بسم الله الرحمن الرحيم

دانشگاه تربیت مدرس

دانشکده علوم زیستی

بسمه تعالی

تاییدیه اعضای هیات داوران حاضر در جلسه دفاع از پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد

اعضای هیئت داوران نسخهٔ نهایی پایان‌نامه **خانم زهرا بهادری** رشته **زیست شناسی (ژنتیک)** تحت عنوان:«**بررسی همبستگی دو پلیمورفیسم ژن NRG1 و دو پلیمورفیسم ژن PTPRZ1 با مالتیپل اسکلروزیس**» از نظر فرم و محتوا بررسی نموده و آنرا برای اخذ درجهٔ کارشناسی‌ارشد مورد تائید قرار دادند.

اعضای هیأت داوران	نام و نام خانوادگی	رتبه علمی	امضاء
۱- استاد راهنما	دکتر مهرداد بهمنش	استادیار	
۲- استاد مشاور	دکتر محمدعلی صحرائیان	دانشیار	
۳- استاد ناظر داخلی	دکتر مجید صادقی زاده	استاد	
٤- استاد ناظر خارجی	دکتر حمیدرضا خرم خورشید	دانشیار	
٥- نماینده تحصیلات تکمیلی	دکتر سیدجواد مولی	دانشیار	

آیین نامه چاپ پایان‌نامه (رساله)های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه (رساله)های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس، مبین بخشی از فعالیتهای علمی - پژوهشی دانشگاه است بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه،دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می‌شوند:

ماده ۱: در صورت اقدام به چاپ پایان نامه (رساله)ی خود، مراتب را قبلاً به طور کتبی به «دفتر نشر آثارعلمی» دانشگاه اطلاع دهد.

ماده ۲: در صفحه سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه) عبارت ذیل را چاپ کند:

«کتاب حاضر، حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد/ رساله دکتری نگارنده در رشته ژنتیک مولکولی است که در سال ۸۹ در دانشکده علوم زیستی دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی جناب آقای دکتر مهرداد بهمنش ، مشاوره جناب آقای دکتر محمدعلی صحرائیان از آن دفاع شده است.»

ماده ۳: به منظور جبران بخشی از هزینه‌های انتشارات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت‌چاپ) را به «دفتر نشر آثارعلمی» دانشگاه اهدا کند. دانشگاه می‌تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر درمعرض فروش قرار دهد.

ماده ۴: در صورت عدم رعایت ماده ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ شده را به عنوان خسارت به دانشگاه تربیت‌مدرس، تأدیه کند.

ماده ۵: دانشجو تعهد و قبول می کند در صورت خودداری از پرداخت بهای خسارت، دانشگاه می‌تواند خسارت مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند؛ به علاوه به دانشگاه حق می‌دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه، معادل وجه مذکور در ماده ۴ را از محل توقیف کتابهای عرضه شده نگارنده برای فروش، تامین نماید.

ماده ۶: اینجانب زهرا بهادری دانشجوی رشته ژنتیک مولکولی مقطع کارشناسی ارشد

تعهد فوق وضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می شوم.

نام و نام خانوادگی: زهرا بهادری

تاریخ و امضا: ۹۵/۲/۱۵

آیین‌نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهشهای علمی دانشگاه تربیت مدرس

مقدمه: با عنایت به سیاست‌های پژوهشی و فناوری دانشگاه در راستای تحقق عدالت و کرامت انسانها که لازمه شکوفایی علمی و فنی است و رعایت حقوق مادی و معنوی دانشگاه و پژوهشگران، لازم است اعضای هیأت علمی، دانشجویان، دانش‌آموختگان و دیگر همکاران طرح، در مورد نتایج پژوهشهای علمی که تحت عناوین پایان‌نامه، رساله و طرحهای تحقیقاتی با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد زیر را رعایت نمایند:

ماده ۱- حق نشر و تکثیر پایان نامه/ رساله و درآمدهای حاصل از آنها متعلق به دانشگاه می باشد ولی حقوق معنوی پدید آورندگان محفوظ خواهد بود.

ماده ۲- انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان‌نامه/ رساله به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجامع علمی باید به نام دانشگاه بوده و با تایید استاد راهنمای اصلی، یکی از اساتید راهنما، مشاور و یا دانشجو مسئول مکاتبات مقاله باشد. ولی مسئولیت علمی مقاله مستخرج از پایان نامه و رساله به عهده اساتید راهنما و دانشجو می باشد.

