ۲۰٪ از ژنوم ما حاصل نفوذ ژنوم رتروویروس به داخل ژنوم ما است یعنی ما این قابلیت را پیدا کردیم که یک ارگانیسم ساده بتواند یک قطعه از ژنومش را به داخل ژنوم ما وارد کند و اتفاقی برای ما نیفتد در عوض این قابلیت را برای ژنوم ما ایجاد کرده که از بزرگ شدن ژنوممان استفاده کنیم که اگر یک زمانی محیط مان به هر دلیلی تغییر کرد، گونه ما این تغییرات را تحمل کند و باقی بماند ما یک سری ژن داریم که قبلا فعال بودند، اما توانایی بیانشان از آنها گرفته شده (pseudogenes) و بالعکس . ما میتوانیم با مطالعه تکامل موجودات بفهمیم توالی هایی از ژنوممان که بیان نمی شوند ، چه قابلیت هایی دارند که اکنون خودشان را نشان نمی دهند اما اگر این ژن ها را فعال کنیم باعث سازگاری و fitness می شود.

عمر فسیل قدیمی ترین موجودی که شبیه انسان بوده است ۲۰۰ هزار سال است و از آن زمان قبل تر موجوداتی شبیه ما پیدا نکردند.

(تکامل را به عنوان یک پزشک می خوانید تا اگر یک دارو یا یک پاتوژن به بدن وارد شود و تغییر ایجاد کند، این تغییر نباید سبب شود که همانندسازی در آن موجود به گونه ای تغییر کند که موجود از حد red zone گونه ی خودش خارج شود ، در غیر این صورت، می تواند از کنترل خارج شود)

گفتیم یکی از عواملی که سبب زیاد شدن طول ژنوم ما در طول تکامل شده است، رتروویروس ها هستند، عامل دیگر transposon element ها هستند (وقتی ما از روی DNA رونویسی می کنیم، گاهی ممکن است توالی m-RNA از هسته خارج نشود (non coding m-RNA) و با آنزیم رونوشت بردار معکوس (reverse transcriptase)، یک cDNA ساخته می شود (مثل یک قطعه ی ویروسی عمل می کند) اگر این cDNA به داخل یک کروموزوم مثلا به داخل بازوی کوتاه کروموزوم شماره ۱، وارد شود و نفوذ کند، باعث میشود عملا duplication داشته باشیم. فرض کنید میزان این duplication به گونه ای باشد که وقتی یک کروموزوم شماره یک کنار کروموزوم همولوگ خود قرار می گیرد هنگام میوز، کراسینگ اور نابرابر انجام می شود و تکه ای از این قطعه cDNA به کروموزم دیگر منتقل شود. (دقت کنید که اگر به طور مثال محل اصلی این ترانسپوزون کروموزوم یک باشد این احتمال نیز وجود دارد که cDNA حاصل به داخل کروموزوم دیگری مثلا کروموزوم ۶ وارد شود، در این شرایط می بینیم که به طور مثال توالی قسمتی از کروموزوم شماره ۱ با کروموزوم شماره ۶ کاملا یکسان است) گاهی موجود با این افزایش ژنوم می میرد و گاهی زنده می ماند. آنهایی که زنده می مانند هم دو دسته می شوند، یا فنوتیپ ایجاد می کنند (بدشکلی یا بیماری) که اینها هم در نهایت می میرند و گروه دیگر که سالم می مانند. به همین دلیل است که ما از بعضی ژن ها یک تا چند کپی در سراسر ژنوم داریم!

گاهی ممکن است که رترو ویروس یا همین cDNA هایی که به ژن نفوذ کردند، در قسمت پروموتور می روند و باعث خاموش شدن یا روشن شدن یک ژن می شوند. گفته می شود که تغییرات محیط باعث می شود که بعضی از این تغییرات در ژنوم به نفع موجود باشد و موجود بماند و اگر به نفع موجود نباشد از بین برود.

یک اصطلاحی هست به اسم genetic drift به معنای رانش ژن است. یک دفعه قسمتی از ژنوم به سمت یک تغییر حرکت کند. مثال: افزایش آدم هایی با ژنومیک ناخالص آنمی داسی شکل در مناطق مالاریا خیز (تاثیر محیط است روی تغییر ژنوم). یک تغییر در ژن و آمینو اسید سبب می شود که یک گونه باقی بماند یا از بین برود. (تغییر در ژن کدکننده هموگلوبین و تبدیل شدن پروتئین آن به دو زنجیره α و β - در ساختار ژن تغییر ایجاد شده و تمایز ایجاد شده ولی تغییر توالی خیلی کمتر بوده. و نزدیک به هم است. به طور

مثال کروموزوم ۱۵ مایوگلوبین ایجاد می کند. کروموزوم ۷، بتا گلوبین ایجاد می کند و کروموزوم ۱۱، ۱۵، ۱۷ آنها گلوبین ایجاد می کند).

در دوران جنینی کیسه زرده ، گلبولین تولید می کند، بعد طحال و کبد جنینی این مسئولیت را می پذیرند و کم کم مغز استخوان وارد عمل می شود.

نوزادی که به دنیا می آید، علاوه بر مغز استخوان، کبدش هم هنوز در زمینه گلبول قرمز سازی فعال است، یعنی از دوران جنینی تا تولد و بلوغ در هر موجود ما نوعی تکامل یا maturity می بینیم.

پس اگر ما تاریخچه یا سوابق یک تغییر را در بدن بدانیم، می توانیم بفهمیم این تغییر ژن به سمت بقای ماست (fitness) یا به نفع انقراض ما (eradication) ، یا حتی تغییری که در گونه های دیگر مثل ویروس ها ایجاد می کنیم، آن گونه ها را به چه سمتی می برد؟ و باید همواره کنترل کنیم که با تغییراتی که ایجاد میکنیم، این گونه ها در آینده مزاحم نسل ما شوند . ویروس ها خطر خیلی بزرگی به حساب می آیند ، موجودات دیگر نیز که ما از آنها تغذیه می کنیم و ... نیز حائز اهمیت هستند .

همه این مسائل که تا اینجا گفتیم به صورت زیر طبقه بندی می شوند :

۱- طبقه بندی موجودات از نظر ژنتیکی

۲- طبقه بندی ارگانیسم ها یا ارگانل ها از نظر ژنتیکی و ارتباط بین آن ها

۳- ژنوم انسان به عنوان یک کمپلکس و بررسی آن و ارتباطش با سایر ژنوم ها

* شباهت مگس سرکه با انسان ۳۳٪ است!

ما در بدن خودمان یک سری تغییرات به نام somatic mutation داریم به طور اختیاری نه اجباری در سیستم ایمنی این اتفاق می افتد (برای تولید آنتی بادی و رسپتور) برای این اتفاق یک بک گراند لازم داریم که آن همان germ line diversity (تغییری که منجر به انتقال شود) بقیه قابل انتقال نیستند برای همین است که بیماری ها به کودکان منتقل نمی شوند (فقط ۵٪ سرطان سینه ممکن است منتقل

شود) حالت دیگر مربوط به آن فرد است و انتقال نمی یابد. قسمت بعدی combinatorial joining است وقتی چند قسمت از ژنوم بتوانند با هم ترکیب شوند مثلاً توالی های تولید کننده MHC در بدن (در بازوی کوتاه کروموزوم ۶ است ژنش که به صورت اگزون و اینترون نیست. به صورت قطعاتی اند) segment) که این قطعات می توانند کنار هم قرار بگیرند و بعد بیان شوند.) توضیح کامل این پاراگراف در جلسه آخر ایمونولوژی آمده است ، که منجر به تنوع بسیار زیاد BCR , TCR می شود.

به نام خدا

جزوه جسله ۷: ایمنوژنتیک

چه می‌شود که تنوع ایمنی به وجود می‌آید؟ و چرا آنتی بادی های متفاوت در برابر بیماری های گوناگون ایجاد می‌شود؟

در تمام انسان ها منطقه ای در بازوی کوتاه کروموزوم ۶ وجود دارد که در پیوند و رد پیوند مؤثر است که به آن HLA گویند.

پستانداران یک ناحیه در ژنومشان دارند به نام MHC که در پیوند و ردان تأثیر دارند. در انسان ها همان سیستم HLA می‌باشد که در روی گلبول های سفید قرار دارد اگر این نواحی حذف شوند دفع پیوند انجام نمی‌شود.

HLA انواع مختلفی دارد A,B,C,D و.... که A,B,C شباهت ساختاری اساسی با هم دارند و با D تفاوت اساسی دارند.

A,B,C یک زنجیره مونومر دارد پروتئین هایش در صورتی که D یک پروتئینی که زنجیره هتروداایمر دارد یعنی دارای تکه های مختلف می‌باشد که نشان دهنده آن است که از ژن های متعددی ساخته شده به همین علت HLA ها در کلاس های مختلف طبقه بندی می‌شوند.

کلاس ۱: A,B,C,.....

کلاس ۲: DP,DQ,DR:..... همه با D شروع می‌شوند

کلاس ۳: ژن هایی که در بین ۱ و ۲ هستند کلاس ۳ را به وجود می‌آورند در پیوندها زیاد مؤثر نیستند ولی در سیستم ایمنی نقش دارند مثله سیستمه کمپلمان و ۲۱ هیدروکسیلاز.

-از HLA تایپینگ می‌توان در تشخیص هویت استفاده کرد.

کلاس ۱ بسیار متنوع است و از اکثر آنها زنجیره پروتئینی نداریم.

تعداد ال‌ها و ژن‌های کلاس ۱ از ۲ بیشتر است.

ال‌های مختلف ناشی از تنوع نوکلئوتید هاست.

هاپلوتیپ به همراهی چند ژنه مختلفی که کنار هم قرار گرفته و بایک توالی ثابت کنار هم قرار گرفته‌اند گویند. و در HLA کاربرد دارند. مثلاً افرادی که HLA-A1 را دارند همراهه HLA-BW42 قرار گرفته.

هر چه قدر فاصله ژن‌ها بیشتر باشد احتمالاً این‌که کراسینگ آور رخ بده بیشتر است.

هاپلوتیپ‌ها می‌توانند مکان‌های کروموزومی مختلفی داشته باشند.

HLA کلاس ۱ تنوع بیش از هزار ال‌ها هرچه ال‌ها مختلف باشد یعنی تنوعش زیاد است و به همین به عنوان یک PATTERN TEST می‌تواند در نظر گرفته شود.

کلاس ۱ در واکنش به پپتیدهایی که به صورت اندوژن هستند مثل پپتیدهای خودی و ویروسی و توموری واکنش می‌دهند.

HLA می‌آید انتی ژن را شناسایی می‌کند HLA در وسطه خودش یکانتی ژن باندینگ کلفت (برش) دارد. انتی ژن به آن چسبیده و در سطح سلول پرزنت می‌شود. در سطح سلول مسئول شناسایی اگر HLA های کلاس ۱ باشند توسط Tهای سایتوتوکسین شناسایی می‌شوند.

