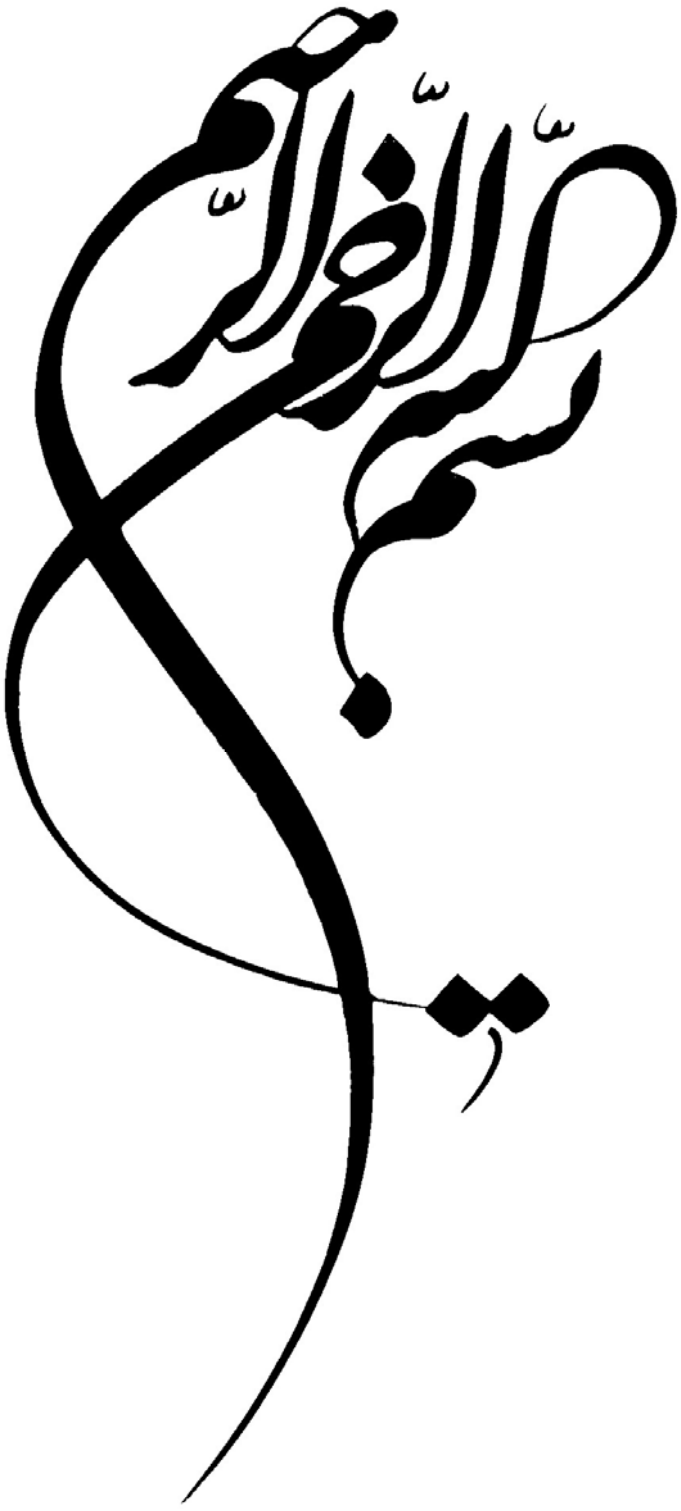

بسم الله الرحمن الرحیم

دانشگاه پیام نور
دانشکده: پیام نور مرکز تهران
گروه علمی: زیست شناسی

عنوان پایان نامه:

بررسی اثر کوتاه مدت دمای چهار درجه سانتیگراد بر پروفایل بیان ژن های انتقال دهنده های مونوکربوکسیلیک ۱و۲و۳و٤ در جنین چهار سلولی موش

نگارش:

ارغوان جانان

استاد راهنما:

دکتر مینا رمضانی

استاد راهنمای همکار:

دکتر احمد حسینی

استاد مشاور:

دکتر بهرام کاظمی

پایان نامه

برای دریافت درجه کارشناسی ارشد

در رشته

زیست شناسی علوم جانوری

ماه و سال

اسفند ماه ۱۳۸۸

دانشگاه پیام نور
دانشکده: پیام نور مرکز تهران
گروه علمی: زیست شناسی

عنوان پایان نامه:

بررسی اثر کوتاه مدت دمای چهار درجه سانتیگراد بر پروفایل بیان ژن های انتقال دهنده های مونوکربوکسیلیک ۱و۲و۳و٤ در جنین چهار سلولی موش

نگارش:

ارغوان جانان

استاد راهنما:

دکتر مینا رمضانی

استاد راهنمای همکار:

دکتر احمد حسینی

استاد مشاور:

دکتر بهرام کاظمی

پایان نامه

برای دریافت درجه کارشناسی ارشد

در رشته

زیست شناسی علوم جانوری

ماه و سال

اسفند ماه ۱۳۸۸

دانشگاه پیام نور

بسمه تعالی

تصویب پایان نامه/ رساله

پایان نامه/ رساله تحت عنوان

که توسط در مرکز تهیه و به هیئت داوران ارائه گردیده است موردتأیید میباشد.

تاریخ دفاع: نمره درجه ارزشیابی:

اعضای هیئت داوران:

نام نام خانوادگی:	هیئت داوران:	مرتبه علمی:	امضا:
۱-	استاد راهنما		
۲-	استاد راهنمای همکار		
۳-	استاد مشاور		
٤-	استاد داور		
٥-	استاد داور		
٦-	نماینده گروه آموزشی		
۷-	نماینده تحصیلات تکمیلی		
۸-	نماینده مدیریت آموزشی و تحصیلات تکمیلی		

تقدیم به

قلب پاک پدر و مادر مهربانم که دعای خیرشان بخشی عظیم از موهبت های الهی است.

تقدیم به

خواهر و برادر عزیزم که در تمامی مراحل زندگی همراه و پشتیبانم بودند.

تقدیم به

تمامی دوستان و دوستدارانم که مرا در بهتر بودن و بهتر شدنم یاری داده اند.

باژرفترین سپاسها

از استاد عزیزم سرکار خانم دکتر مینا رمضانی که با دانش و منش خود، طریق علم و انسانیت را به من آموخت.

سپاس بیکران

از استاد فرزانه ام جناب آقای دکتر احمد حسینی که با مهر و علم خود، مرا در فضای پر مهر و صداقت رشد و تعلیم داد.

سپاس بیدریغ از

جناب آقای دکتر بهرام کاظمی به دلیل همکاری فراوان و مشاوره علمی.

و سپاس فراوان

از تمامی پرسنل مهربان مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی و گروه آناتومی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی.

چکیده:

هدف:اسیدهای مونوکربوکسیلیک نقش مهمی در متابولیسم سلول بازی میکنند.در PH سلولی ، اسید لاکتیک به آنیون لاکتات تبدیل میشود ولی چون این مولکول باردار قادر به عبور از سلول نیست لذا به مکانیسم خاصی نیاز دارد که همان انتقال دهنده های مونوکربوکسیلیک است. یکی از روشهای نگهداری جنین، انجماد آن است ولی از آنجا که انجماد میتواند سبب کشته شدن جنین، ایجاد ناهنجاری کروموزومی و ... شود، لذا توجه محققان به نگهداری جنین در دمای 0°-10°C معطوف شده است.هدف از این مطالعه، بررسی اثر کوتاه مدت دمای 4°C بر پروفایل بیان ژنهای انتقال دهندههای مونوکربوکسیلیک ۱و۲ ۳ و٤ در جنین چهار سلولی موش است.

مواد و روشها:برای مطالعه جنینهای چهار سلولی به دو گروه، هر کدام با ۱۲ جنین تقسیم شدند، گروه اول یا کنترل: جنینهای چهار سلولی موش بصورت تازه و گروه دوم یا آزمایش: جنینهای چهار سلولی موش که به مدت ٢٤ ساعت در دمای 4°C قرار گرفتند. پس از استخراج RNA و انجام PCR، نمونهها الکتروفورز شد تا پروفایل بیان ژنهای انتقال دهند های مونوکربوکسیلک۱-٤ در آنها بررسی گردد.

نتیجهگیری: ژنهای انتقال دهنده مونوکربوکسیلیک ۱و۲و۳ و نه ٤ در جنین های تازه چهار سلولی موش بیان میشوند.