تبصره: در مقالاتی که پس از دانش‌آموختگی بصورت ترکیبی از اطلاعات جدید و نتایج حاصل از پایان‌نامه/ رساله نیز منتشر می‌شود نیز باید نام دانشگاه درج شود.

ماده ۳- انتشار کتاب، نرم افزار و یا آثار ویژه (اثری هنری مانند فیلم، عکس، نقاشی و نمایشنامه) حاصل از نتایج پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی کلیه واحدهای دانشگاه اعم از دانشکده ها، مراکز تحقیقاتی، پژوهشکده ها، پارک علم و فناوری و دیگر واحدها باید با مجوز کتبی صادره از معاونت پژوهشی دانشگاه و براساس آئین نامه های مصوب انجام شود.

ماده ٤- ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه یافته ها در جشنواره‌های ملی، منطقه‌ای و بین‌المللی که حاصل نتایج مستخرج از پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرح‌های تحقیقاتی دانشگاه باید با هماهنگی استاد راهنما یا مجری طرح از طریق معاونت پژوهشی دانشگاه انجام گیرد.

ماده ٥- این آیین‌نامه در ٥ ماده و یک تبصره در تاریخ۸۷/٤/۱ در شورای پژوهشی و در تاریخ ۸۷/٤/۲۳ در هیأت رئیسه دانشگاه به تایید رسید و در جلسه مورخ ۸۷/۷/۱۵ شورای دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب در شورای دانشگاه لازم‌الاجرا است.

«اینجانب زهرا بهادری .دانشجوی رشته ژنتیک مولکولی. ورودی سال تحصیلی۸۶ مقطع کارشناسی ارشد. دانشکده .علوم زیستی متعهد می شوم کلیه نکات مندرج در آئین نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهش های علمی دانشگاه تربیت مدرس را در انتشار یافته های علمی مستخرج از پایان نامه / رساله تحصیلی خود رعایت نمایم. در صورت تخلف از مفاد آئین نامه فوق الاشعار به دانشگاه وکالت و نمایندگی می دهم که از طرف اینجانب نسبت به لغو امتیاز اختراع بنام بنده و یا هر گونه امتیاز دیگر و تغییر آن به نام دانشگاه اقدام نماید. ضمناً نسبت به جبران فوری ضرر و زیان حاصله بر اساس برآورد دانشگاه اقدام خواهم نمود و بدینوسیله حق هر گونه اعتراض را از خود سلب نمودم»

امضا

تاریخ: ۹۵/۲/۵

دانشگاه‌تربیت مدرس

دانشکده علوم زیستی

پایان‌نامه دوره کارشناسی ارشد ژنتیک

بررسی همبستگی دو پلی‌مورفیسم از ژن *NRG1* و دو پلی‌مورفیسم از ژن *PTPRZ1* با بیماری مالتیپل اسکلروزیس

نگارش:

زهرا بهادری

استاد راهنما:

دکتر مهرداد بهمنش

استاد مشاور:

دکتر محمد علی صحرائیان

تیر ۸۹

تقدیم به پدر و مادر عزیز و بزرگوارم

که نمی‌توان ذره‌ای از زحمات

بی‌دریغشان را جبران کرد

تقدیم‌به همسر عزیز و مهربانم

که در مسیر علم و دانش

همواره همراه، همنورد و یاورم بوده

تقدیر و تشکر

با سپاس فراوان ازجناب آقای دکتر مهرداد بهمنش که راهنمایی‌های ایشان هدایت گر من در مسیر انجام این پایان‌نامه بود و با تشکر ویژه از دکترمحمدعلی صحرائیان، دکتر سید جواد مولی، دکتر بهرام محمد سلطانی و دکتر مجید صادقی زاده که از تجارب و آموخته های آنان استفاده زیادی کردم.

صادقانه از تمام بیماران و افراد سالمی که نمونه های خون آنها مورد استفاده قرار گرفت قدردانی می کنم.

همچنین از همیاری و همفکری‌های سرکار خانم جوقطاع، مونس حیدری، مهرنوش فتحی، مریم قلندری، روشنک نجفی کمال تشکر و قدرانی می‌گردد.