خصوصیت اصلی Tها مارکر پروتئینی در سطح سلول دارند.

کلاس ۱ در سطح تمامی سلول‌های بدن وجود دارند ولی کلاس ۲ در سطح همه نیستند در سطح بعضی سلول‌ها که ATC نامیده می‌شوند مثل ماکروفاژها انتی ژن را که شناسایی در سطح سلول بعد از اینکه پرزنت کردند توسط T HELPER ها شناسایی می‌شوند ولی دستور مرگ سلول را نمی‌دهند بلکه انتی بادی‌ها را فرا می‌خوانند.

ساختار کلاس ۱ به صورت یک مونومره یک پروتئین واحد که دومین‌های مختلف دارد (آلفا ۱ و آلفا ۲ و آلفا ۳).

ساختار کلاس ۲ دوتا پروتئین هتروداایمر هستند (آلفا ۱ و آلفا ۲ و بتا ۱ و بتا ۲)

کلاس ۱ باید به چیزی تکیه کرده تا پرزنت شود در سطح سلول این کاره عصا مانند را برای کلاس ۱ بتا دو میکروگلوبین انجام می‌دهد. در صورتی که نباشد نقض شدید سیستم ایمنی رخ می‌دهد.

بتا دومیکرو گلوبین ژنش در کروموزوم قرار گرفته است (آلفا ۱ و آلفا ۲ و آلفا ۳) هر کدوم ۳۰ آمینو اسید کل وزنه پروتئینی ۴۵ کیلو دالتون است.

انتی ژن بایندینگ که از ناحیه آلفا ۱ و آلفا ۲ تشکیل شده می‌تواند به شکل های گوناگون باشد (دایره و مثلث و.....) و انتی ژن خاصی را شناسایی می‌کند. در سطح ژنومیک اگزون شماره ۱ لیدر سکانس را می‌سازد مثلاً زمانی که می‌خواهد از غشای اندوپلاسمی عبور کند مجوز ورود آن توسط پپتید های کوتاهی که در اولش قرار گرفته کد می‌شود. اگزون بعدی دومین آلفا ۱ را می‌سازد بعدی آلفا ۲ بعدی آلفا ۳.

اگزون پلی مورفیک (چند شکلی) یا متنوع تر شماره ۲ و ۳ است. چون انتی ژن بایندینگ بسیار متنوع و بنابراین تنوع شکلی مختلف در دومین آلفا ۱ و آلفا ۲ می‌باشد در نتیجه در سطح ژنومیک اگزون هایی که آلفا ۱ و آلفا ۲ را کد می‌کنند متنوع تر است.

مکان‌هایی می‌باشند که باید ثابت بمانند و نباید تغییر کنند مانند بتا دی میکروگلوبین باید در طی تکامل حفاظت شده باشد.

در نتیجه در یک پروتئین می‌گردیم در مکان‌هایی که قرار است به جایی متصل شوند احتمال می‌دهیم بدون تغییر باشند. که در اینجا اگزون شماره ۴ می‌باشد.

در مورد HLA Typing تکنیک های متعددی وجود دارد، در قدیم از مدل سرولوژی استفاده می‌کردند اما امروزه از کارهای مولکولی بهره می‌برند. نوعی از HLA Typing وجود دارد که بر اساس سکانس انجام می‌گیرد که به آن High Resolution HLA Typing می‌گویند. امروزه با تکنیک SPT(sequence pace technique) توالی HLA1 دیان ای فرد بیمار را سکانس می‌کنند و در نتیجه بر اساس تک تک نوکلئوتید های سکانس مشخص می‌شود که این توالی، مربوط به کدام آدم است. به دلیل همین قدرت تفکیک بالا به آن High Resolution HLA Typing می‌گویند. البته به دلیل هزینه بالای این کار از اگزون های ۲ و ۳، به دلیل تنوع بالای آن‌ها در بین مردم نسبت به اگزون های دیگر، بیشتر استفاده می‌کنند.

نکته: موش‌هایی که بتا ۲ میکروگلوبولین ندارند دچار نقص ایمنی شدید می‌شوند.

نکته: محل دقیق اتصال B2M به HLA آلفا ۳ می‌باشد.

چگونگی بیان شدن ویروس بر سطح سلول توسط HLA1

ویروس وارد شده به سلول توسط پروتئوزوم به قطعات کوچک‌تر تبدیل می‌شود و سپس این قطعات پروتئینی به شبکه اندوپلاسمی می‌روند. در آن جا به قسمت Antigen Binding Cleft آلفا ای که از قبل در شبکه تولید شده است متصل می‌شود. سپس این مجموعه به جسم گلژی رفته و توسط آن در سطح سلول بیان می‌شوند. در آخر نیز توسط سلول های T cytotoxic شناسایی می‌شوند.

نکته: یک سری ژن ها هستند مثل X یا G یا C که کار خاصی را در بحث پیوند انجام نمی‌دهند. مثلاً HLA G در کار NK cell تأثیر دارد و یا به دلیل این که این ها از سلول های تروفوبلاستی و در حقیقت از جفت ترشح می‌شوند، وجود HLA G در افرادی که سقط جنین مکرر دارند مؤثر می‌باشد. همچنین در سایر بیماری های هنگام زایمان مثل Pretend Lable این نوع HLA تأثیرگذار خواهد بود.

نکته: در بین مرز HLA1 و HLA2 ژن هایی به نام MIC1,2,3 وجود دارند که در کار NK cell ها موثرند.

نکته: در هنگام بارداری سطح سیستم ایمنی به طور کلی طی مسیری بسیار پیچیده پایین می‌آید

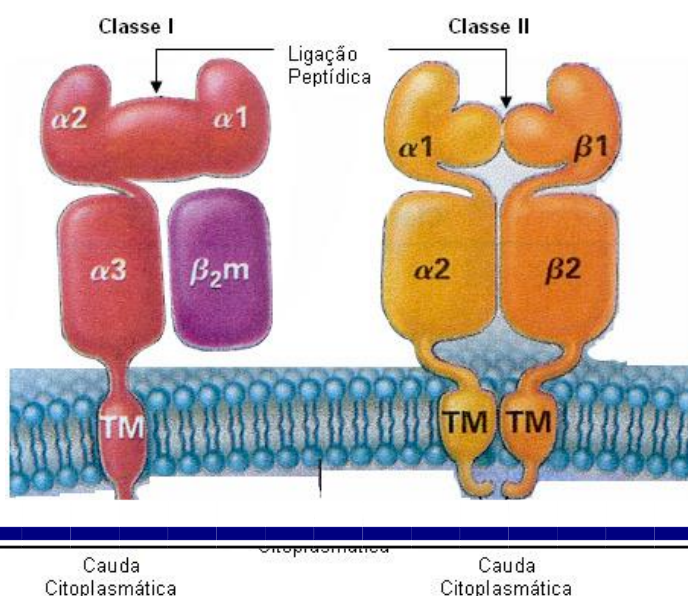
HLA2:

این گروه از HLA ها از Apc ها (ماکروفاژ، دندریتیک سل، B-cell) ترشح می‌شوند. ساختاری دیمری شکل، ۲ زنجیره به نام های آلفا و بتا دارند. به پروتئین های خارج سلولی مثل پروتئین خودی و باکتریایی پاسخ می‌دهند. آنتی ژن را در سطح سلول بیان کرده و توسط T Helper(CD4+) شناسایی می‌شوند.

نکته: برای هر زنجیره آلفا و بتا یک سری ژن جداگانه داریم که در هر سری، اگزون ۱، پروتئین سکانس، اگزون ۲، آلفا (بتا) ۱، اگزون ۳، آلفا (بتا) ۲ و بقیه اگزون ها بقیه پروتئین های سیتوپلاسمی و غیره را می‌سازند. طبق معمول اگزون ۲ هر سری ژن از همه متنوع تر خواهد بود زیرا محل اتصال آنتی ژن است.

چگونگی بیان آنتی ژن توسط HLA 2

آنتی ژن بعد از ورود به سلول در لیزوزوم تجزیه می‌شود. HLA2 در شبکه



آندوپلاسمی در حال ساخت است. بعد از ساخت HLA, زنجیره خاصی همانند یک دهان‌بند عمل کرده و بین دو زنجیره آلفا و بتا چنگک می‌اندازد و Antigen Binding Cleft را تا موقع اتصال به آنتی ژن در گلژی می‌پوشاند. بعد در گلژی HLA و آنتی ژن باهم ترکیب شده، و گلژی باعث بیان آنتی ژن در سطح سلول می‌شود. و در آخر T Helper آن را شناسایی کرده و آنتی بادی‌ها را برای نابودی آن فرا می‌خواند.

نکته: ژن‌هایی به نام LMP و TAB در ناحیه ژن HLA2 قرار گرفته‌اند که آن‌ها نیز در ایمنی نقش دارند. LMP یک نوع پروتئازوم هست که پروتئین خارجی را تجزیه می‌کند. TAB هم در غشاء شبکه آندوپلاسمی به تکه‌های پروتئینی اجازه ورود به شبکه را می‌دهد.

نکته: ژن‌های دیگری هم مانند HLA Dp, Dm, Do هستند که آن‌ها نیز در این فرآیندها نقش دارند. مثلاً، Dm وقتی که به Dr متصل می‌شود باعث جدایی دهان‌بند می‌شود. یا مثلاً Do آنتی ژن‌های ریزشده را برای Dr می‌آورد.

نکته: در HLA2 آنتی ژن در گلژی، در حالی که در HLA1 آن‌ها در شبکه آندوپلاسمی به HLA متصل می‌شوند.

نکته: هر زنجیره پروتئینی، دارای یک سری ژن است در نتیجه HLA2 دارای دو سری ژن می‌باشد، یک سری برای آلفا و یک سری برای بتا.

نکته: در سری B ژن HLA2 علاوه بر b1 که بتا ۱ را می‌سازد b3,4,5 هم می‌باشند که در موارد معدودی بیان شد و با آلفا، بتا ۲۴, ۳ همراه شده و در ساختار HLA2 قرار می‌گیرند. کاربرد این ژن‌ها در تأیید کردن کار آزمایشگاهی خودمان می‌باشد زیرا اگر فلان ژنی در سلول بیان شود، آن ژن‌هایی که هاپلوتایپ هستند

نیز بیان می‌شود مثلاً، آلل‌های مختلف Drb1 مثل آلل ۱۱ ویا ۱۳ ویا O3 به طور مستقیم به b3 چسبیده‌اند حال اگر فرمول ژنی HLADrb1 کسی O3/11 است می‌توانیم بگوییم که b3 آن فرد نیز مثبت خواهد بود. برای بیان b4 آلل‌های Drb1 باید O4,7,9 و برای b5 آلل‌های Drb1 باید O15,16 و بیماری O, باشند. تفاوت آدم‌ها در وجود این ژن‌ها نیست بلکه در بیان این ژن‌ها می‌باشد. اگر ژنی هم b1 و هم b3 داشته باشد بعضی از آلفا‌ها با بتا ۱ و بعضی از آن‌ها با بتا ۳ همراه می‌شوند.