همچنین در گروه جنینهای چهار سلولی که به مدت ٢٤ ساعت در دمای چهار درجه سانتیگراد قرار گرفتند، هیچ یک از ژنهای فوق بیان نشدند. لذا نگهداری جنینهای چهار سلولی بمدت٢٤ ساعت در 4°C، بعلت عدم بیان ژنهای انتقال دهنده مونوکربوکسیلیک ۱و۲و۳و٤ روش مناسبی نمیباشد.

کلمات کلیدی: دمای چهار درجه سانتی گراد، ژن های انتقال دهنده ی مونوکربوکسیلیک، جنین چهار سلولی موش، PCR

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

مقدمه: ۱

اهداف: ٤

فصل اول:بازنگری منابع و اطلاعات

۱-۱- مطالعه بیان ژن:..... ٦

۱-۲- انتقال دهنده های مونوکربوکسیلاتها:..... ۹

۱-۲-۱ -MCT1..... ۱۳

پراکندگی در بافت‌ها..... ۱۳

عضله اسکلتی:..... ۱۳

قلب:..... ۱۳

مغز:..... ۱٤

شبکیه:..... ۱٤

اسپرماتوزوآ:..... ۱٤

کورتکس کلیه:..... ۱٤

معده:..... ۱٤

کبد:..... ۱٥

جفت:..... ۱٥

کولون:..... ۱٥

روده:..... ۱٥

۱-۲-۲- MCT2..... ۱٥

پراکندگی در بافت‌ها:..... ۱٦

قلب:..... ۱٦

کبد:..... ۱٦

عضله اسکلتی:..... ۱۷

مغز:..... ۱۷

شبکیه: ۱۸
گوش داخلی: ۱۸
کلیه: ۱۸
معده: ۱۸
بیضه: ۱۸
۱-۲-۳- MCT3 ..... ۱۹
۱-۲-٤- MCT4 ..... ۱۹
۱ -۳- مهار کننده‌های MCTs ۲۰
۱ -٤ – CD147 ..... ۲۰
۱- ۵- گلوکز: ۲۲
۲- مسیر پنتوز فسفات: ۲۵
۱-٦- لاکتات: ۲٦
۱-۷- پیروات: ۲۷
۱-۸- جنین قبل از لانه گزینی: ۲۸
۱-۹- کنترل متابولیکی در جنین: ۲۸
۱-۱۰- کنترل PH در جنین قبل از لانه گزینی: ۲۸
۱-۱۱- متابولیسم گلوکز،لاکتات و پیروات در جنین قبل از لانه‌گزینی: ۳۱
۱ -۱۲ – پروتئین های MCT1-4 در جنین انسان و موش: ٤۱
۱-۱۳- PCR ٤۲
۱-۱٤- PCR چگونه کار میکند: ٤۵
۱-۱۵- RT-PCR ٤٦
۱-۱٦- RT-PCR استاندارد: ٤۷
فصل دوم: مواد و وسایل
۲-۱ – وسایل مورد استفاده: ۵۱
۲-۲- مواد مورد استفاده: ۵۲
۲-۳- طراحی پرایمر: ۵۲
۲-٤- جنین شناسی موش: ۵۲

۲-۵- روش بدست آوردن جنین از موش: ۵۲
۲-٦- تحریک تخمک گذاری: ٦۱
۲-۷- روش بدست آوردن جنین‌های چهار سلولی: ٦۱
۲-۸- تهیه cDNA بافتی با استفاده از کیت استخراج RNA ٦۱
۲-۹- انجام PCR ٦۲
۲-۱۰- الکتروفورز نمونه‌ها: ٦٤
۲-۱۱- محیط کشت KSOM ٦٤
نتایج
نتایج: ۷۳
بحث
بحث: ۷۷
منابع
منابع فارسی ۸۱
منابع انگلیسی ۸۱
پیوست‌ها ۸۹