چکیده

مالتیپل اسکلروزیس (MS)، شایع‌ترین بیماری خودایمنی و التهابی سیستم عصبی مرکزی است و به عنوان یک بیماری پیچیده با سبب‌شناسی چندگانه و پاتولوژی هتروژن در نظر گرفته می‌شود. مطالعات اپیدمیولوژیکی به روشنی نشان می‌دهد که عوامل محیطی و ژنتیکی در استعداد ابتلا و بیماریزایی MS تأثیر می‌گذارند. تغییرات عمومی پاتولوژیک شامل درجات متنوع التهاب، تخریب میلین، فعال‌سازی کمپلمان، مرگ الیگودندروسیت، آسیب آکسونی و تشکیل پلاک می‌شود.

به‌دنبال حذف پاتولوژیکی میلین در بیماری‌هایی نظیر MS، فرآیند بازسازی میلین انجام می‌شود. این پدیده در بسیاری از آسیب‌های MS رخ می‌دهد ولی کافی و کامل نیست و در نهایت در اکثر آسیب‌ها با شکست مواجه می‌شود. افزایش بازسازی میلین یک استراتژی درمانی بالقوه است و قدم اول آن، درک علل شکست در این فرآیند ترمیمی می‌باشد.

به نظر می‌رسد مسیر پیام‌رسانی NRG1-ERBB نقش مهمی در تمایز سلول‌های نیایی الیگودندروسیت (OPC) و در نتیجه فرآیند بازسازی میلین داشته باشد. نروگلین۱ (NRG1) یک پروتئین پیام‌رسان است که با برقراری میانکنش های بین سلولی نقش مهمی در رشد سیستم عصبی ایفا می‌کند. یکی از اعضای دیگر این مسیر PTPRZ1 است که احتمالاً به عنوان تعدیل‌کننده مسیر پیام‌رسانی NRG1-ERBB عمل می‌کند.

محصولات ژن *PTPRZ1* می‌توانند در نوسازی سلول‌های بالغ، ترمیم سیستم عصبی، تکوین الیگودندروسیت و بازسازی میلین درگیر باشند.

ازآنجایی‌که مطالعات همبستگی روش مؤثری برای درک سهم ژنتیکی سبب‌شناسی بیماری‌های پیچیده است، ما تصمیم گرفتیم ارتباط ۴ SNP از این ژن‌ها را با بیماری مالتیپل اسکلروزیس در جمعیت ایرانی بررسی کنیم.

در مطالعات گذشته rs6994992 و rs7014762 به عنوان پلی‌مورفیسم‌های دارای عملکرد در ناحیه ٔ۵ پروموتر ژن *NRG1* گزارش شده اند که به ترتیب بر بیان ایزوفرم نوع ۴و۳ این ژن تأثیر می‌گذارند. پلی‌مورفیسم‌های rs13241278 و rs2693657 نیز به ترتیب در اینترون ۶ و ۹ ژن *PTPRZ1* قرار گرفته‌اند. برای تعیین ژنوتیپ از تکنیک PCR-RLFP و miss-match PCR-RLFP استفاده شد. در این مطالعه در صورت صرف نظر از انواع MS، تفاوت معنی‌داری بین افراد سالم و بیمار برای SNPهای مذکور یافت نشد ولی ارتباط معنی‌داری بین گروه مبتلا به SPMS و نیز PPMS با افراد سالم برای rs6994992 و rs2693657 و نیز بین گروه مبتلا به PPMS و افراد سالم برای rs7014762 مشاهده شد. این مسأله نشان می‌دهد که فنوتیپ های بالینی می-توانند اتیولوژی‌های متفاوتی داشته باشند و در نتیجه به استراتژی‌های درمانی مختلفی احتیاج دارند.

واژگان کلیدی: MS، بیماری پیچیده، بازسازی میلین، مطالعه همبستگی، SNP، *NRG1*، *PTPRZ1* .

