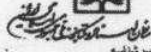


بررسی جهش ژن TDP-43 در بیماران مبتلا به SMA

مؤلفین :
شاهزاده‌هاز
سید حسین حسن پور (تهران)

چویل ۱۳۹۵



آدرس: یاسوج، خیابان ارم، فرعی ۹، پلاک ۱۰
تلفن: ۰۹۱۷۷۴۱۰۵۹۴

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
فصل اول : کلیات	
تحلیل عصبی عضلانی.....	۱۷
تظاهرات بالینی.....	۱۸
درگیری کل مدار موتوری.....	۱۹
عوارض کلی SMA.....	۲۰
تشریح بالینی دقیقتر SMA.....	۲۱
ژنتیک بیماری.....	۲۳
ژنوتیپ - فنوتیپ.....	۲۷
SMN1، SMN2 و ژن های مرتبط یا همسایه.....	۳۰
پروتئین SMN و نقش های آن.....	۳۲
تشخیص بالینی.....	۳۵
تغییرات شاخص در SMN1.....	۳۵
آزمایشات.....	۳۷
اساس تست های مولکولی - ژنتیکی.....	۳۷
تست های بالینی.....	۳۸

۳۹	 مدل‌های حیوانی مطالعات
۴۰	 نقش ژن TDP-43 در بیان ژن - تنظیم پیرایش (Splincing) در بیماری‌های انسان
۴۱	 TDP-43), Transactive DNA binding protein (TARDBP
۴۱	 پروتئین TDP-43
۴۴	 بیان ژن TDP-43
۴۵	 ایزو فروم‌های TDP-43 و توزیع آنها در سلول
۴۶	 نقش تنظیمی TDP-43 در نسخه‌برداری و پیرایش
۴۸	 پروموتور GENE ژن SP-10 موش
۵۰	 تنظیم پیرایش بیماری فیبروز کستیک اگزون ۹
۵۰	 پروتئین‌های HNP1 بیماری CFTR نقش مهاری دارند
۵۲	 آپولیوپروتئین II ¹ ژن ۳
۵۳	 تثبیت mRNA
۵۵	 نقش TDP-43 در اختلالات نورودژنراتیو
۶۲	 آر ان ای مداخله گر (RNAi)
۶۲	 کاربردهای RNAi
۶۳	 تاریخچه History
۶۳	 اجزای مسیر RNAi
۶۴	 عملکرد و ساختمان پروتئین آرگونات
۶۵	 نقش آنزیم Dicer در بارگیری (Loading) مولکول siRNA با دس کمپلکس RISC
۶۷	 مکانیزم RNAi
۶۸	 استفاده از ارتباط دهنده‌های آلکلی در مولکول‌های siRNA
۶۸	 انواع مختلف RNAi
۶۹	 RNAi محیطی
۶۹	 RNAi سیستمیک
۷۰	 مکانیسم miRNA
۷۳	 siRNA در مقابل Micr RNA
۷۴	 مکانیسم Antisense RNA

۷۵.....	موانع سد کننده ورود siRNA به درون سلول
۷۵.....	الف) سد کینتیک
۷۵.....	ب) سد فیزیکی (۱۱۷T)
۷۶.....	کاربردهای RNAi
۷۶.....	مکانیسم جذب dsRNA در حشرات
۷۶.....	الف) مکانیسم جذب کانالی از راه پروتئین‌های انتقال غشایی
۷۷.....	کاربرد RNAi در بیوتکنولوژی
۷۷.....	ترانسفکشن
۷۷.....	انواع ترانسفکشن
۷۸.....	الکتروپوریشن (Electroporation)
۷۸.....	روش ویروسی
۷۸.....	روش رترو ویروس
۷۹.....	معایب استفاده از رترو ویروس‌ها به عنوان عمل Transfection
۸۵.....	عمل Transfection سلولهای هلا با siRNA
۸۶.....	فاکتورهای موثر بر خاموش کردن ژن
۸۶.....	برای انجام عمل transfection یا siRNA در سلولهای پستانداران بایستی
۸۸.....	روش Transfection
۸۹.....	روش لکه گذاری غربی
۹۱.....	۱- آماده کردن نمونه
۹۱.....	۲- الکترو فروز
۹۲.....	۳- انتقال پروتئین‌ها و رنگ آمیزی و عمل وسترن بلات
۹۲.....	مراحل اول : تهیه کردن نمونه‌ها
۹۲.....	ساختن محلول لیزکننده
۹۶.....	آماده کردن نمونه‌ها
۹۸.....	تعیین غلظت پروتئین
۹۹.....	روش Brad Ford
۹۹.....	محلول براد فورد شماره یک