فهرست جدول‌ها، نمودارها و اشکال

عنوان **صفحه**

شکل ۱-۱- توالی فرآیندهای درگیر در بیان ژن و تولید پروتئین‌ها ٦
شکل ۱-۲- فرآیند بیان ژن ۷
شکل ۱-۳- مسیرهای متابولیسمی نشان دهنده انتقال مونوکربوکسیلاتها از غشاء ۱۰
شکل ۱-٤- توپولوژی موتوکربوکسیلاتها در غشاء سلولی ۱۱
شکل ۱-٥- مقایسه متابولیسم لاکتات در عضله و مغز ۱۲
شکل ۱-٦- نقش انتقال دهنده مونوکربوکسیلات شماره ۲ در کبد و کلیه ۱۷
شکل ۱-۷- توپولوژی فرضی مونوکربوکسیلاتها ۲۱
شکل ۱-۸- مسیر گلیکولیز ۲۳
شکل ۱-۹- نمودار شماتیک بعضی از مسیرهای متابولیسم انرژی ۲٤
شکل ۱-۱۰- چرخه کربس ۲٥
شکل ۱-۱۱- اتصال اولیگونوکلئوتیدها ٤۳
شکل ۱-۱۲- طویل شدن پرایمرها بوسیله DNA پلیمراز ٤٤
شکل ۱-۱۳- PCR از نقطه نظر تئوری مقدار DNA هدف را در هر سیکل دو برابر میکند ٤٥
شکل ۱-۱٤- نمایش تغییرات دمایی در طی PCR ٤٦
شکل ۱-۱٥- خالص سازی mRNA با استفاده از بستر جامد متصل به oligo-dT و سپس ساخت رشته اول cDNA ٤۸
شکل ۱-۱٦- ساخت اولین رشته cDNA ٤۹
شکل ۲-۱۷- مراحل تکاملی جنین قبل از لانه گزینی ٥٤
شکل ۲-۱۸- تزریق داخل صفاقی به موش ٥٥
شکل ۲-۱۹- پلاک واژنی ٥٥
شکل ۲-۲۰- طریقه کشتن موش ٥٦
شکل ۲-۲۱ - طریقه باز کردن شکم موش، اندامهای داخلی موش ماده ٥۷
شکل ۲-۲۲- نحوه بریدن اویداکت ٥۸
شکل ۲-۲۳- اویداکت و آمپول ٥۸

شکل ۲-۲٤- طریقه انجام فلاشینگ ٥٩
شکل ۲-۲٥- مورفولوژی تکامل قبل از لانه گزینی در موش. ٦٠
جدول ۱: انجام PCR ٦٣
جدول ۲: تنظیم دما برای PCR ٦٣
شکل ۲-۲٦- میکروسکوپ لوپ ٦٥
شکل ۲-۲۷- دستگاه اتوکلاو ٦٥
شکل ۲-۲۸- دستگاههای PCR ٦٦
شکل ۲-۲۹- تانک الکتروفورز و منبع تغذیه مربوط به آن ٦٦
شکل ۲-۳۰- دستگاه UV Transiluminator و عکسبرداری از ژل ٦٧
شکل ۲-۳۱- ترازوی دیجیتال ٦٧
شکل ۲-۳۲- ست تشریح ٦٨
شکل ۲-۳۳- انکوباتور جهت کشت جنین ٦٨
شکل ۲-۳٤- سرنگ انسولین ٦٩
شکل ۲-۳٥- ظروف کشت، پیپت پاستور، میکرو پیپت دهانی، دیش فالکون ۳٥ میلمتری، محیط کشت ٦٩
شکل۲ -۳٦- ژل الکتروفورز ۷۰
شکل ۲-۳۷- کیت استخراج RNA ۷۰
شکل ۲-۳۸- دستگاه سانتریفیوژ ۷۱
شکل ۳-۳۹- پروفایل بیان ژنهای MCT1-4 در جنین چهارسلولی موش به صورت تازه ۷٤
شکل ۳-٤۰- پروفایل بیان ژنهای MTC1-4 در جنین چهارسلولی موش در دمای ٤ درجه سانتیگراد. ۷٥

مقدمه

Introducti

مقدمه:

امروزه در دنیا درخواست قابل توجهی برای استفاده از ART[1] برای غلبه بر مشکلات نـازایی وجـود دارد. به موازات آن انهدام تنوع ژنتیکی همه گونه ها در سراسر دنیا در حال وقـوع اسـت و ART بـه عنوان یک روش قابل قبول جهت اصلاح تنوع ژنتیکی مورد استفاده قرار می گیرد ، که در ایـن روش نیاز به نگهداری جنین داریم. یکی از روشهای متداول نگهداری جنین، انجماد جنین اسـت. در دمـای انجماد متابولیسم سلولی کاهش یافته و تقسیمات سلولی متوقف می شود، بطوری که این سلولها پس از بازیابی از شرایط فوق و قرار گرفتن در محیط کشت قادر به ادامه رشد مـی باشـند. هـر چنـد کـه نگهداری جنین در دمای پایین با روش های انجمادی با موفقیت بسیار تؤام بـوده اسـت، امـا انجمـاد می‌تواند سبب کشته شدن جنین و یا ناهنجاری کروموزومی در آن شود [Mazur ,P.,1984:194:4].