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فهرست علامت‌ها ---------- ح

فهرست جدول‌ها ---------- ط

فهرست نمودارها ---------- ی

فهرست شکل‌ها ---------- ک

فصل ۱ (مقدمه)

۱.۱. مالتیپل اسکلروزیس ۱

۲.۱. علائم و نشانه‌های بالینی بیماری MS ۱

۳.۱. معیارهای تشخیص MS ۳

۴.۱. ارزیابی یافته‌های بالینی در MS ۴

۵.۱. دسته‌بندی انواع MS ۴

۶.۱. پیش‌آگهی MS ۶

۷.۱. بیماری‌زایی در MS ۶

۱.۷.۱. خودایمنی ۷

۱.۱.۷.۱. مروری بر روند خودایمنی ۷

۲.۱.۷.۱. شکست تحمل سلول B و T ۹

۳.۱.۷.۱. شکست سد خونی مغزی ۱۰

۲.۷.۱. تخریب میلین و بازسازی آن ۱۱

۳.۷.۱. آتروفی عصبی ۱۱

۴.۷.۱. هتروژنیتی آسیب‌ها ۱۳

۸.۱. درمان بیماری MS ۱۴

۱.۸.۱. اقدامات درمانی برای حملات حاد و شدید ۱۴

۲.۸.۱. درمان‌های تعدیل کننده بیماری ۱۴

۱.۸.۳. اقدامات درمانی برای اثرات MS ۱۵
۱.۸.۴. درمان‌های دیگر ۱۶
۱.۹. اپیدمیولوژی MS ۱۶
۱.۹.۱. موقعیت جغرافیایی ۱۶
۱.۹.۲. مهاجرت ۱۷
۱.۹.۳. سن ۱۸
۱.۹.۴.جنسیت ۱۸
۱.۹.۵. فصل تولد ۱۸
۱.۱۰. اپیدمیولوژی ژنتیک MS ۱۸
۱.۱۰.۱. مطالعات خانوادگی ۱۸
۱.۱۰.۲. مطالعات دوقلوهای همسان و غیرهمسان ۱۹
۱.۱۰.۳. مطالعات فرزند خواندگی ۲۰
۱.۱۰.۴. مطالعات خواهر و برادران ناتنی ۲۰
۱.۱۰.۵. مطالعات مربوط به والدین مبتلا ۲۰
۱.۱۱. ژنتیک بیماری‌های پیچیده ۲۱
۱.۱۱.۱. مارکرهای ژنتیکی ۲۲
۱.۱.۱۱.۱. پلی‌مورفیسم‌های تک‌نوکلوئیدی (SNP) ۲۲
۱.۱.۱۱.۲. ریزماهواره‌ها (میکروستلایت‌ها) ۲۲
۱.۱۱.۲. آنالیز ژنتیکی ۲۳
۱.۲.۱۱.۱. آنالیز پیوستگی ۲۳
۱.۲.۱۱.۲. آنالیز همبستگی ۲۳
۱.۲.۱۱.۳. مطالعات همبستگی مستقیم و غیرمستقیم ۲۴
۱.۱۱.۳. روش‌شناسی مطالعات ژنتیکی ۲۵
۱.۳.۱۱.۱. غربالگری گسترده ژنوم (Genome-Wide Screening) ۲۵
۱.۳.۱۱.۲. روش ژن برگزیده ۲۵
۱.۱۱.۴. انتخاب ژن‌ها و مارکرها ۲۶

۱۲.۱. مالتیپل‌اسکلروزیس به عنوان یک بیماری ژنتیکی پیچیده ۲۶
۱.۱۲.۱ مطالعات ژن برگزیده در مالتیپل‌اسکلروزیس ۲۷
۲.۱۲.۱. غربالگری گسترده‌ی ژنومی ۲۸
۱۳.۱.بازسازی میلین ۲۸
۱.۱۳.۱. میلین‌سازی ۲۹
۲.۱۳.۱. بازسازی میلین ۳۰
۳.۱۳.۱. بازسازی میلین در بیماری مالتیپل‌اسکلروزیس ۳۱
۴.۱۳.۱. مدل‌های تخریب میلین برای مطالعه چگونگی بازسازی میلین ۳۲
۱.۱۴. بیولوژی بازسازی میلین ۳۳
۱.۱۴.۱. تکثیر سلولی ۳۳
۲.۱۴.۱. فاکتورهای تنظیم‌کننده فعالیت و تکثیر OPC ۳۴
۳.۱۴.۱. فاکتورهای تنظیم کننده تمایز OPC ۳۵
۴.۱۴.۱. نقش التهاب در بازسازی میلین ۳۶
۱۵.۱. عوامل شکست بازسازی میلین در MS ۳۷
۱۶.۱. ژن *NRG1* ۳۸
۱.۱۶.۱. تشریح ساختار و عملکرد انواع مختلف NRG1 ..... ۳۹
۲.۱۶.۱. تأثیر NRG1 بر سلول‌های الیگودندروسیت و میلین‌سازی ۴۱
۱۷.۱. ژن *PTPRZ1* ۴۲
۱۸.۱. مسیر پیام‌رسانی NRG1-ERBB ۴۴
۱۹.۱. مسیر پیام‌رسانی NRG1-ERBB در بیماری اسکیزوفرنیا ۴۵
۲۰.۱. آیا می‌توان پلی‌مورفیسم‌های معنی‌دار بیماری اسکیزوفرنیا را در بیماری MS بررسی کرد؟ ۴۶
۲۱.۱. اهداف ۴۷