HLA3

ژن این نوع بین دو نوع قبلی است. در پیوند نقش خاصی ندارند. اهمیت آن‌ها در این بود که در گذشته استعداد داشتن بیماری‌هایی مثل لوپوس که اتوایمیون است را به نقص ژن C2 کمپلمان که در این قسمت (ژن HLA3) قرار دارد ربط می‌دادند. با مطالعه بیشتر به این نتیجه رسیدند که مشکل نقص ژن کمپلمان

نیست بلکه مشکل ژن Drb1 است که به صورت هاپلوتایپ با زن کمپلمان قرار گرفته است. بعد برای اطمینان ژن کمپلمان را از بین بردند و دیدند که همچنان این مشکل وجود دارد و به این قضیه پی بردند که HLA ها در این اتفاق مؤثر هستند.

اهمیت HLA-ClassIII در گذشته، بعضی بیماری‌ها همانند لوپوس را به افرادی ربط می‌دادند که C₂ آن‌ها در سیستم کمپلمان دچار نقص شده است. با بررسی بیتر متوجه شدند که ابتلا به لوپوس مربوط به ژن‌های مختلف کمپلمان نیست و علت بروز آن HLA-D_{RB1} است.

–(نکته!): HLA-ClassI شامل A,B,C و HLA-ClassII شامل تمامی HLA هایی است که با D آغاز می‌شوند.

برای HLA-ClassI بیشتر از هفت هزار آلل مختلف وجود دارد که میزان فوق العاده زیادی است و برای HLA-ClassII حدوداً دو هزار عدد! اگر کمی ریزتر شویم، در خود کلاس یک، HLA_A تقریباً دوهزارتا و HLA_B نزدیک به سه هزار الل دارد.

می‌خواهیم در HLA-ClassI شایع‌ترین الل‌ها را بررسی کنیم:

- در HLA-A، 02 با فراوانی ۱۸ درصد و بعد از آن الل 24 در ردهٔ دوم می‌باشد.
- در HLA-B، الل 35 و 51 بیشترین سهم را دارد.

و حالا در HLA-ClassII:

- در HLA-D_{RB1} الل ۱۱ بیشترین فراوانی را دارد.

نام گذاری HLA ها

می‌دانیم بهتر است HLA ها را با اعداد و ارقام بخوانیم، مثلاً می‌گوییم HLA-01 (در فارسی صفر-یک خوانده می‌شود!)

در نام گذاری سایتو ژنتیک دو رقم پشت سرهم را به صورت دو رقمی نخوانیم (به طور مثال عدد 6Q23 به صورت ۲،۳ خوانده شود و نه به صورت بیست و سه! (یا ابرفرض!)

در مورد HLA-Typing به دلیل تنوع الل‌ها، الل‌ها را با عدد و رقم نامگذاری می‌کنیم در صورتی که ژن‌های دیگر به این صورت نامگذاری نمی‌شوند.

در روش مونوپولی، از نماد (*) استفاده می‌کنیم. در این روش ابتدا HLA مربوطه را می‌نویسیم و سپس یک خط تیره می‌گذاریم و بعد از آن حرف را می‌گذاریم. به طور مثال HLA-A و HLA-B، بعد از آن نماد ستاره را قرار می‌دهیم و اعداد را به صورت دو رقم دو رقم جدا می‌کنیم. (مثال: HLA-A*02)

خودایمنی (Autoimmunity)

بیماری های خودایمنی، مولتی فاکتوریال و هتروژن هستند. در اینجا به تعریف این دو می پردازیم.

-مولتی فاکتوریال: در این بیماری ها دو عامل محیط و ژنتیک در به وقوع پیوستن دخیل هستند.

-هتروژن: بیماری هایی که ژن های مختلفی در بروز آن ها مؤثر می باشد.

بررسی بیماری های خود ایمنی و HLA های آن ها

بیماری دیابت نوع اول را با $HLA-D_{RB1}^*03$ نشان می دهند و هاپلوتاایپ ژن ها را به صورت قطار و با خط فاصله به هم متصل می کنند. در دیابت، HLA بالایی با ال 03 به $HLA-D_{QB1}$ از طریق ال 02 متصل می گردد. (قطار ژنی به صورت $HLA-D_{RB1}^*03_HLA-D_{QB1}^*02$ نوشته می شود!) و به علت نزدیک بودن 03 و 02 (لیکیج بودن آن ها!) نمی توان عامل اصلی دیابت را تشخیص داد.

-بیماری گریوز نیز همچنین حالتی دارد که همان دو HLA و با همان دو ال در ایجاد آن شرکت خواهند کرد.

-در بیماری هاشی موتو $HLA-D_{RB1}^*11$ با $HLA-D_{QB1}^*03$ دخیل خواهند بود.

-در بیماری های مولتی فاکتوریال نمی توان گفت یک ژن علت بروز یک بیماری است. مثلاً در تالاسمی می گوئیم جهش در ژن β رخ داده است و نوکلوتید سطحی آدنین به سیتوزین تبدیل شده و جهش رخ داده است. (در مولتی فاکتوریال ها رابطه علیت وجود ندارد و سیستم های مختلفی مانند سیستم HLA وجود دارد که این سیستم ها مستعدکننده بیماری هستند ولی جهش در این ژن ها را نمی توان قطعاً عامل بیماری تلقی کرد ولی می توانیم بگوئیم کسانی که این ال جهش یافته را دارند، بیشتر از دیگران مستعد بیماری هستند مثالی از این بیماری ها MS می باشد!)

-ولی در مورد بیماری های تک ژنی مثل فنیل کتونوریا، رابطه علیت وجود دارد و جهش ایجاد بیماری کرده است.

پیوند عضو

اولین پیوند موفقیت آمیز در سال ۱۹۶۸ انجام شد. در سال ۱۹۸۰ اولین پیوند Unrelated Donor (غیر خویشاوندی) انجام شد و در سال ۱۹۹۰ اولین پیوند از بندناف (Cordlife) انجام گرفت که کشورمان نیز در این زمینه عملکرد بسیار مناسبی داشته است.

-ماجرای اولین پیوند: در روزگار قدیم، یک کشیش پای خود را از دست داد که درست در همان زمان یک فرد سیاه پوست در محله جان خود را از دست داد. دو برادر زیست شناس برای اولین بار پای فرد سیاه پوست را به پیرمرد پیوند زده و پیرمرد با پاهای دورنگ خود افسانهٔ بسیاری از ملت ها شد.

چه کسی می تواند دهندهٔ مناسبی باشد؟

برای شروع این بحث به این موضوع می پردازیم که در بالین چند HLA معین مطرح می شود و آن ها -HLA A و B و HLA-D_{RB} می باشند و بقیهٔ ژن ها اهمیت کمتری دارند.

تکست های جدید برای گرفتن عضو از افراد غیر خویشاوند، درخواست بررسی HLA-C و سپس HLA-D_Q را علاوه بر سه مورد بالا کرده اند. ما از آن بیمار، HLA-A و HLA-B و HLA-D_{RB1} را رسم و به جست و جوی ژنوتیپ های مشابه می پردازیم. حال به بررسی انتقال الل ها می پردازیم:

در خانواده ای، مادر برای هر یک از سه ژنوتیپ، دو الل و پدر نیز همین طور. هر کدام از آن دو برای هریک از ژنوتیپ ها، یک الل را به بعضی از فرزندان می دهند که با توجه به بررسی این الل ها، دهندهٔ مناسب (Donor) مشخص می شود.

(نکتهٔ مهم!): HLA-Typing بیشتر برای پیوندهای مغزاستخوان کاربرد دارد و برای پیوندهایی مثل کلیه و کبد خیلی کاربرد ندارند هرچند که امروزه گفته می شود با وجود کمیاب بودن دهندهٔ کلیه، چک کردن HLA ها تقریباً ضروری است.

اینجا سوالی مطرح می شود که بهترین عضو برای دادن پیوند کیست؟

شاید در نگاه اول مادر ولی ۵۰ درصد ژن های مادر به فرزند منتقل می شود و این در صورتی نقض می شود که همسر زن، پسرعموی او باشد و جد مشترکی در کار باشد. در این صورت فرض کنید الل شماره ۱ توسط جد مشترک به پدر و مادر داده شده باشد. الل ۲ از طریق مادر به فرزند برسد ولی الل ۱ از طریق پدر! در این صورت هم فرزند و هم مادر الل ۱ و ۲ را دارند و تشابه ژنی بیش از ۵۰ درصد است.

ولی به طور کلی بهترین Donor، خواهر یا برادر است (به علت تشابه ژنی زیاد!)

-در مشاورهٔ ژنتیکی هیچ گاه ازدواج خانوادگی توصیه نمی شود. زیرا که مخزن ژنی کوچک شده و بیماری های مغلوب بروز پیدا می کنند ولی تنها نتیجهٔ مثبت ازدواج خانوادگی از دیدگاه ژنتیک بحث پیوند است و تنها جایی که فرزندان بیشتر توصیه می شود، بحث HLA می باشد.

(نکته: بسیار مهم!): اگر دو نفر بتوانند دهنده پیوند باشند، به رده سنی و جنسیت آن‌ها نگاه می‌کنیم. به طور کلی گرفتن پیوند از افراد مذکر بیشتر توصیه می‌گردد.

-تست بعد از پیوند STR نام دارد که طی سه مرحله انجام می‌گیرد و اگر زنی از فرد مذکری عضوی گرفته باشد، در این تست، در خون او کروموزوم Y مشاهده می‌گردد.

-اگر امکان دریافت پیوند از برادر یا خواهر نباشد، بهتر است از فامیل عضو بگیریم زیرا که در پیوند ژن‌های دیگری به غیر از HLA دخیل است و تناسب آن ژن‌ها در افراد فامیل بیشتر است.

برتری‌ها و معایب پیوند cord blood نسبت به Haplo همراه با Miss match

برتری‌ها: ۱- در cord blood نمونه سریعاً در دسترس است و برای رسیدن به مطلوب زمان زیادی لازم نیست. زیرا نمونه خون بند ناف را در ابتدا HLA Typing می‌کنند بنابراین این کاملاً مشخص خواهد بود که این نمونه خون بند ناف می‌تواند دهنده باشد یا خیر

۲- احتمال بیماری‌های ویروسی مانند سیتومگال و وروس‌ها کمتر است زیرا روی نمونه‌ها موارد هپاتیت و سیتومگال و... را چک می‌کنند.