از هـم گـسیختگی میکروتوبولهـا [Trounson, A. 1976:778-52]،اخـتلال در کلیـواژ [Hunterx, J.e.,1995:1184.] ، اختلال در رشد جنین [Miyoshi I.,1992:198-201] ، کاهش میزان لانه گزینـی [Pollard J.w,1994:101] ، متعاقب نگهداری جنین با روش های انجمادی گزارش شـده اسـت بـه دنبال آسیب های وارد شده به جنین در روشهای انجمادی که اکثراً به علـت واکـنش ضـد یـخ‌هـا بـا پروتئین ها ی سلولی و نیز تشکیل کریستالهای یخ داخل سلولی است، توجـه عـده‌ای از محققـان بـه روش های غیر انجمادی و نگهداری جنین در دمای $0^{\circ}C$ تا $10^{\circ}C$ معطوف گردیده است. نخستین بـار تکنیک غیر انجمادی برای نگهداری جنین گوسفند توسط مور مطرح شد-Moore N.,W,1973:1421 1427,]. پس از آن رشد محـدود جنـین مـوش [Kasai M.,1983:377-380] ، خرگـوش [Hughes M.,1982:257-282] ، گـاو [Hughes M.,1982:257-282۸ و Kasai M.,1986:10-14]، متعاقـب نگهداری در دمای $0^{\circ}C$ تا$10^{\circ}C$ گزارش شد[Trounson A,1976:367-370]. در آزمایشی که توسـط بختیاری و همکاران انجام شد ، تأثیر دمای چهار درجه بر روی میـزان رشـد و لانـه گزینـی جنـین ۸ سلولی موش مورد بررسی قرار گرفت [بختیاری مهـرداد،۱۳۸۱:۱۵] . در سـال ۲۰۰۱ بیـان ژنهـای در حین تکامل جنین موش قبل از لانه گزینـی بـه روش کتابخانـه cDNA در هفـت مرحلـه تکـاملی از اووسیت تا بلاستوسیست بررسی شد [Stanton Jl,2007:542-520].

اطلاعات درباره انتقال لاکتات، پیروات و چگونگی تنظیم آنها در مراحل اولیه تکامل اندک است. ایـن مطالعه بر بیان ژنهای انتقال دهنده مونوکربوکسیلیک تمرکز دارد. ایـن پروتئینهـا انتـشار همگـام یـک پروتون و یک یون مونوکربوکسیلیک (مثل پیروات، لاکتات یا بتا هیدروکـسی بـوتیرات) را تـسهیل

1.Artificial Reproductive Technology

میکنند. تا به امروز چهارده پروتئین MCT[2] شناخته شده که همه آنها دارای ۱۰ – ۱۲ قسمت مارپیچ آلفا و یک ترمینال –C و یک ترمینال–N در سیتوپلاسم خود میباشند [Halestrap and Meredit2004,Halestrap and Price 1999]از چهارده ایزوفرم شناخته شده ، فقط MCT1 ، MCT2 ، MCT3، MCT4 به خوبی بررسی شده اند. خصوصیات انتقالی MCT_s ، با استفاده از اندازه گیری فلوئورسنس تغییر PH و بیان mRNA برای MCT1-4 در جنین های موش نشان داده شده است. در این مطالعه تلاش شده است تا پروفایل بیان ژنهای MCT1 ، MCT2 ، MCT3، MCT4 را در جنین های ٤ سلولی موش در محیط کشت ksom بصورت تازه و جنین های ٤ سلولی موش که به مدت ٢٤ ساعت در دمای ٤ درجه سانتی گراد در محیط کشت KSOM بودند مشخص کنیم.

