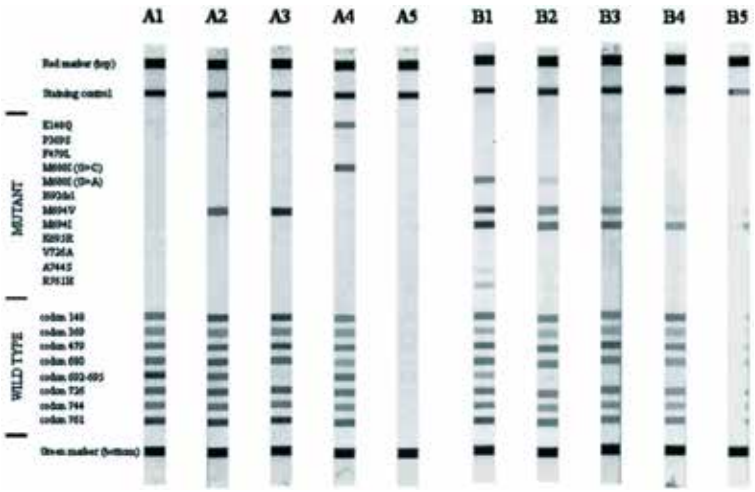
الناز عطری، کارشناس ارشد بیوتکنولوژی
محمد پوریعقوبی، دانشجوی دکترای نانوبیوتکنولوژی، دانشگاه تربیت مدرس

تکنولوژی Stripassay به عنوان روشی قدرتمند در تشخیص انواع جهش های ژنتیک

روش های تشخیص بالینی مارکر های مختلف مولکولی و ژنتیکی اغلب با صرف زمان و هزینه زیادی همراه است. به خصوص برای بیماری هائی مانند تب مدیترانه‌ای خانوادگی(FMF) که بیش از ٤٠ نوع جهش پیوسته با این بیماری بر روی ژن MEFV شناسائی شده است و تشخیص سریع برای شروع درمان مهم است، توسعه روش های تشخیص سریع و قدرتمند ضرورت می‌یابد. روش هائی مانند الکتروفورز ژل با دناتوراسیون تدریجی و توالی یابی مستقیم ژن‌ها که روش هائی زمان بر است و یا آنالیز برش با آنزیم های محدود کننده که توانائی شناسائی جهش های مشخصی را دارد، از روش‌های مولکولی رایج تشخیص جهش است. تکنولوژی Stripassay، روشی با سرعت بالا، با توانائی بررسی همزمان طیف کسترده جهش های پیوسته با بیماری ها را دارد. این تکنولوژی بر مبنای هیبریداسیون توالی DNA استخراج شده از سلول های هدف با پروب های الیگونوکلئوتیدی تثبیت شده بر سطح نوار های غشائی است. در صورت تثبیت توالی مکمل تیپ های مختلف جهش یافته و توالی طبیعی، می توان دقیقا نوع جهش و حتی هموزیگوت و هتروزیگوت بودن ژن مورد بررسی را تعیین کرد(۱).

در شکل۲ شماتیک هیبریداسیون معکوس بین پروب های الیگونوکلئوتیدی تثبیت شده بر روی یک بستر جامد را نشان می دهد(۲). در زیست شناسی مولکولی، پروب هیبریدی به قطعه ای ازDNA/RNA که معمولا بین ۱۰۰-۱۰ باز طول دارند گفته می شود. این قطعات می توانند با یک عامل



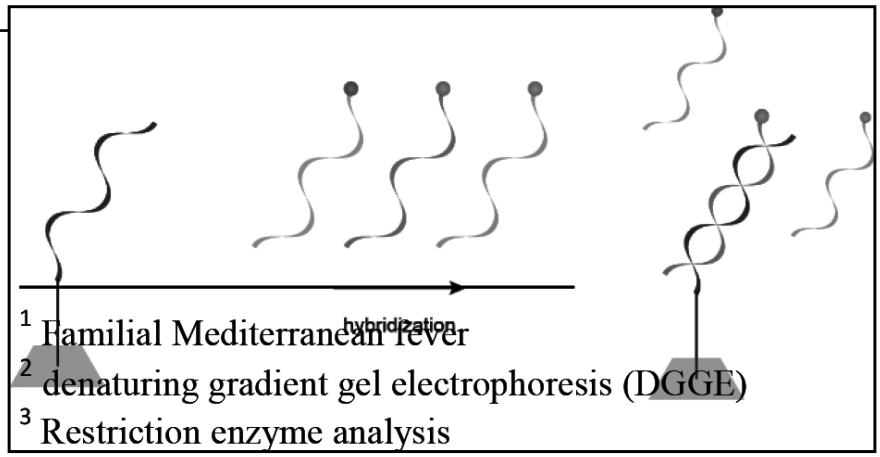
شکل۱ - الگوی هیبریدیزاسیون مربوط به StripAssay FMF