۳- احتمال GVHD احتمالاً کمتر است

معایب: ۱- بعد از ماندگاری زیاد، تعداد و کیفیت سلول‌ها مشخص نیست. در بعضی از موارد تعداد سلول‌های cord blood آنقدر کم می‌شود که فقط بیماران کمتر از 10kg می‌توانند استفاده کنند.

۲- ریکآوری هماتوپوئیتیک در این افراد دیرتر صورت می‌گیرد در صورتی که افرادی که از فرد بالغ پیوند گرفته‌اند ریکآوری ایمونولوژیک آن‌ها دیرتر صورت می‌گیرد.

۳- اگر منبع پیوند (فرد دهنده) بیماری و خیمی داشته باشد احتمال انتقال به فرد گیرنده نیز وجود دارد.

۴- نگهداری cord blood در cord blood center هزینه بر است.

برتری: پیوند Haplo Identical (افرادی که به طور نیمه با فرد گیرنده منطبق باشند و فامیل نیز نباشند)

۱- در صورت پیوند همراه Miss Match در دسترس است.

۲- ۲- تعداد بالایی Stem Cell دارد.

۳- هزینه معمولاً پایینی دارد.

معایب:

۱- احتمال بیماری GVHD را دارد.

۲- ریکآوری سیستم ایمنی آن دیرتر خواهد بود.

نکته:

پیوند اتولوگ: در بعضی از بیماری ها مانند Multiple Myeloma پیوند اتولوگ می باشد. بعد از شیمی درمانی سنگین نمونه مغز استخوان فرد را به خود او پیوند می زنند.

پیوند آلوژن: در پیوند از فرد دیگری استفاده می شود.

نکته: تنها ۳۰٪ افراد هستند که بین خانواده و فامیل خود دهنده مناسب پیدا می کنند. آنتونی نولان به دلیل پیدا نکردن دهنده خون مناسب برای بیماری خود Wiskott Aldrich که نقص ایمنی شدید دارد در سن ۸ سالگی فوت کرد. پس از آن مادرش شرکتی تأسیس کرد که از افراد مختلف جهان خون دریافت می کند و بعد از HLA Typing مشخصات خون را در بانک اطلاعاتی خود ذخیره کرده تا برای افراد بیمار در حال جستجو نمونه مناسب را پیدا کند. ایران هم جزو بعضی از سیستم های رجیستری شده است.

شرکت دیگری به نام NMDP نیز وجود دارد که این شرکت Guard Line ها را نیز مشخص می کند. مثلاً در هنگام گرفتن از فرد غریبه علاوه بر (A, B, DR) و C و Dq را چک می کند. اصطلاحاً باید ۱۰/۱۰ باشد.

(۵ ژن A,B,DR, C,DG <= ۱۰ آلل <= ۱۰ آلل باید مطابقت داشته باشد).

سیستم دیگری نیز به نام BMDW وجود دارد که مراکز مختلفی در ایران مانند شریعتی، رویان و طالقانی در آن عضو هستند. که نمونه خون شما را همراه با یک کد خاصی در بانک اطلاعاتی قرار می دهند که با توجه به کد خاص از فرد درخواست می شود که بیاید و خون بدهد.

در قدیم از روش invasive استفاده می کردند و مغز استخوان شما را استفاده می کردند که بیهوشی داشت. اما امروز از روشی همانند دیالیز استفاده می کند که خون محیطی شما در دستگاهی Stem Cell ها را جدا می کند و بعد به فرد مورد نیاز پیوند می شوند و خون دوباره به چرخه خون شما بر می گردد. نکته ای که وجود دارد این است که در هفته قبل از این کار با تزریقات انجام شده مغز استخوان را تحریک می کنند تا Stem Cell بیشتری تولید کند.

در سال های اخیر استفاده از مغز استخوان برای پیوند بر خلاف Cord Blood کاهش یافته است. همچنین در این سال ها از افراد غریبه بیشتر از گذشته استفاده می کنند. در بعضی بیماری ها مانند بیماری های خونی AML، AMS و CML و هموگلوبین پاتی ها انواع تالاسمی ها، انواع آنمی ها، ایزومر های سیستم ایمنی، بیماری های متابولیک مثل موکوپلی و انواع بیماری های اتوایمیون (نه قطعاً) استفاده می کنند.

نکته: در ایران تنها ۱۵۰۰۰ نفر در سیستم رجیستری ثبت نام کرده اند.

نکته: سفارش از کشور های دیگر بالای صد میلیون هزینه دارد و اگر کسی بخواهد که در بیمارستان های آمریکا این عمل را انجام دهد بالای \$500000 هزینه دارد. ولی در ایران با \$1500 پیوند مغز استخوان انجام می گیرد که نشان از حمایت وزارت بهداشت و برنامه ریزی برای این امور دارد.

ما را ببر به رؤیت لبخند عید فطر
ما را بخوان به خلوت یا ربّ و یا عظیم

با تشکر

گروه ۱۴:

دانیال فرمانی، احمد سقازاده، سینا دولتشاهی، محمدحسین عطایی+امیرحسین محمودی (((((

ژنتیک جلسه هشت

گروه هفده ☺

فرزاد اسماعیلی، محمد جواد هنرور

یونس یساقی

تایپیست:

آقای امین نصراللهی:)))

~_(ツ)_/~

بیماری Spinal Muscular Atrophy SMA نوعی بیماری تحلیل عضلانی است. در این بیماری یک باز اضافی در توالی خاصی در DNA وجود دارد که موجب بروز علائم بیماری می شود. به عنوان یک روش درمانی اگر این باز اضافی را بتوانیم به وسیله ی مهندسی ژنتیک برداریم پروتئینی که درست میشود پروتئین سالمی خواهد بود. (مَث من ک بچه خوبیم :) از پشت صحنه اشاره میکنن حرف مفت زنن : /)

هیپاتیت C بیماری دیگری است که هم اکنون روش های درمانی جدیدی براساس تکنیک های مهندسی ژنتیک برای آن مطرح شده است. مثلاً در یکی از این روش های درمانی به جای درمان علامتی سعی ما بر regenerate کردن بافت تخریب شده ی کبد است. (برای این کار نمونه ای از بافت کبد بیوپسی شده و در فضای آزمایشگاهی کشت داده می شود.)

علاوه بر بیماری بالا در بسیاری از بیماری های دیگر مثل بیماری های صدمه زننده به بافت پوششی گوارشی، بیماری های کلیوی، سرطان سینه و بیماری های مثانه هم روش های درمانی بر اساس تکنیک های مهندسی ژنتیک مطرح است. برای مثال در بیماری های مثانه که افراد مسن با آن روبرو هستند، فرد نمی تواند ماهیچه های اسفنگتر خود را کنترل کند. بنابراین توانایی کنترل ادرار خود را از دست می دهد. تکنیک های مهندسی ژنتیک در حال حاضر روش هایی را ارائه می دهد که با آن ها می توان ماهیچه های اسفنگتر را در افراد بیمار regenerate بازم : / کرد. (استاد عزیز این همه کلاس زنگ تفریح نداره؟ D:)

و ژن هایی که در سلول های ماهیچه ای او خاموش شده اند را برای بیان دوباره روشن کرد.

مهندسی ژنتیک عبارت است از تغییر ژن ها در یک ارگان یا بافت زنده برای تولید یک ارگانیسم تغییر یافته ی ژنتیکی (Genetically Modified Organism) GMO انواع مختلفی از این تغییر ژنتیکی وجود دارد که از جمله آن ها می توان به این موارد اشاره کرد: وارد کردن یک ژن خارجی، ایجاد یک ارگانیسم ترانس ژنتیک، تغییر محصول یک ژن و تغییر بیان ژن.

در ادامه برای فهم بهتر (فهم؟ ناموسن؟ بگو بیاد پابوسم: /) به مراحل طی شده برای تولید فاکتور VIII انعقادی پرداخته می شود.

کلون کردن فاکتور VIII

- *فاکتور VIII یکی از ۱۳ فاکتور موجود در خون است که در انعقاد خون نقش دارد.
- *نقص در فاکتور VIII موجب هموفیلی A می شود که خون ریزی غیر طبیعی را به دنبال دارد.
- *زخم های کوچک در این بیماری مشکل ساز نیستند اما خون ریزی های داخلی به وجود آمده از زخم های خطرناک می تواند به عنوان آسیب جدی و اصلی تلقی شوند.

« مرحله اول: جستجوی ژن

- * در این مرحله ما درباره ی اطلاعات ژنی که دنبال آن هستیم جستجو می کنیم.
- * در این مرحله با پیدا کردن ژن مورد نظر در سایت مربوط به آن، کد دسترسی به آن را به دست می آوریم (مگه کد هش رو کرک میکنیم؟!)
- * مهمترین اطلاعاتی که باید در مورد ژن مورد نظر در این مرحله بیابیم، یافتن اندازه آن براساس basepair است.
- * برای مثال این مقدار در مورد ژن فاکتور VIII ۲۵۳۶ bp است.
- * علاوه بر این، باید مقداری از ژن را که در کد کردن پروتئین موثر است، ملاحظه کنیم. (اینجا یه تیکه داشت قاطی پاطی بود، شما به بزرگی خودت ببخش؛)

« مرحله ی دوم: یافتن ORF ژن (Open Reading Frame)

- * در این مرحله این نکته را در نظر می گیریم که تمام باز های موجود، در کد کردن پروتئین مورد نظر ایفای نقش نمی کنند.
- * اکثر قریب به اتفاق ژن ها با کدون ATG شروع می شوند و با کدون توقف TAG پایان می یابد.
- * شناسایی قسمتی از ژن که کد کننده است و برش آن. در واقع این قسمت است که برای ما اهمیت دارد. در مورد ژن فاکتور VIII این ناحیه ۶۵ ← ۷۱۵ BP است.
- * در این مرحله با استفاده از نرم افزار خاص و تشکیل ماتریکس می توان کدون ATG آغاز را از میان چندین و چند کدون ATG موجود در ژن پیدا کرد.

« مرحله ی سوم: مشخص کردن وزن مولکولی ژن فاکتور VII

« مرحله ی چهارم: مقایسه ی توالی ژن

- * در این مرحله هدف بررسی این موضوع است که آیا مشابه ژن مورد نظر ما در گونه های دیگر موجودات نیز وجود دارد یا خیر.
- * برای انجام این مقایسه از روش آنالیز BLAST استفاده می شود. Basic Local Alignment Search Tool

* با استفاده از این روش آنالیزی در صد شباهت ژن مورد نظرمان را با همتا هایش در گونه های دیگر پیدا می کنیم.