در حالیکه اطلاعات درباره مکانیسم تولید جنین در In vitro و کشت آنها تا مرحله بلاستوسیست و انتقال موفقیت آمیز آنها تقریباً کامل است ، اما دانسته ها در مورد پدیده هایی که منجر به انتخاب متابولیکی و تغذیه ای در مراحل مختلف تکامل می گردد، اندک است.

گرچه مراحل قبل از لانه گزینی ظاهراً ساده به نظر می رسند، اما این دوره شامل پدیده های مهم و مکانیسم های دقیقی است که در مورد بعضی از آنها اطلاعات بسیار اندک است. این پدیده ها شامل شروع و ادامه کلیواژ، فعال شدن ژنوم جنینی، انسجام و تراکم بلاستومرها، تمایز تروفوبلاست ها و توده های سلولی داخلی، تشکیل و گسترش حفره بلاستوسیست ، بیرون آمدن از قشر شفاف و در بعضی از گونه ها، رشد بیشتر است. جای تعجب نیست که تکامل اولیه جنین توسط بسیاری از فاکتورهای داخلی و خارجی مانند یونها ی معدنی ، بافرها، ترکیبات گازی ، اسیدهای آمینه، فاکتورهای رشد، ویتامینها و ماکرومولکولها تحت تأثیر قرار گیرد. بنابراین دانستن ارتباط بین متابولیسم و مکانیسم مصرف انرژی در مراحل اولیه تکاملی جنینی ، برای درک اصول بیولوژی تکاملی و بهبود بخشیدن به نتایج تکنیکهای عملی مانند IVF ، کشت، کلونینگ ، انتقال ژن و انجماد جنین از اهمیت ویژه ای برخوردار است.

واضح است که تکامل جنین به درجات متفاوتی از بیان ژن و تمایز سلولی بستگی دارد که بسیار وسیع تر از آن چیزی است که برای تغییر عملکرد بافت های فرد بالغ مورد نیاز است.

اطلاعات درباره انتقال لاکتات ، پیرووات و چگونگی تنظیم آنها در مراحل اولیه تکامل اندک است. این مطالعه بر تأثیر دمای چهار درجه سانتیگراد بر روی جنین های چهار سلولی موش تمرکز دارد، که

2.Monocarboxylate Transporter

آیا این دما روی روشن و یا خاموش شدن ژنهای انتقال دهنده مونوکربوکسیلیک ۱ – ٤ اثر منفی خواهد داشت یا تأثیر قابل توجهی نخواهد داشت.

اهداف :

- نگهداری جنین های چهار سلولی موش در محیط کشت KSOM در دمای $4^{\circ}C$ به مدت ٢٤ ساعت.
- تعیین الگوی بیان ژنهای انتقال دهنده منوکربوکسیلیک ۱ و ۲ و ۳ و ٤ در جنین‌های چهار سلولی موش که به مدت ٢٤ ساعت در دمای $4^{\circ}C$ قرار دارند.
- تعیین الگوی بیان ژنهای انتقال دهنده های مونوکربوکسیلیک ۱و ۲ و ۳ و ٤ در جنین‌های چهار سلولی موش به صورت تازه .
- مقایسه چگونگی الگوی بیان ژنها در این دو گروه نسبت به یکدیگر.

فصل اول:

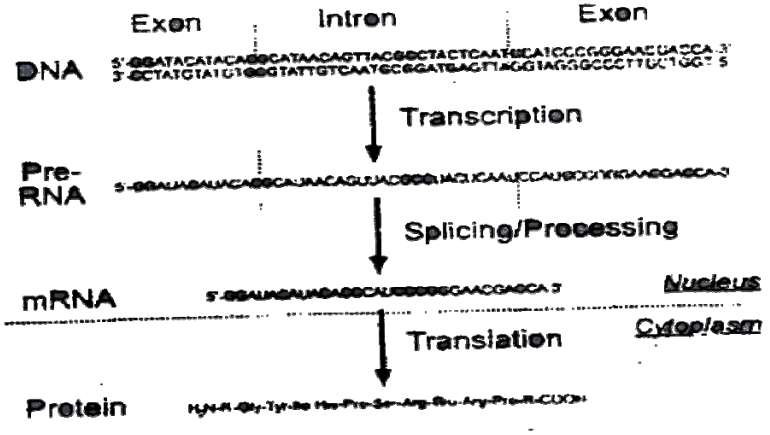
بازنگری منابع و اطلاعات

(Review of Articles)