.....	محلول براد فورد شماره دو	۹۹
.....	روش کار با محلول شماره یک	۹۹
.....	استاندارد سازی پروتئین BSA برای محلول شماره یک	۱۰۰
.....	روش کار با محلول شماره ۲	۱۰۰
.....	استاندارد سازی محلول BSA برای محلول شماره ۲	۱۰۱
.....	الکتروفورزیر	۱۰۳
.....	الکتروفوریز	۱۰۴
.....	۱- تهیه ژل PAGE	۱۰۴
.....	۲- رل ای اد با امید	۱۰۴
.....	۳- مارکرهای پروتئینی	۱۰۶
.....	۴- Load کردن نمونه ها، انجام عمل الکتروفوریز	۱۰۶
.....	بافر الکتروود یا الکتروور	۱۰۷
.....	گروه های کنترل کننده	۱۰۷
.....	۵- انتقال پروتئین ها و رنگ آمیزی western blot	۱۰۸
.....	الف) مشاهده پروتئین ها در ژل	۱۰۸
.....	تهیه یک لیتر محلول رنگ آمیزی کوماسی با	۱۱۰
.....	روش تهیه	۱۱۰
.....	تهیه یک لیتر محلول رنگبر	۱۱۰
.....	روش تهیه	۱۱۱
.....	رنگ آمیزی با مس	۱۱۱
.....	تهیه محلول اسید کرومیک به حجم ۲,۵ لیتر	۱۱۱
.....	مواد لازم	۱۱۱
.....	روش تهیه	۱۱۲
.....	مرحله انتقال	۱۱۲
.....	روش انتقال پروتئین ها از محلول به غشاء به طور مستقیم	۱۱۲
.....	روش انتقال پروتئین ها از ژل به غشاء	۱۱۳
.....	رایجترین روش انتقال پروتئین ها	۱۱۳

انتقال مولکولهای پروتئین به کمک پدیده انتشار.....	۱۱۳
انتقال پروتئینها به کمک پدیده موئینگی یا (Capillary).....	۱۱۳
انتقال مولکولهای پروتئینی به کمک پدیده فشار.....	۱۱۴
انتقال مولکولهای پروتئین به کمک پدیده خلأ.....	۱۱۴
انتقال پروتئینها به روش جریان الکتریسیته.....	۱۱۴
اصول انتقال الکتروترانسفر.....	۱۱۴
انواع انتقال مولکولهای پروتئین به کمک جریان الکتریسیته.....	۱۱۵
روش انتقال مرطوب (تانک بلاتینگ).....	۱۱۶
روش انتقال نیمه خشک.....	۱۱۶
انتقال نیمه خشک.....	۱۱۷
عوامل مؤثر در فرآیند Blotting.....	۱۱۸
انواع غشاء مورد استفاده در Protein Blotting.....	۱۱۸
ماهیت بافر Transfer.....	۱۱۹
میزان جداسدن مولکول پروتئین از ژل.....	۱۱۹
میزان اتصال مولکولها پروتئینها به غشاء.....	۱۲۰
انواع غشاءها.....	۱۲۰
غشاء نیتروسلولوز.....	۱۲۰
غشاء پلی وینیلین دی فلوراید.....	۱۲۱
غشاء نایلونی فعال شده.....	۱۲۲
ماهیت بافر ترانسفر.....	۱۲۲
شدت جریان الکتریسیته.....	۱۲۳
ترانسفر با شدت جریان بالا.....	۱۲۳
ترانسفر با شدت جریان الکتریکی متعارف.....	۱۲۳
ترانسفر در شرایط ولتاژ ثابت.....	۱۲۴
انتقال در شرایطی که توان ثابت است.....	۱۲۴
ترانسفر در زمان جریان ثابت.....	۱۲۴
بافر انتقال.....	۱۲۵

۱۲۶	بافرهای لازم جهت ساختن ژل
۱۲۸	تهیه یک لیتر بافر الکترو فروز
۱۲۸	آماده سازی محلولهای مورد نیاز جهت آزمون ایمنوبلات در روش مرطوب
۱۲۸	بافر انتقال در روش نیمه خشک
۱۲۹	برای انتقال پروتئینهای کوچکتر از ۱۰۰-KD
۱۳۰	مرحله شناسایی
۱۳۰	مشاهده پروتئینهای منتقل شده به غشاء
۱۳۰	استانداردهای پروتئینی
۱۳۰	دلایل بکاربردن استانداردهای پروتئینی
۱۳۱	رنگ آمیزی عمومی پروتئینهای متصل به غشاء
۱۳۱	رنگ آمیزی غشاء با پانسو
۱۳۲	تشکیل استوک
۱۳۲	تهیه بافر شستشوی ۱۰X
۱۳۳	بافر شستشوی TBST
۱۳۳	مرحله اشباع کردن یا بلوکه کردن غشاء
۱۳۴	آلبومین سرم گاوی
۱۳۴	شیر خشک بدون چربی
۱۳۴	تهیه محلول اشباع کننده شیر خشک بدون چربی ۱۵ درصد
۱۳۵	آنتی بادی اولیه
۱۳۶	آنتی بادی ثانویه اختصاصی
۱۳۷	بافر مجاورت
۱۳۸	مدت زمان مجاورت
۱۳۸	درجه حرارت آنکوبه کردن
۱۳۸	مجاورت با آنتی بادی ثانویه
۱۳۹	بافر مجاورت و میزان رقت
۱۳۹	درجه حرارت
۱۳۹	روشهای شناسایی