«Multiple DNA Sequence Alignment»

این یکی از کار های دیگری است که انجام می گیرد و هدف آن مقایسه ی همزمان توالی مورد نظر با توالی ژن های دیگر است. تا به درک بهتری از ویژگی های توالی های ژنی و هم چنین جایگاه تکاملی آن ها در درخت های فیلوژنتیکی برسیم. (عکس این درخته تو اسلایداس، تازه ماهم تو باغچمون داریمش 😊) کسی شک داره بیاد بینه، تازه تو موزاش پرتقال هم داره :))))

« مرحله پنجم: آنالیز آنزیم محدود کننده

* آنزیم محدود کننده ای که ژن مورد نظر ما را می برد در وب سایت مورد نظر پیدا می کنیم. (اگه هک شده باشه چی؟ 😊)

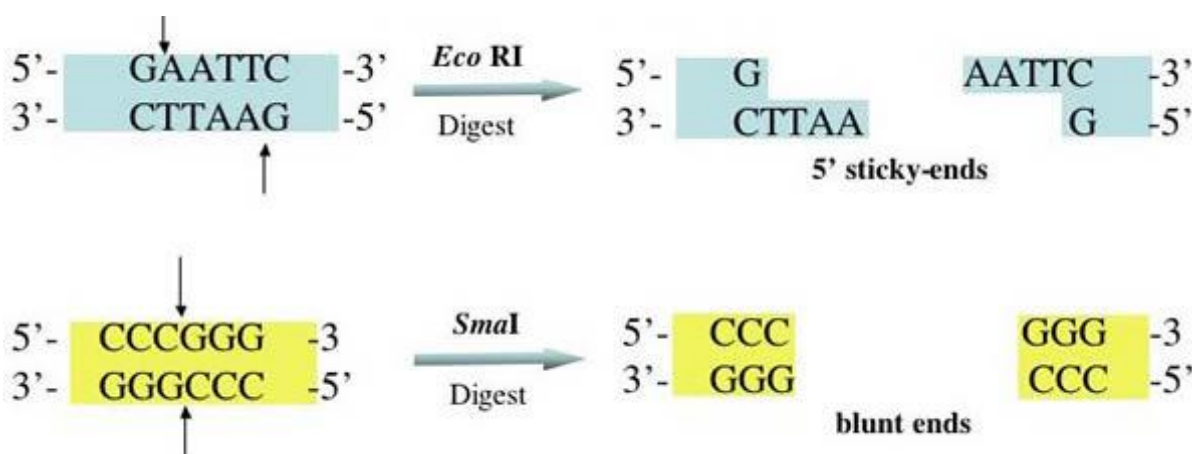
* آنزیم محدود کننده ای که ژن ما را از وسط آن می برد، کنار می گذاریم تا از ایجاد پپتید های ناخواسته جلوگیری کنیم.

* آنزیم های محدود کننده به دو مدل برش را انجام می دهند:

۱. Sticky End یا Cohesive End (انتهای چسبنده)

۲. Blunt End (انتهای کند)

(توصیه اینجانب: همون قضیه ک اکثر آنزیم های محدود کننده انتهای چسبنده ایجاد می کنند)



* از آنزیم های دارای انتهای چسبنده می توان به EcoRI اشاره کرد (بازم یادی از دبیرستان:!) از E.Coli گرفته می شود و BAMH1 که از باسیلوس جدا می شود و از آنزیم های دارای Blunt End می توان به Sma1 اشاره کرد.

فرزاد جون متشکرم ☺ آرتروز گرفتم :/. حالا برادر هنرور شروع میکنه:)

حالا این ۵ مرحله را در دنیای واقعی بررسی میکنیم.

ما اگر بخواهیم DNA مورد نظر را استخراج کنیم می توانیم این کار را برای تمام سلول های هسته دار و DNA های سلول ها مثل فاکتور VIII انجام دهیم.

مثلا در یک روستا افراد روستا بیماری چشمی خاصی دارند و می خواهیم ببینیم مشکل ژنی است یا نه. ما می توانیم نمونه ی DNA این ها را استخراج کنیم (با گرفتن خون محیطی آنان) و در لوله ی حاوی EDTA یا همان CBC قرار دهیم و ۶ ماه و ۷ ماه دیگر مثلا فرصت تحقیقاتی (همون فرصت مطالعاتی منظور :/) که بدست آمده می توانیم از آن بافت DNA استخراج کنیم. توجه داشته باشید که می توانیم DNA را به کمک خون محیطی یا حتی بزاق و عرق دست هم بدست آورد. اگر نمونه را داخل نیتروژن مایع قرار دهیم می توانیم به مدت طولانی تر این DNA را نگه داریم. در هنگام عمل هم بافت را می توانند بیوپسی کنند و بافت فرمالینه یا پارافینه را می توانیم بعدا DNAش را استخراج کنیم. پس در اولین قسمت ما نمونه بافت خود را داخل لوله اندو (؟) داریم. حالا باید DNA مورد نظر را استخراج کنیم. این همین شامل ۳ میلیارد BP است. DNA را به روش های مختلف استخراج می کنیم، حال می گوییم آیا این DNA کیفیت مناسب دارد یا ندارد؟ برای فهمیدن میزان کیفیت DNA مورد نظر از فتومتر استفاده می کنیم.

در استفاده از فتومتر ما دو طول موج به این سیستم می دهیم یکی ۲۶۰ و یکی ۲۸۰. حال دستگاه های مختلف هست یکی بیوفتومتر است و مدل پیشرفته تر آن نانودراپ است. با کمک اینها اگر در دو طول موج چک کنیم و ببینیم که طول موج از ۱/۸ بالاتر است یعنی DNA ما PURE است و آلودگی ندارد و آلوده به پروتئین و mRNA نیست.

پس در قسمت دوم ما کیفیت DNA را تعیین می کنیم. مثلا برای تعیین هویت شهدای گمنام این مرحله حائز اهمیت است چون باید از کیفیت مطمئن شویم. :/

تاریخچه اندونوکلئاز:

در سال ۱۹۶۹ این آنزیم ها شناسایی شدند و هم اکنون بیش از هزار نوع از این آنزیم داریم. همه آنها می توانند DNA را در محل های خاصی برش دهند و کلاس های مختلف دارند که ما بیشتر کلاس ۲ را استفاده می کنیم.

مثال های آن عبارتند از EcoRI و DCI و... هستند.

یادآوری: توالی های Palindromic توالی های آینه ای هستند.

در دنیای بیوتکنولوژی تمام شرکت ها روی ساخت این آنزیم ها سرمایه گذاری می کنند چون ارزش افزوده بالایی دارند.

این آنزیم های بسی گرون! عاری واقعا؟ قیمت CL-20 مثلاً؟ (CL-20 گرون ترین و قویترین ترکیب انفجاریه)

همان طور که قبلاً گفته شد این آنزیم ها به دو صورت Sticky & Blunt End توالی ها را می برند. شما در مرحله ۵ مشخص کردید که کدام آنزیم را برای اینکه قطعه مورد نظر را از قطعه ۶۵ تا ۷۱۵ برش دهیم باید استفاده کنیم.

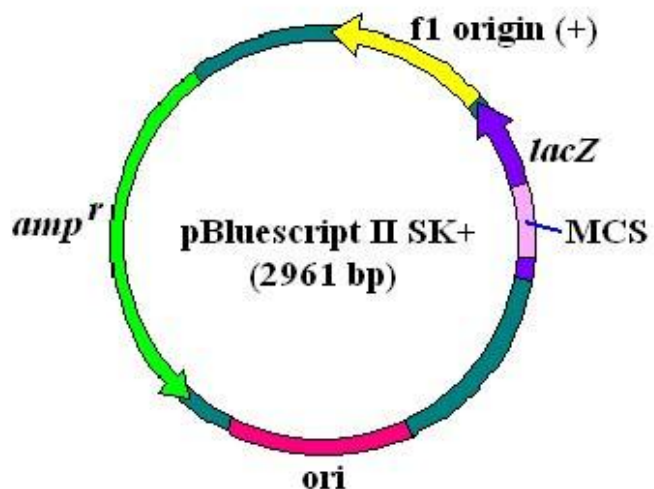
قطعه ی مورد نظر را حالا در اختیار داریم اما این قطعه که زنده نیست و نمی تواند تکثیر پیدا کند. معمولاً این قطعه را به یک وکتور قلمه می زنند و کلونش می کنند. برای کلون کردن ما یک سری وکتور ها داریم.

وکتور ها در حالت عادی در باکتری وجود دارد و وظیفه ی آنها اینست که به عنوان قطعاتی هستند که DNA هستند و مقاومت به آنتی بیوتیک و فلزات سنگین را ایجاد می کنند. حال ما این پلازمید (وکتور) که به صورت مستقل در باکتری تقسیم می شود را استخراج می کنیم و به عنوان حامل (فحش مورد علاقم: p) یا عاملی که ژن مورد نظر سوار (مگه قاطره؟) آن می شود استفاده می کنیم، پس بخشی از کار اینست که وکتور خاصی را انتخاب کنیم و وکتور مورد نظر را هم برش دهیم و قطعه ای که داریم را (مثلاً فاکتور ۸) را روی وکتور سوار کنیم که به این کار (وصل کردن قطعه ی خارجی مورد نظر به وکتور) اصطلاحاً کلونینگ می گوئیم. سپس تمام مراحل اول را که انجام دادیم در MCVI ژن مورد نظر را انتخاب کردیم و blast کردیم و با آنزیم مورد نظر برش دادیم، حالا باید وارد وکتور بکنیم و داخل وکتور ligate ش کنیم (کلونینگ) (منم کیلی فارسی بلد نیست، شما به رست بیف میگوید چی؟ /:)

ما انواع وکتور ها را داریم و بسته به نیازمان از آن ها استفاده می کنیم.

اندازه وکتورها باید با اندازه ژنی که می‌خواهیم وارد آن کنیم متناسب باشد.

واجبات هر وکتور: (منظور شرایط و ملزوماته، وگرنه میگویم عمو مکارم کل زنتیکو حر|||امش کنه)



باید مستقل همانند سازی کند (ori) origin of replication

ژنی که مقاومت آنتی بیوتیک را ایجاد می کند (تست این که کلون صورت گرفته است یا نه ؟)

Multiple Cloning Site (MCS) جایی که معمولاً insert یا کلونینگ در آن صورت می گیرد. در این ناحیه ۱۰ الی ۲۰ تا site ایجاد کردند که هرکدام از این ها با یک آنزیم برش داده می شود. بیشتر از یکبار هم نیست با یک آنزیم برش داده می شود و باعث خطی شدن DNA حلقوی می شود. DNA را داخلش می گذاریم و ligate می کنیم (آن را می دوزیم) دومین و کتوری که ما در مهندسی ژنتیک بیشتر

از همه استفاده میکنیم عبارتند از PAC ها (PAC ۱۸ و ۱۹) حداقل این دو را در ذهن داشته باشید چون در هر مقاله ای اسمی از PAC18 ، PAC19 یا PBR322 است. در وکتور ها ما به ori نیاز داریم تا برای خودش تکثیر پیدا کند، به ناحیه مقاومت به آنتی بیوتیک نیاز داریم تا بتوانیم وکتورمان را trace و دنبال کنیم و به MC3 نیاز داریم.