فصل ۲ (مواد و روش‌ها)

۱.۲. مواد و وسایل ۴۹

۱.۱.۲. بافرها و محلول ها ۴۹

۲.۱.۲. آنزیم‌ها ۵۰

۳.۱.۲. الیگونوکلئوتیدها ۵۱

۴.۱.۲. کیت‌ها ۵۲

۵.۱.۲. سایر مواد ۵۳

۶.۱.۲. وسایل ۵۳

۲.۲. روش‌ها ۵۳

۱.۲.۲. جمع آوری نمونه‌های خون ۵۳

۲.۲.۲. استخراج DNA از خون تام ۵۴

۳.۲.۲. کیفیت و کمیت سنجی DNA استخراج شده ۵۵

۱.۳.۲.۲. ژل آگارز ۵۵

۲.۳.۲.۲. اسپکتروفتومتری ۵۷

۴.۲.۲. تعیین ژنوتیپ برای اسنیپ‌های SNP rs6994992 و SNP rs7014762 و SNP rs13241278 و SNP rs2693657. ..... ۵۷

۱.۴.۲.۲. روش PCR-RFLP برای تعیین ژنوتیپ SNP rs6994992 و SNP rs13241278 ..... ۵۷

۲.۴.۲.۲. روش PCR-RFLP وMiss-Match Primer برای تعیین ژنوتیپ اسنیپ SNP rs2693657 و SNP rs7014762 ..... ۵۸

۵.۲.۲. پرایمرها ۶۰

۱.۵.۲.۲. طراحی پرایمر ۶۰

۲.۵.۲.۲. آماده سازی پرایمرها ۶۰

۶.۲.۲. واکنش های PCR و هضم آنزیمی ۶۰

۱.۶.۲.۲. PCR شیب دمائی برای پرایمرها ۶۰

۲.۶.۲.۲. هضم آنزیمی ۶۲

۷.۲.۲. تایید محصولات PCR و تعیین ژنوتیپ با تعیین توالی ۶۵

۸.۲.۲. آنالیز آماری ۶۵

فصل ۳ (نتایج)

۱.۳. نمونه گیری و اطلاعات بیماران ۶۷

۲.۳. نتایج استخراج DNA ژنومی ۶۸

۳.۳. نتایج تعیین ژنوتیپ‌ها ۶۹

۱.۳.۳. PCR شیب دمایی ۶۹

۲.۳.۳. هضم آنزیمی با آنزیم محدود کننده ۷۱

۳.۳.۳. نتایج هضم آنزیمی روی ژل ۷۲

۴.۳.۳. نتایج Alignment نمونه‌های تعیین توالی شده و توالی اصلی ۷۴

۵.۳.۳. نتایج تعیین توالی و تایید ژنوتیپ‌ها ۷۴

۴.۳. بررسی های آماری ۷۵

۱.۴.۳. نتایج فراوانی ژنوتیپی و اللی برای اسنیپ‌های مورد مطالعه در دو گروه بیمار و سالم ۷۵

۲.۴.۳. بررسی تعادل هاردی-واینبرگ برای هر اسنیپ در دو گروه بیمار و سالم ۷۵

۳.۴.۳. مقایسه فراوانی اللی و ژنوتیپی برای هر یک از اسنیپ‌ها در دو گروه بیمار و سالم ۸۰