۱۴۰	روش شناسایی رنگ سنجی
۱۴۰	سیستمهای رنگ سنجی با آنزیم HRP
۱۴۱	سیستمهای رنگ سنجی با آنزیم AP (آلکالین فسفاتاز)
۱۴۱	سوبستراهای رایج مورد استفاده برای آنزیم HRP
۱۴۲	ایجاد محصول رنگی به کمک آنزیم AP در سیستم رنگ سنجی
۱۴۲	روش شیمیایی
۱۴۵	مراحل انجام و ترمین بلات Western Blott
۱۴۵	۱- استخراج پروتئینها
۱۴۶	۲- سنجش پروتئین
۱۴۶	۳- آماده کردن ربهها
۱۴۷	۴- دناتوره کردن پروتئینها
۱۴۷	۵- مرحله بعدی الکتروفرز
۱۴۸	جمع و جور کردن سیستم کاست برای تهیه ژل
۱۵۰	باز کردن نمونهها
۱۵۲	مرحله انتقال
۱۵۴	عمل اشباع یا بلوک کردن
۱۵۴	مرحله شناسایی
۱۵۴	رقیق کردن آنتیبادی اختصاصی یا اولیه
۱۵۵	رقیق کردن آنتیبادی ثانویه
۱۵۵	مرحله ظهور
۱۵۷	Real-Time Pcr
۱۵۸	اصول کار Real Time PCR
۱۵۹	روشهای شناسایی در PCR-Real Time
۱۶۰	رنگهای فلورسنت متصل شونده به DNA
۱۶۳	پروپهای فلورسنت
۱۶۳	هیدرولیز پروپ
۱۶۴	پروپ

اصطلاحات پایه که در طی آزمون Real time به کار می‌روند.....	۱۶۶
انحراف معیار یا ضریب انحراف.....	۱۶۶
CT – (Threshold Cycle).....	۱۶۷
منحنی مشتق.....	۱۶۸
کنترل درونی.....	۱۶۸
گروه کنترل خارجی.....	۱۶۸
گروه خارجی.....	۱۶۸
مرجع خارجی.....	۱۶۸
ژن House Keeping.....	۱۶۹
گروه داخلی مثبت.....	۱۶۹
Logesick – Dilution (Serial-Dilution).....	۱۶۹
آنالیز منحنی ذوب (Melting Curve Analysis).....	۱۶۹
نرمالیزه کردن.....	۱۷۰
گروه کنترل منفی بدون الگو.....	۱۷۱
مقدار نرمال شده از ژن هدف.....	۱۷۱
ضریب (r).....	۱۷۲
استخراج RNA.....	۱۷۳
طرز رقیق کردن بافر RLT.....	۱۷۴
طرز رقیق کردن بافر RPE.....	۱۷۴
روش استخراج RNA.....	۱۷۴
تعیین میزان غلظت RNA استخراج شده با استفاده از دستگاه نانودراپ.....	۱۷۶
نسخه‌برداری معکوس و سنتز cDNA.....	۱۷۶
بررسی بیان ژن‌ها به روش Real-Time PCR.....	۱۷۷
استخراج DNA از خون.....	۱۸۰
مراحل PCR.....	۱۸۳
الکتروفورز.....	۱۸۴
الکتروفورز بر اساس بار الکتریکی.....	۱۸۶

۱۸۶	الکتروفورز بر اساس جرم مولکولی
۱۸۷	الکتروفورز در ژل آگارز
۱۸۹	دو خاصیت لودینگ بافر
۱۹۰	تکنیک‌های تعیین توالی DNA
۱۹۰	روش سنگر
۱۹۱	روش ماکدام-گیلبرت
۱۹۱	مواد برای PCR
۱۹۶	تهیه ژل آگارز ۲٪
۱۹۷	شناسایی
۱۹۷	ساخت بافر TAE 50X
۱۹۸	ساخت بافر TBE 5X
۲۱۴	نقش TDP-43 در عمل پیرایش
	از دیدگاه مولکولی در حال چهار سیستم وجود دارد که به نظر می‌رسد ژن TDP-43
۲۱۴	با عمل بر این سیستم نقش بسیار مهم در تنظیم پیرایش دارد
۲۱۵	مکانیسم خود تنظیمی TDP-43
۲۱۸	پردازش RNA
۲۲۳	فهرست منابع
۲۷۱	اختصارات
۲۷۳	واژگان