وکتور های پلاسمیدی که همان PBR322 و PAC ها و وکتور های lambda و cosmic و interfin پورگونیک هم داریم (شرط میبندم یه دونه از اسم ها هم درست نی ولی حال سرچ ندارم:/) وکتور YAC ۱۰۰۰ تا ۲۰۰۰ Kbp ظرفیت دارد. بیشترین ظرفیت مربوط به YAC است که برای کتابخانه های ژنومی از آن استفاده می کنیم.

البته ما PAC و BAC را هم داریم که برای ساختمان ژنومی هم استفاده می شود و برای انسان نیست و برای موجوداتی است که ژنومشان کوچک است. (ظرفیت آن ها حدود ۱۳۰-۱۵۰ Kbp است)

ما انواع مختلف وکتورها را داریم که آن ها را براساس کارمان استفاده می کنیم اگر یک ژن مورد نظرمان است تا ۱۰ Kbp از پلازمید یا PAC استفاده می کنیم. اگر یک قطعه ی خیلی بزرگ مورد نظرمان است از YAC استفاده می کنیمو اگر قسمت خاصی مورد نظرمان است از PAC یا BAC استفاده می کنیم.

کتابخانه ی ژنومی: زمانی می گوییم ژنوم یک فرد ۳۰۰۰۰۰۰۰۰ bp است و ما این ژنوم را با آنزیم ها می بریم و جوری برش داده می شود که وقتی قطعات کنار هم قرار داده می شوند این قطعات overlap می شوند.

مثلا دایره المعارف ها ی دهخدا و.... به ترتیب حروف الفبایی است مثلا الف تا پ در جلد اول، ت تا ج در جلد دوم و.... ماهم ۲۳ جفت کروموزوم داریم و آن را طوری برش می دهیم مثلا ۱۰۰۰ قطعه و هر کدام را سوار یک YAC می کنیم و یک کتابخانه تشکیل می شود. (یاد کتابخونه دانشکده افتادم ☺) این کتابخانه به چه دردی می خورد؟ مثلا وقتی می گوییم فلان دارو را وقتی مصرف می کنند می گویند که باعث تولید mRNA از هیپوفیز می شود. حال ما می خواهیم ببینیم این درست هست یا نیست یا مثلا موسیقی لایت /: باعث تولید فلان mRNA می شود. (فقط هوی متال ☺) دو گروه یکی گروه case و دیگری گروه شاهد را تشکیل می دهیم و آن ها را در معرض آن exposure می گذارند. حالا یا mRNA تولید شده است یا نشده است. حال اگر mRNA تولید شده ما می توانیم از طریق آنزیم reverse transcriptase ، cDNA درست کنیم. فقط حواسمان باشد زمانی که می خواهیم cDNA درست کنیم از یک سری بازهایی استفاده کنیم که رادیواکتیو یا فلورسنت را داشته باشند سپس cDNA ها حالت رادیواکتیو یا فلورسنت خواهند

داشت. اگر ما DNA باردارمان را با DNA کتابخانه مجاور کنیم و اصطلاحاً هیبریدایز بکنیم، این DNA به ناحیه مکملش می چسبد. هیبریدایز کردن یعنی مجاور کردن DNA باردار با DNA کتابخانه

وقتی عمل هیبریدایز را انجام دادیم و می خواهیم ببینیم DNA باردارمان کجا چسبیده فیلم رادیوگرافی حساس را تهیه می کنیم. در رادیوگرافی معمولی (پشت فیلم آن نیترا ت نقره است) هر جا که اشعه بتواند رد شود (مثلاً ریه) آن را سیاه نشان می دهد و هر جا مثل استخوان که نتواند رد شود را سفید نشان می دهد و اگر وسط استخوان شکستگی باشد آن قسمت در استخوان سیاه نشان داده می شود. حال در اتو رادیو گرافی DNA باردار و کتابخانه ژنومی DNA در فیلمی که همه جایش سیاه است و نور رد می شود، آن ناحیه سفید مانده و بقیه نواحی سیاه می شود یعنی DNA باردار در آن جا قرار دارد و در نتیجه ما می توانیم بفهمیم دارو با کدام قطعه ژنتیکی واکنش نشان می دهد. (متأسفانه علی رغم میل باطنی وحشتناک اینجانب، عکسی مرتبط با موضوع در حد پزشکی عمومی یافت نشد)

خب جناب هنرور هم کارشون تمومید. یونس، الوووو ، اومدی؟

و این یونسه ک وارد جزوه میشه، قطعاً داخل استادیوم بوده :))))

برای فهمیدن اینکه قطعه ژنی مورد نظر در نمونه ما وجود دارد یا نه از الکتروفورز استفاده میکنیم. برای تهیه ی ژل الکترو فورز که در آن تعدادی چاهک وجود دارد، ژل آگاروز را داخل مایکروفر گذاشته تا کاملاً شل شود و در آن یک شانه قرار می دهیم. زمانی که این ژل سرد شود و ما شانه را از آن خارج کنیم، سوراخ هایی در آن باقی می ماند که همان چاهک است. سپس DNA را در نزدیک قطب منفی یا کاتد الکتروفورز قرار می دهیم. با وصل کردن جریان، قطعات DNA به دلیل داشتن بار منفی به سمت قطب مثبت یا آند حرکت می کند. هر چه DNA سبک تر باشد، سریع تر حرکت می کند. به این کار یعنی جدا کردن قطعات DNA در یک میدان الکتریکی و براساس وزن و اندازه الکتروفورز کردن DNA می گویند. در داخل چاهک ها، لامپ UV وجود دارد که بوسیله آن از طیف DNA بدست آمده عکس می گیریم. ما برای اینکه بدانیم که قطعه ای که داریم، قطعه ی موردنظر ما هست یا نه، همیشه کنار ژل الکتروفورز یک DNA ladder یا DNA marker می گذاریم. توسط این DNA ladder میتوانیم قطعه DNA با تعداد باز های مورد نظر مثلاً ۱۴۳ bp را تعیین کنیم (در واقع این DNA ladder دارای یک درجه بندی از اندازه های مختلف DNA است) حالا عکس گرفته شده از طیف DNA را با DNA ladder کنار الکتروفورز مقایسه می کنیم تا قطعه مورد نظر را پیدا کنیم و ببینیم که آیا در نمونه ی ما هست یا نه.



دستگاه PCR (Polymeral Chain Reaction)

این دستگاه برای تکثیر DNA بدست آمده استفاده می شود تا بتوان روی DNA نمونه مطالعات مورد نیاز را انجام داد. مثلاً زمانی که نمونه DNA ما از آدامس جویده شده یا زیر ناخن بدست آمده و مقدار آن برای مطالعه کافی نیست، توسط PCR آن را تکثیر می کنند.

در همانند سازی فاکتور هایی مورد نیاز است مثلاً خود DNA ، DNA پلیمرز ، نوکلئوزید تری فسفات ها (A , T , C , G) و ... این فاکتور ها برای PCR نیز نیاز است.

پس برای PCR ، ابتدا قطعه DNA مورد نظر را توسط روش های گفته شده جدا می کنیم که به عنوان DNA template ما است. حالا برای اینکه مشخص کنیم که از کجا تا کجا این DNA باید تکثیر شود، یک جفت پرایمر (۲۰-۳۰ bp) یکی در ابتدا و یکی در انتها (forward & reverse) محل مورد نظر قرار می دهیم که خودمان آن ها را ساختم و مکمل قطعه مورد نظر ما هستند. علاوه بر این ما به مواد اولیه یعنی dNTP ها (A,G,T,C) و نیز آنزیم DNA پلیمرازی که به حرارت مقاوم است نیاز داریم.

حالا چه اتفاقی در PCR می افتد؟ قطعه DNA را بدون PCR قرار می دهیم و تا ۹۶ درجه سلسیوس حرارت می دهیم. در این صورت دناچوریشن اولیه (denaturation) رخ داده و دو رشته ی DNA از هم

باز می شود. پس مرحله اول در PCR باز شدن دو رشته ی DNA از هم است (primary denaturation). در مرحله بعد دما را کمی پایین می آوریم تا ۵۶ درجه سانتیگراد. در این صورت پرایمر هایی که در محیط وجود دارند به ناحیه مکمل خود وصل می شوند. پس مرحله دوم، چسبیدن پرایمر به ناحیه مکمل آن است (annealing). در مرحله بعد دوباره دما را افزایش می دهیم تا ۷۲ درجه. این دما، دمای ایده آل برای عملکرد آنزیم DNA پلیمراز است. پس DNA پلیمراز شروع به ساختن رشته ی مکمل هریک از رشته های جدا شده می کند. پس مرحله سوم ساخته شدن رشته مکمل است (extention) (اکستنشن؟ عباس معصومیه؟). این ها سه مرحله ی PCR هستند و باهم تشکیل یک cycle یا چرخه می دهند. حالا به دستگاه بسته به نیاز خود برنامه می دهیم تا چندین بار این چرخه را انجام دهد. زمان اولین چرخه زیاد است چرا که قطعه ی DNA بزرگ است اما چرخه های بعدی بسیار کمتر زمان می برند چرا که قطعه مورد نظر از DNA که توسط پرایمر ها شناسایی شده بود، به صورت رشته درآمده و باز شدن آن بسیار کمتر طول میکشد. شروع چرخه بعدی نیز با افزایش دما تا ۹۶ درجه شروع می شود و تمام این مراحل دوباره تکرار می شود. در این صورت در چرخه اول دو عدد ، چرخه دوم ۴ عدد، چرخه سوم ۸ عدد و.... رشته تولید می شود. در واقع یک تصاعد هندسی است و پس از n چرخه، 2^n رشته خواهیم داشت. به این صورت ما پس از چند دقیقه میلیارد ها رشته DNA خواهیم داشت و همه این کارها با کمک بازی با حرارت انجام می شود (بازی بازی با حرارت هم بازی؟)

نکته ای که باید در نظر داشته باشیم این است که پروتئین ها در ۵۶ درجه دناتوره می شوند، DNA پلیمراز نیز یک پروتئین است پس دمای ۷۲ و ۹۶ درجه باید آن را از بین ببرد اما در اینجا از DNA پلیمرازی استفاده می کنیم که به دما مقاوم باشد و آن را از باکتری هایی که در چشمه های آب گرم بودند (دمای ۱۰۰ درجه) جدا می کنیم. به همین خاطر به آن TAQ DNA Polymerase می گویند.