بازنگری منابع و اطلاعات :

۱-۱- مطالعه بیان ژن :

مطالعات در دو زمینه آنالیز بیان mRNA و آنالیز بیان پروتئین ها به طور رقابتی در حال انجام است. حقیقت این است که مطالعه بیان mRNA و بیان پروتئین مکمل یکدیگرند و هیچیک نمی تواند جایگزین دیگری شود. ساختمان پروتئین ها بر پایه اطلاعات موجود در توالی بازهای DNA تعریف می شود. mRNA یک کپی از DNA است که هسته سلول را ترک می کند و براساس توالی آن در سیتوپلاسم ، سنتز پروتئین انجام می شود (شکل ۱-۱).

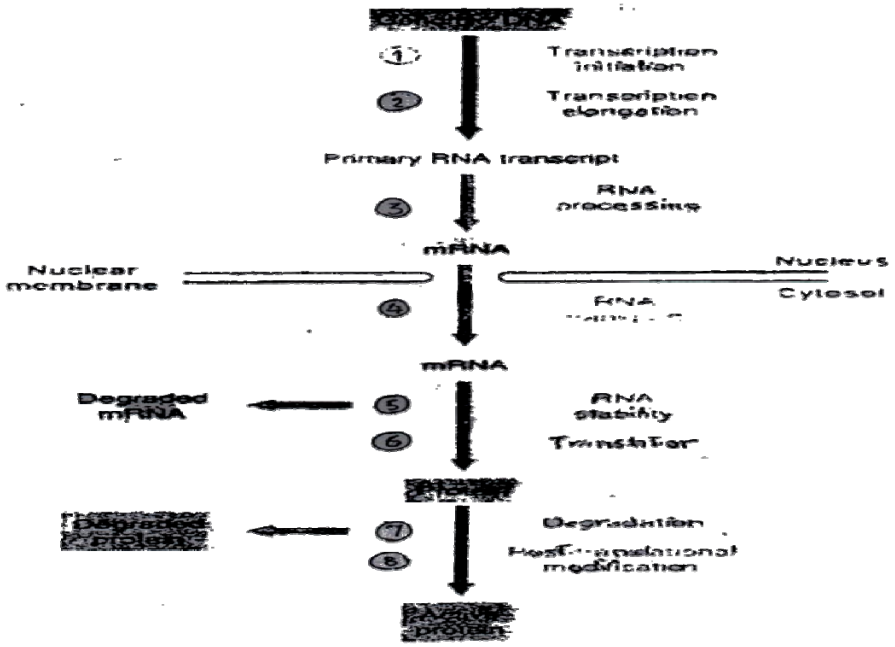


شکل ۱-۱- توالی فرآیندهای درگیر در بیان ژن و تولید پروتئین‌ها (Lorkowski and cullen-2003)

آنزیم RNA پیمراز ، مسئول سنتز mRNA و سایر انواع RNA می باشد. این آنزیم به توالی های خاص از DNA متصل می شود که پروموتر نام دارند و نقطه آغاز سنتز RNA محسوب می شوند. پروموترها نیز در فاصله مشخص از ناحیه کد کننده قرار دارند. RNA پلیمراز در محل کدون پایان، متوقف می شود و DNA قالب (الگو) و RNA های سنتز شده را رها می کند. یک آنزیم پلیمراز در مراحل بعدی ، یک دم poly A به طول حدود ۲۵۰ باز را به انتهای ´3مولکول mRNA اضافه می کند. وظیفه این دم poly A ، محافظت mRNA از هضم توسط نوکلئازها است و در روشهای بیولوژی مولکولی از آن برای انتخاب و یا جداسازی mRNA استفاده می شود.

برخلاف پروکاریوتها که تنها یک نوع RNA پلیمراز دارند، یوکاریوتها دارای ۳ نوع RNA پلیمراز می باشند . همچنین دو عمل نسخه برداری و ترجمه در یوکاریوتها از نظر زمانی و مکانی جدا هستند که

اینترونها قطع می شوند و تنها بخش های کد کننده (اگزونها) در ساختار نهایی زنجیره پلی پپتیدی منعکس می شوند. این فرایند Splicing نام دارد و در خصوص یک mRNA ، می تواند در بیش از یک مسیر پیش رود و بدین ترتیب یک جایگاه دیگر در تنظیم بیان ژن ها شکل می‌گیرد.