۴.۴.۳. مقایسه فراوانی اللی و ژنوتیپی زیرگروه‌های MS و سالم برای هر یک از SNPها ۸۱

۵.۴.۳. مقایسه فراوانی اللی و ژنوتیپی دو جنس متفاوت بیمار و سالم برای هر یک از SNPها ۸۵

فصل ۴ (بحث و پیشنهادها)

۱.۴. بحث ۹۰

۲.۴. بحث درباره SNPهای مطالعه شده ۹۵

۳.۴. بررسی آنالیزهای ژنوتیپی و اللی SNPهای مطالعه شده ۹۸

۴.۴. بررسی آنالیزهای ژنوتیپی و اللی SNPهای مطالعه شده در زیرگروه‌های MS ۱۰۰

۵.۴. بررسی آنالیزهای ژنوتیپی و اللی SNPهای مطالعه شده با توجه به جنسیت افراد بیمار ۱۰۱

۶.۴. پیشنهادها ۱۰۲

فهرست منابع ۱۰۳

فهرست علامت‌ها

APOE ..... *Apolipoprotein E*

ARIA ..... *Acetylcholine Receptor-Inducing Activity*

BBB ..... *Blood Brain Barrier*

CSF ..... *Cerebra Spinal Fluid*

EAE ..... *Experimental Allergic Encephalomyelitis*

GGF2 ..... *Glial Growth Factor2*

GWA ..... *Genomic Wide Association*

H.W.E ..... *Hardy-Weinberg Equilibrium*

IFN-γ ..... *Interferon γ*

IL7R ..... *Interleukin 7 Receptor*

LD ..... *Linkage Disequilibrium*

MBP ..... *Myelin Basic Protein*

MMP ..... *Matrix metaloprotease*

MOG ..... *Myelin oligodendroglial glycoprotein*

MS ..... *Multiple Sclerosis*

NMDA ..... *N-methyl-D-aspartate*

OPC ..... *Oligodendrocyte Progenitor Cell*

PLP ..... *Proteolipid Protein*

PPMS ..... *Primary Progressive Multiple Sclerosis*

PTPRZ1 ..... *Protein Tyrosine Phosphatase Receptor-type Z polypeptid1*

RRMS ..... *Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis*

SMDF ..... *Sensory and Motor Neuron-Derived Factor*

SNP ..... *Single nucleotide polymorphism*

SPMS ..... *Secondary Progressive Multiple Sclerosis*

TNF-α ..... *Tumor Necrosis Factor α*

VCAM ..... *Vascular cell adhesion molecules*

χ2 ..... *Chi Square Test*

فهرست جدول‌ها

عنوان **صفحه**

جدول(۲-۱): توالی پرایمرها جهت بررسی ژنوتیپ‌ها ۵۲

جدول(۲-۲): مواد لازم برای PCR به کمک کیت MasterMix ۵۳

جدول(۲-۳): مواد لازم برایPCR ۶۱

جدول(۲-۴): برنامه PCR شیب دمائی برای تکثیر قطعه حاصل از پرایمرها ۶۱

جدول(۲-۵): هضم آنزیمی محصولات PCR SNP rs6994992 توسط آنزیم محدودکننده TaiI با دمای بهینه ۶۵°C ۶۲

جدول(۲-۶): هضم آنزیمی محصولات PCR SNP rs7014762 و SNP rs2693657 توسط آنزیم محدودکننده BamHI با دمای بهینه ۳۷°C ۶۲

جدول(۲-۷): هضم آنزیمی محصولات PCR SNP rs13241278 توسط آنزیم محدودکننده TaqI با دمای بهینه ۶۵°C ۶۳

جدول(۳-۱): تعیین دمای بهینه برای PCR ۶۹

جدول(۳-۲): شرایط هضم انزیمی ۷۱

جدول(۳-۳): قطعات حاصل از هضم انزیمی ۷۱

جدول (۳-۴): فراوانی اللی و ژنوتیپی SNP rs6994992 و تعادلH-W درگروه بیمار و سالم ۷۶

جدول (۳-۵): فراوانی اللی و ژنوتیپی SNP rs7014762 و تعادلH-W در گروه بیمار وسالم ۷۷

جدول (۳-۶): فراوانی اللی و ژنوتیپی SNPrs13241278 و تعادلH-W در گروه بیماروسالم ۷۸