نکته ی دیگر اینکه بعضی DNA پلیمراز ها قدرت ویرایش و editing ندارند اما بعضی دیگر دارند. از جمله DNA پلیمراز هایی که قدرت ویرایش دارند Pfu و Vent هستند. این ها در هنگام عمل خود به عقب برگشته و بازهایی که اشتباه گذاشته شده اند را با باز صحیح آن جایگزین می کنند.

در حالت عادی از TAQ DNA Polymerase استفاده می کنیم اما اگر بخواهیم کار دقیق تر انجام شود از Pfu یا Vent استفاده می کنیم.

دوباره بر میگردیم به گام ها برابر فاکتور ۸. گام بعدی انتخاب وکتور مناسب است. ما قطعه ی موردنظر خود را در کتابخانه انتخاب کردیم و با آنزیم ها، قطعه ی موردنظر را جدا کردیم. حالا باید آن را تکثیر کنیم. یک زمان می خواهیم کار تحقیقی بکنیم ولی یک زمانی می خواهیم آن قطعه را به تعداد بسیار زیاد تولید کنیم و mass production داشته باشیم. می دانیم که باکتری ها دارای سه مرحله رشد هستند :

ascending ، plateau و descending . اما ما همیشه مرحله ی ascending یا بالا رونده را می خواهیم بنابراین ژن را وارد وکتور کرده و در داخل فرمانتور می گذاریم و دائما برای ما محصول ژن را تولید می کند چرا که در فرمانتور مواد مورد نیاز دائما در دسترس قرار می گیرد و مواد زائد از محیط دور می شود.

مرحله ی بعد بریدن وکتور مورد نظر و وارد کردن قطعه مورد نظر (بحث ligation) می باشد. برای اینکار ما از T4 DNA ligase استفاده می کنیم. مرحله ی بعد transformation است. در این مرحله باید وکتور را وارد باکتری کنیم. چرا باکتری؟ زیرا سلول های انسانی چند روز طول می کشد تا تکثیر پیدا کنند اما یک Ecoli هر ۲۰ دقیقه تقسیم می شود. بنابراین وکتور را وارد باکتری می کنیم. به این کار transformation میگویند.

مرحله بعد تکثیر باکتری است. برای این کار از فرمانتور استفاده می کنیم. در فرمانتور مواد مغذی دائما باید وارد شوند و مواد زائد خارج. در این صورت باکتری ها در یک محیط مناسب تکثیر می شوند و ژن مورد نظر ما نیز به همراه آن تکثیر می شود.

چند اصطلاح:

Southern blot : در الکتروفورز ژل شکننده است. به همین خاطر گاهی اوقات روی ژل یک غشایی یا فیبری که دارای بار مثبت است می گذاریم و با استفاده از خاصیت موئینه (نه مو اونه) یا ساکشن سعی می کنیم DNA را که دارای بار منفی است روی غشا بیاوریم. به عمل انتقال DNA از ژل به فیلتر نایلونی Southern blot می گویند.

Western blot: اولاً :/ ثانياً اگر عمل بالا در مورد پروتئین باشد، بهش میگویم western blot

Northern blot: بازم همونه منتها در مورد RNA.

در پزشکی قانونی از این روش ها استفاده میشه. ☺

خب یساقی خسته نباشی :/ . انقدی ک جنابعالی هر چیزو چند بار تکرار کردی، مادر من اخلاقیات رو تکرار میکرد، من یه انسان قانونمند می شدم. هییی :دی خب این ترم هم گذشت، دهان ما نیز آسفالت گردید. همین الان کمر و گردنم دارن میترکن. ترم بدی نبود، یعنی بچه ها ساختنا، خود یونی ساخت (=) البته جا داره یادی کنیم از گروه ۱۹ و نویسندشون. خب من کار با کامپیوترم بد نی، هرچند یه مدتی بود دست به کیبورد نشده بودم ولی بازم واسم راحت بود ولی خانوم قاجار...:/ ایشالله ترم بعد در خدمت دوستان هستیم حالا چه این گروه دوست داشتنی، چه یه گروه دیگه. با تشکر از همه ی دوستانی ک واسمون زحمت

کشیدن. کسای ک مخ مارو تاب دادن از بس باهامون بحث فلسفی کردن (بله شما دوست عزیز ؛) دلمم
 واسه رقیبای قدیمیم تنگیده، پیام، سینا، هییییی زندگی، ما تو رو میسازیم یا تو مارو؟ اینم از سخن بزرگان.
 جدا از اینا.... خدا شاهده ☺ حالا بگذریم از یه سری پرونده ها که نباس اینجا وا بشه :(((((((با آرزوی
 موفقیت در امتحانای خرکی یونی و تمامی عرصه های زندگی

خدا پشت و پناهتون

غمگینه..... دل من..... خیلی سخته کم بیاد اون که پا به پا شی.....مگه میتونی جدا شی بابک جهانبخش 3<
 (تو که اون گوشه نشستی..... بخودت نگیر ☺)





به نامش و به یادش

گروه ۲۷ جزوه نویسی

در جلسه ی قبل با توجه به پیچیدگی های ژنوم تقسیم بندی هایی انجام دادیم و در این جلسه اون مبحثو ادامه می دیم:

در جلسه ی قبل درباره ی جهش های missense صحبت کردیم که یک نوکلئوتید با نوکلئوتید دیگر عوض می شود و آمینو اسید عوض می شود. مثال آن ها خانواده ای است که ازدواج فامیلی کرده اند که یکی از فرزندان حامل (اتوزومال مغلوب) و دیگری مبتلا می باشد و یک missence mutation دارد، که در طی آن یک نوکلئوتید عوض شده است و یک بچه با $IQ=120$ و اختلالات بافت های دیگر مثل استخوان، صورت و ستون فقرات ایجاد شده است. بچه عمر طبیعی هم نخواهد داشت که این مثال اهمیت missence mutation را نشان می دهد. در این مثال بیماری از دست های کودک و چونه ی عقب رفته ی آن معلوم است، ستون فقرات از بالا تا پایین به هم فیوز است یعنی گردن نمی تواند تکون بخورد و دست نمی تواند خم شود و تمام ستون فقرات و مفاصل به هم متصل هستند و میکرو گنیشیا دارد یعنی فک آن عقب است. چرا؟ چون در CT scan ، TMG joint (استخوان اسنپوئید و زایگوما به هم مفصل می شوند) را ندارد. یعنی نمی تواند غذا بخورد. دستهای آن هم لیپو دیستروفی (چربی زیر پوست) ندارد . اسم این بیماری اکرومندیلا دیسپلژیا می باشد و ژن آن ، ژن LMNA می باشد که این ژن یک developmental gene می باشد بدین معنی که موقعی که جنین می خواهد تشکیل شود بر بافت های مختلف تاثیرگذار است و اگر این ژن در fold پروتئین ها defect (نقص) داشته باشد، روی خیلی از بافت ها تاثیر دارد و حتی فرد ممکن است دیابت بگیرد. در نمونه ایدیدر فرد کلاویکل (ترقوه) ندارد و fusion استخوان ها رو ندارد و همچنین کروودینگ دندان ها (اختلال در نظم دندان ها) ممکن است در وی مشاهده شود.

حالا ژنتیک مولکولی اینجا کاربرد دارد که از جفت جنینی نمونه برداری می کند تا ناهنجاری های ممکن را پیش از تولد تشخیص دهیم. (در ترم ۴ با QRPSR که نوعی تست ژنتیک مولکولی است آشنا می شویم)

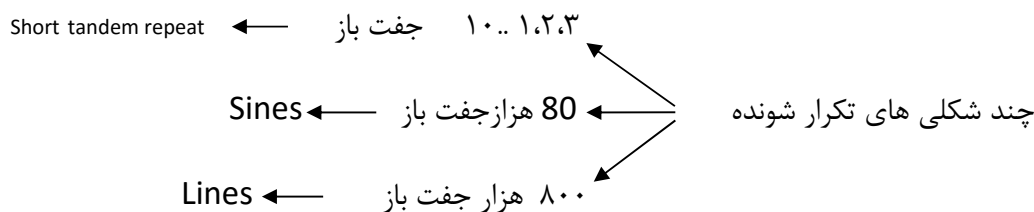
در جلسه ی قبل راجع به انواع جهش ها صحبت کردیم. حال همان مطلب را ادامه می دهیم.

به طور کلی ۲ نوع جهش از نظر مقیاس داریم :

Large scale ← مثل تریزومی ۲۱ که در این جلسه بحث می شود

انواع جهش از نظر مقیاس

Small scale ← که در جلسه ی قبل بحث شده



این چند شکلی ها در ژنوم هستند و چون هستند می توانند دچار تغییرات شوند و این تغییرات می تواند منجر به بیماری (پاتوژنیک) باشد. این اتفاق اگر بیافتد می تواند در نقاط مختلفی از ژن مانند پروموتور، اگزون، اینترون، 5'UTR، 3'UTR و ... باشد. که هر کدام فنوتیپ خاصی ایجاد می کند.

وقتی اتفاق در نواحی پروموتور یا اینترون اتفاق می افتد انتظار نداریم تغییری در پروتئین رخ دهد چون که کد کننده نیستند ولی چون بر روی نواحی کد کننده اثر گذار است می توانند فنوتیپ را ایجاد کنند به عنوان مثال بیشتر تغییراتی که در تالاسمی رخ می دهند از این نوع تغییرات هستند که در نواحی پروموتور و اینترون اتفاق می افتند ولی چون روی بیان ژن دخالت دارند باعث بروز فنوتیپ (بیماری تالاسمی) می شوند. گاهی اوقات مثل تالاسمی نواحی وجود دارد به نام LCR که حدود پانصد هزار جفت باز جلوتر از ژن واقعی آن که HBB ژن مربوط به بیماری تالاسمی) است قرار دارد. HBB یک ساختار است و 3000 تا 3300 جفت باز بیشتر ندارد و تحت کنترل نواحی دیگر مثل مثل LCR که پانصد صد هزار جفت باز جلوتر از محل این ژن است و اگر آن تغییر کند این ژن HBB نیز تغییر می کند. بنابراین این تغییرات می تواند در نواحی پروموتور، اینترونیک یا splice site باشد و می تواند بر روی بیان ژن تاثیر بگذارد.