شکل ۱-۲- فرآیند بیان ژن. ۸ مرحله کنترل و تنظیم بیان ژن با اعداد ۱ تا ۸ نشان داده شده است (Lorkowski and Cullen,2003)

همانطور که در شکل نشان داده شده است فرایند بیان ژن ها در ۸ مرحله مختلف قابل تنظیم است (شکل ۱-۲) که عبارتند از :

- شروع نسخه برداری
- مرحله تکمیل طول mRNA
- مرحله پردازش RNA (اسپلایسینگ ، پلی آدنیلاسیون و ...)
- مرحله انتقال mRNA از هسته به سیتوپلاسم
- پایداری RNA (پلی آدنیلاسیون بیشتر)
- ترجمه پروتئین‌ها
- تعدیل‌های پس از ترجمه روی پروتئین‌ها

نسخه برداری اولین و اصلی ترین سطح تنظیم بیان ژن است. سرعت تولید پروتئین معمولاً در رابطه مستقیم با میزان نسخه برداری است. بجز چند ژن محدود که بیان آنها بیشتر در سطوح بعد از نسخه برداری تنظیم می شوند، تغییر در میزان مولکولهای mRNA در یک سلول به همان اندازه در جمعیت پروتئین های آن سلول منعکس می گردد. با این حال مقادیر یک mRNA خاص همواره با میزان پروتئین مربوطه، در یک رابطه خطی نیست، زیرا کارایی مسیر ترجمه یک mRNA خطی نیست و نیمه عمر mRNA نیز از یک نوع به نوع دیگر متغیر است. ژنهایی که به یک مسیر فیزیولوژیک مشترک تعلق دارند، به روش مشابهی تنظیم می شوند. بدین ترتیب شباهت در الگوی بیان ژنها، می-تواند به پیش بینی نقش ژنهای ناشناخته کمک نماید. تعدادی از فرایندهای مربوط به بقاء، رشد و تمایز در الگوهای تغییر یافته بیان ژنها منعکس می شوند. در تحقیقات مربوط به عمل ژنها، اندازه گیری کمی سطح نسخه برداری برخی از ژنهای خاص از اهمیت ویژه ای برخوردار است. اینگونه تحقیقات در فهم علل و مکانیزم های بیماریها اهمیت دارند. به منظور سنجش کمی در آنالیز بیان ژنها، از ژنهایی که ژنهای House keeping نام گرفته اند، به طور گسترده ای استفاده می کنند. این ژنها تحت شرایط متفاوت سلولی ، بیان نسبتاً ثابت دارندو بنابراین به عنوان استاندارد داخلی، محاسبه میزان بیان نسبی سایر ژنها را ممکن می سازند. این ژنها در تمام بافت ها یافت می شوند، در طی تکامل حفظ شده اند و در اعمال متابولیک پایه سلولها و یا چرخه سلولی نقش دارند. انتخاب مناسب یک استاندارد داخلی مناسب در آنالیز کمی RNA مربوط به یک ژن از اهمیت ویژه ای برخوردار است[Lorkowski and Cullen,2003]. از نظر تئوری، بیان یک ژن استاندارد داخلی ایده آل ، باید در طی شرایط فیزیولوژیک و شرایط آزمایش ثابت باشد. با این حال بیان این ژنها تحت تمام شرایط آزمایشگاهی کاملاً ثابت نیست. برخی از معمول ترین ژنهای مورد استفاده بعنوان استاندارد داخلی عبارتند از : ژن گلیسرآلدئید، ۳- فسفات دهیدروژناز، ژن بتا اکتین و RNA ریبوزومی . بتااکتین پروتئینی است که در ساختمان و عمل اسکلت سلولی نقش اساسی دارد . mRNA مربوط به آن در یک سطح تقریباً فراوان در انواع سلولها بیان می شود . بتا اکتین یکی از اولین mRNA هایی بود که به عنوان استاندارد داخلی به کار رفته است و هنوز بعنوان یک رفرنس در مطالعات کمی ژنها مورد استفاده قرار می گیرد[Lorkowski and Cullen,2003] شکل (۱-۱)و شکل (۱-۲).