جدول (۳-۷): فراوانی اللی و ژنوتیپی SNP rs2693657 و تعادلH-W در گروه بیماروسالم ۷۹

جدول (۳-۸): فراوانی ژنوتیپ و الل ریسک در بیمار و کنترل و بررسی تفاوت آنها ۸۰

جدول (۳-۹): فراوانی اللی و ژنوتیپی زیر گروه‌های MS و کنترل و بررسی تفاوت آنها برای SNP rs6994992 ۸۱

جدول (۳-۱۰): فراوانی اللی و ژنوتیپی زیر گروه‌های MS و کنترل و بررسی تفاوت آنها برای SNP rs7014762 ۸۲

جدول (۳-۱۱): فراوانی اللی و ژنوتیپی زیر گروه‌های MS و کنترل و بررسی تفاوت آنها برای SNP rs13241278 ۸۳

جدول (۳-۱۲): فراوانی اللی و ژنوتیپی زیر گروه‌های MS و کنترل و بررسی تفاوت آنها برای SNP rs2693657 ۸۴

جدول (۳-۱۳): فراوانی اللی و ژنوتیپی MS با توجه به جنسیت و بررسی تفاوت آنها با افراد نرمال برای SNP rs6994992 ۸۵

جدول (۳-۱۴): فراوانی اللی و ژنوتیپی MS با توجه به جنسیت و بررسی تفاوت آنها با افراد نرمال برای SNP rs7014762 ۸۶

جدول (۳-۱۵): فراوانی اللی و ژنوتیپی MS با توجه به جنسیت و بررسی تفاوت آنها با افراد نرمال برای SNP rs13241278 ۸۷

جدول (۳-۱۶): فراوانی اللی و ژنوتیپی MS با توجه به جنسیت و بررسی تفاوت آنها با افراد نرمال برای SNP rs2693657 ۸۸

فهرست نمودارها

عنوان **صفحه**

نمودار (۳-۱): فراوانی جنسیت در افراد گروه بیمار و کنترل ۶۷

نمودار (۳-۲): فراوانی انواع MS در افراد گروه بیمار ۶۸

نمودار (۳-۳): فراوانی اللی و ژنوتیپی SNP rs6994992 در گروه بیمار و سالم ۷۶

نمودار (۳-۴): فراوانی اللی و ژنوتیپی SNP rs7014762 در گروه بیمار وسالم..... ۷۷

نمودار (۳-۵): فراوانی اللی و ژنوتیپی SNPrs13241278 در گروه بیماروسالم ۷۸

نمودار (۳-۶): فراوانی اللی و ژنوتیپی در گروه بیمار و سالم SNP rs2693657..... ۷۹

نمودار (۳-۷): فراوانی اللی و ژنوتیپی زیر گروه‌های MS و کنترل و بررسی تفاوت آنها برای SNP rs6994992..... ۸۱

نمودار (۳-۸): فراوانی اللی و ژنوتیپی زیر گروه‌های MS و کنترل و بررسی تفاوت آنها برای SNP rs7014762 ..... ۸۲

نمودار (۳-۹): فراوانی اللی و ژنوتیپی زیر گروه‌های MS و کنترل و بررسی تفاوت آنها برای SNP rs13241278 ..... ۸۳

نمودار (۳-۱۰): فراوانی اللی و ژنوتیپی زیر گروه‌های MS و کنترل و بررسی تفاوت آنها برای SNP rs2693657..... ۸۴

نمودار (۳-۱۱): فراوانی اللی و ژنوتیپی MS با توجه به جنسیت و بررسی تفاوت آنها با افراد نرمال برای SNP rs6994992 ..... ۸۵

نمودار (۳-۱۲): فراوانی اللی و ژنوتیپی MS با توجه به جنسیت و بررسی تفاوت آنها با افراد نرمال برای SNP rs7014762..... ۸۶

نمودار (۳-۱۳): فراوانی اللی و ژنوتیپی MS با توجه به جنسیت و بررسی تفاوت آنها با افراد نرمال برای SNP rs13241278... ۸۷

نمودار (۳-۱۴): فراوانی اللی و ژنوتیپی MS با توجه به جنسیت و بررسی تفاوت آنها با افراد نرمال برای SNP rs2693657..... ۸۸