رنگی، فلوئورسنت و یا رادیواکتیو نشاندار شوند و متعاقبا در نمونه های DNA یا RNA برای شناسایی وجود توالی های نوکلئوتیدی به کار برده شوند. در ادامه پروب با یک (DNA/RNA) اسیدنوکلئیک هدف تک رشته ای جفت یا هیبرید می‌شود.

تکنولوژی Stripassay به طور کلی دارای سه مرحله اصلی است(۳):

- استخراج ماده ژنتیکی سلول هدف
- تکثیر ژن مورد نظر با واکنش ننجیره ای گلیمراز با استفاده از پرایمر های بیوتینیله
- هیبریدیزاسیون توالی تکثیر شده با پروب های نوکلئوتیدی موجود روی سطح استریپ

یکی از مزایای این متد نیاز به مقدار بسیار اندک DNA است که با واکنش PCR تکثیر می‌شود. محصول



شکل۲ - شماتیک هیبریدیزاسیون معکوس

دو رشته ای PCR تحت شرایط قلیایی (آلکالینی) دناتوره می شود و در یک بافر هیبریداسیون بر روی استریپ قرار می‌گیرد. پس از مراحل شستشو و هیبریداسیون، با افزودن سوبسترای دارای برچسب استرپتاویدین، تولید رنگ روی سطح استریپ باعث شناسایی توالی های هیبرید شده و نوع جهش می‌شود که می تواند حتی با چشم غیر مسلح نیز تفسیر شود.

مزیت دیگر تکنولوژی Stripassay، نشان دار کردن توالی هدف به جای پروب ها و اتصال پروب های بدون نشان به روی غشای باردار یا ماتریکس فاز جامد است.

علاوه بر سرعت بالا و انجام آزمایش در عرض چند ساعت، استفاده از پروب های مختلف بر روی یک استریپ، امکان بررسی طیف گسترده جهش های مختلف پیوسته با بیماری های ژنتیکی را در یک واکنش، فراهم می‌آورد.

از متد Reverse Hybridization در آزمایشات و تست های بسیار حساس و حیاتی استفاده شده است که از آن جمله می‌توان به بررسی جهش های سرطان زا مانند KRAS/NRAS/BRAF Mutations، بررسی اختلالات ژنتیکی مانند Thalassemia و مباحث فارماکوژنتیکی مانندHLAB27 اشاره کرد که تا به امروز باعث شده دانشمندان به نتایج ارزشمندی دست یابند و توانسته کمک بزرگی برای جامعه علمی و آزمایشگاهی دنیا باشد(٤).

منابع:

1- Tchernitchko, Dimitri, et al. “Clinical evaluation of a reverse hybridization assay for the molecular detection of twelve MEFV gene mutations.” Clinical chemistry 49.11 (2003): 1942-1945.

2- Smith, G. L. F., S. S. Socransky, and C. Sansone. ““Reverse” DMA hybridization method for the rapid identification of subgingival microorganisms.” Molecular Oral Microbiology 4.3 (1989): 141-145.

3- http://www.viennalab.com/technology

4- High sensitivity of reverse-hybridization methodology in the detection of KRAS mutations from formalin-fixed paraffin-embedded colorectal cancer samples. Authors: De Miglio MR1, Mura A, Uras MG, Manca A, Contini M, Murgia L, Zinellu A, Sotgia S, Carru C, Massarelli G, Cossu-Rocca P.

آگهی استخدام

شرکت معتبر واردکننده ی تجهیزات تحقیقاتی و آزمایشگاهی استخدام می نماید :

دانش آموختگان رشته های:

پزشکی، بیوتکنولوژی، فیزیولوژی گیاهی، مهندسی شیمی، متالوژی، مهندسی پزشکی، الکترونیک، زیست شناسی و همچنین گرافیست و تایپیست مسلط.

تلفن تماس : ۲۲۹۱۳۹٦٤

ایمیل :own.suraj@gmail.com