اگر ۱۴ جفت باز مینی ستلایت در کنار این ژن (HBB) وجود داشته باشد و تکرار مینی ستلایت رو داشته باشیم بدون هیچ تغییری در خود ژن و فقط این توالی های تکراری تغییر کنند باعث دیابت نوع II می شود، دیابت مادر همه ی بیماری هاست. چون رگ را درگیر می کند و همه ی بافت ها هم رگ دارند، دیابت چون یک health problem می باشد روی ژنتیک آن بسیار کار می شود. به خصوص در مورد نوع II که در سنین بالا بروز می کند. تا حالا بیش از ۳۶۰ ژن مسئول دیابت شناسایی شده اند که تغییرات آن ها باعث بروز بیماری می شود، پس تشخیص و مدیریت آن سخت است. ما (منظور همون استاد 😊) این مثال را گفتیم چون به مربوط به مطلب ماست یهنی در رابطه با short tandem repeat است نه اینکه در مورد دیابت صحبت کنیم. مثال دیگر ژن CFTR می باشد که ژن بروز بیماری سیستیک فایبروزیس است کی طی آن هر جا تاژک و مژک وجود داشته باشد مثل دستگاه تنفس یا اسپرم، عمل تاژک و مژک مختل می شود. در این ژن انواع و اقسام تغییرات وجود دارد، یک بخش مربوط به بخش مربوط به Short tandem repeat می باشد که اگر در نواحی خاصی اتفاق بیافتد باعث CFTR می شود یعنی ژن حالت disfunction پیدا می کند و پروءین تولید نمی شود و در نتیجه سیستیک فایبروزیس ایجاد می شود.



ژن CFTR ۲۷ اگزون دارد، که انواع و اقسام جهش ها مانند deletion.missense و ... را دارد. در اگزون ۸ و اینترون ۷ تکرار های T وجود دارد. که تعداد آن ها می تواند ۵، ۷، ۱۰ و ... باشد. و این تعداد ممکن است تغییر پیدا کند. مثلاً می گویند اگر ۵۲ (۵، ۲ برابر تکرار شده باشد) باعث ایجاد بیماری می شود، و اگر ۷۲ باشد بیماری زا نیست. این قبل از اگزون و در درون اینترون روی می دهد و باعث تغییر در پیرایش (splice) می شود و در نتیجه پروتئین کد نمی شود. اگر ما ساختار ژن را ندانیم و ندانیم اگزون، اینترون و ... چه هستند، نمی توانیم بفهمیم چگونه بیماری ایجاد می شود. دسته ای از تغییرات silent mutation هستند، این ها base of deterioration هستند یک نوکلئوتید به جای یک نوکلئوتید دیگر می آید. محصول تغییر پیدا نمی کند. نمونه ی بارز آن بیماری SMA است. که بیماری بسیار بدی است. و در آن Spinalotrophy (آتروفی نخاعی) رخ می دهد و در نتیجه علائم عضلانی برای ما ایجاد می کند. این بیماری ۸ type دارد.

قسمت دوم: در ابتدا فقط بگم که خدا چی کار نکنه این اساتید ژنتیک رو که اینقدر بد درس میدن ...

قبلاً تعریف silent mutation گفته شد. یکی از انواع جهش های خاموش روی (silent) روی جایگاه پیرایش (splicing) رخ می دهد و توالی آن را بهم می زند. در این شرایط، پیرایش به درستی صورت نمی گیرد و بلاهای مختلفی می تواند بر سر mRNA ها بیاید و ناشی از آن پروتئین عملکردی تولید نشود و موجب بیماری شود.

یک مثال از این داستان ژن DNA Dr1 (والا من چنین چیزی شنیدم!! /:) که اگر چنین جهشی در آن رخ دهد، عملکرد خود را از دست می دهد و در پی آن، بدن به یه سری از دارو ها پاسخ نخواهد داد. سر همین قضیه یه شاخه از زیست شناسی به نام فارماکوژنومیکس بسیار مطرح شده است.

در این شاخه برای تجویز دارو، به ژنوتیب بیمار نیز توجه می شود. مثلاً مشاهده می شود که دو نفر در شرایط کاملاً مشابه (یک بیماری و ...) یک دارو را مصرف می کنند، ولی یکی میوه و اون یکی جواب نمیده. این یعنی تفاوت های ژنتیکی منجر به پاسخ های مختلف نسبت به دارو شده است. برای همین جدیداً برای تجویز دارو های گران قیمت و با عوارض جانبی بالا، ژنوتیب را هم بررسی می کنند.

دسته ی دیگر جهش ها جهش های Dynamic هستند. این جهش ها مرتبط هستند با حالت های مختلف میکروستلایت هایی که بیماری زا هستند.

مثالی از این داستان بیماری هانتینگتون است. به طور معمول، یک توالی تکراری CAG در یکی از اگزون های ژن مربوطه هست. اگر این تعداد بین ۶ تا ۲۴ تا باشه، فرد سالم هست، ولی اگر از این حد تجاوز کند، پروتئین ساخته شده گلوتامات بیش از حدی خواهد داشت که موجب می شود کارکرد (function) نداشته باشد و علائم

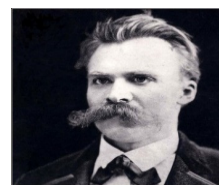


هانتیگتون بروز پیدا کند.

توجه! به این نوع جهش که در طی آن، پروتئین بدون عملکرد تولید می شود، جهش **Lost of function** گویند.

این اتفاق در مورد بیماری میوتنیک دیستروفی کلاس ۱ هم رخ می دهد. در این بیماری فرد عضلات تحلیل رفته ای دارد و کلا طرف خسته است! :) این به خاطر تکرار بیش از حد توالی CTG است که در ژن DMPK رخ می دهد. جالب اینجاست که این بار، این جهش موجب **Gain of function** یا به دست آوردت عملکرد می شود. یعنی بیان ژن را بالا می برد که البته خود این امر بیماری زاست. (این بیماری اتوزومال غالب است).

یکی دیگر از جاهایی که جهش های **Loss of function** برای ما اهمیت دارند، در مورد سرطان هاست. اگر ژن یکی از پروتئین هایی که مسؤل جلوگیری از سرطان است جهش پیدا کند، احتمال سرطانی شدن سلول بالا می رود.



سخن بزرگان :

ژنوم بسیار پیچیده است! آن قدر پیچیده که ما فقط اندکی از آن را می شناسیم، اصلا نباید بشناسیم، چون فضولیم! می ریم و می شناسیم و دستکاری می کنیم!! خدا اجازه نمی دهد !!!

عموما آلل های مربوط به جهش های **Loss of function** مغلوب هستند، زیرا یک آلل سالم دیگر اگر وجود داشته باشد، با بیان بیشتر، اغلب اوقات می تواند جای خالی دیگری را پر کند. اما استثناء هم دارد. مثلا در شرایطی که آلل سالم، به تنهایی نتواند به اندازه ی کافی پروتئین تولید کند، یا اینکه محصول آلل معیوب، موجب از کار افتادن محصول آلل سالم نیز بشود.

از طرفی عموما آلل های مربوط به جهش های **Gain of function** نیز غالب هستند، چون یک آلل برای بیان بیش از اندازه ی ژن کافی است.

یک سری از بیماری ها بر اساس **allele dosage** مشخص می شوند. (این قسمت رو استاد به شدت بد درس دادن، حتما اسلاید ها رو به نگاهی بندهاید، منم به مقدار توضیح اضافه می دم شاید که جا بیوفته ...). برای مثال در مورد بیماری های تریزومی و مونوزومی. در بیماری تریزومی، که از یک کروموزوم، به جای اینکه ۲ تا داشته باشیم، ۳ تا داریم (مثل سندروم داون) به علت بیان بیش از اندازه ی ژن ها (که به جورایی میشه دوز بالای آلل



ها!! علائم بیماری بروز می کند. مونوزومی هم همینطور، ولی برعکس، دوز پایین آلل ها موجب ایجاد بیماری می شود. اغلب اوقات مونوزومی بسیار خطرناکتر از تریزومی ها هستند (یعنی بیشتر بیان شدن برای بدن قابل تحمل تر است از بیان نشدن یا کم بیان شدن ...) برای همین اغلب بچه های مونوزوم اصلا به دنیا نمی آیند.

یک مثال بسیار جالب تر از این قضیه α -تالاسمی است! (یه مقدار مقدمه میگم) در زمان های بسیار قدیم در طی تکامل، یک دوبرابر سازی (duplication) از روی ژن زنجیره ی α صورت گرفت! یعنی هر کروموزوم مربوطه ۲ تا ژن مربوط به زنجیره α دارد، در نتیجه هر نفر ، ۴ تا ژن مربوط به زنجیره ی α دارد. (تعجب نکنید از این اتفاقات تو تکامل زیاد رخ میدهند) این ۲ تا ژن مربوط به α شبیه هم هستند، ولی همولوگ هم نیستند! یعنی انگار هیچ ربطی به هم ندارند. (می دونم به نظر خیلی گیج کننده میاد، ولی تقصیر من نیست،

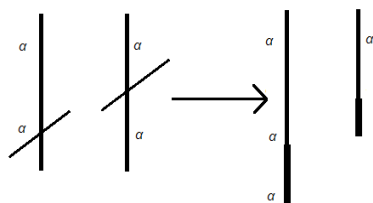
خب تو شکل مثل روبرو [شکل اسلاید ۸۷ مربوط به جلسه ۵ استاد یاسایی] فرد مورد نظر ۴ تا آلل α دارد. همانطور که می بینید، روی یک کروموزوم، ۲ تا ژن داریم برای زنجیره ی α ، همینطور روی اون یکی کروموزوم که همولوگش هست هم همینطور. این حالت نرمال است.

فرض کنید این ۲ تا کروموزوم همتا تتراد تشکیل بدند و شروع کنند به کراس اوور کردن. اما به علت مشکلاتی، کراس اوور به درستی انجام نشه، مثل شکل روبرو :

کراس
اوور

α

به این اتفاق می گویند کراس اوور نابرابر. اینگونه در کروموزوم های نسل بعد یه سری ۳ تا α و یه سری یه دونه α دارند. حتی در شرایط بدتر کراس اوور ممکن بود یکی از کروموزوم ها اصلا α نداشته باشد. به این اتفاق می گویند allelic homologous



non recombination (NAHR) که در طی آن، آلل هایی که همولوگ

نیستند، یک نو ترکیبی ایجاد کردند! (اصن توقع نمی ره کسی چیزه فهمیده باشه! |)

در هر صورت با توجه به شرایط گفته شده، ممکن است افرادی به وجود بیایند که ۳ تا α یا کمتر داشته باشند. کسانی که ۳ تا α دارند، سالم

هستند. اونایی که ۲ تا α دارند (فرقی نمی کنه جفتش روی یک کروموزوم باشه یا هر کدوم روی یک کروموزوم) دچار α -تالاسمی خفیف هستند. اگر یه دونه α داشته باشن، دچار حالت شدید بیماری هستند، و اگر اصلا طرف α نداشته باشه، در مراحل جنینی می میرد!

*توجه توجه !! NAHR تنها مکانیسم افتادن این اتفاقات نیست ، بلکه از مهمترین عوامل هست. جهش های دیگری مثل deletion و ... نیز در افتادن این اتفاق سهیم هستند.



Genetics

SBMU_Bahman93