فهرست شکل‌ها

عنوان **صفحه**

شکل (۱-۱): MS با توجه به نحوه بروز، سیر بالینی و پیشرفت بیماری به چهار نوع تقسیم می شود ۵

شکل (۱-۲): تصویر شماتیکی از روند التهاب و خودایمنی در MS ۸

شکل (۱-۳): پلاک‌های MS ۱۳

شکل (۱-۴): شیوع MS در جهان ۱۷

شکل (۱-۵): نرخ همگامی برای افرادی که درجات متفاوت اشتراک ژنتیکی با بیماران دارند ۱۹

شکل (۱-۶): تصویر شماتیکی از دو روش اصلی همبستگی ۲۴

شکل (۱-۷): تصویر شماتیکی از ساختار انواع ایزوفرم‌های نروگلین ۱ ..... ۳۹

شکل (۱-۸): تصویر شماتیکی از ساختار انواع ایزوفرم‌های PTPRZ1 ..... ۴۲

شکل (۱-۹): تصویر شماتیکی از میانکنش ERBB4-MAGI-RPTPβ در غشای سلول ۴۴

شکل(۲-۱): شکل شماتیکی از روش PCR-RFLP برای تعیین ژنوتیپ rs6994992 از ژن NRG1. ..... ۵۷

شکل(۲-۲): شکل شماتیکی از روش PCR-RFLP برای تعیین ژنوتیپ rs13241278 از ژن PTPRZ1. ..... ۵۸

شکل(۲-۳): شکل شماتیکی از روش Miss-Match PCR RFLP برای تعیین ژنوتیپ rs2693657. ..... ۵۹

شکل(۳-۱): شش نمونه از DNA استخراجی روی ژل آگروز ۱ درصد ۶۸

شکل(۳-۲): PCR شیب دمایی برای تکثیر قطعه ۵۸۳ جفت بازی حاصل از پرایمرهای 243177، دمای بهینه ۶۱°C ۶۹

شکل(۳-۳): PCR شیب دمای برای تکثیر قطعه ۷۴۲ bp حاصل از پرایمرهای SNP rs7014762، دمای بهینه ۵۸°C ۷۰

شکل(۳-۴): PCR شیب دمایی برای تکثیر قطعه ۵۸۶ bp حاصل از پرایمرهای 13241278، دمای بهینه ۵۹°C ۷۰

شکل(۳-۵): PCR شیب دمایی برای تکثیر قطعه ۲۲۶ bp حاصل از پرایمرهای 2693657، دمای بهینه ۵۷°C ۷۰

شکل(۳-۶): نتایج هضم آنزیمی محصولات PCR با آنزیم TaiI برای اسنیپ SNP rs6994992 روی ژل آگارز ۱ درصد و رنگ آمیزی با اتدیوم برماید. ۷۲

شکل(۳-۷): نتایج هضم آنزیمی محصولات PCR با آنزیم BspPI برای اسنیپ SNP rs7014762 روی ژل آگارز ۱ درصد و رنگ آمیزی با اتدیوم برماید. ۷۲

شکل(۳-۸): نتایج هضم آنزیمی محصولات PCR با آنزیم TaqI برای اسنیپ SNPrs13241278 روی ژل آگارز ۱ درصد و رنگ آمیزی با اتدیوم برماید. ۷۳

شکل(۳-۹): نتایج هضم آنزیمی محصولات PCR با آنزیم BamHI برای اسنیپ SNP rs2693657 روی ژل آکریل آمید ۱۲درصد و رنگ آمیزی با اتدیوم برماید. ۷۳

شکل(۳-۱۰): نتایج تعیین توالی سه نمونه متفاوت پس از تعیین ژنوتیپ با روش RFLP برای SNP rs6994992. ..... ۷۴

شکل(۳-۱۱): نتایج تعیین توالی سه نمونه متفاوت پس از تعیین ژنوتیپ با روش RFLP برای SNP rs7014762. ..... ۷۴

شکل(۳-۱۲): نتایج تعیین توالی سه نمونه متفاوت پس از تعیین ژنوتیپ با روش RFLP برای SNPrs13241278. ..... ۷۵

شکل(۳-۱۳): نتایج تعیین توالی سه نمونه متفاوت پس از تعیین ژنوتیپ با روش Miss-match PCR/RFLP برایSNPrs2693657 ..... ۷۵

فصل ۱

مقدمه