وزارت علوم، تحقیقات و فناوری

پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری

پایان نامه کارشناسی ارشد

رشته زیست شناسی سلولی مولکولی

بررسی اثر سینرژیک فاکتور رونویسی **Pitx3** و فاکتور نوروتروفیک **GDNF** بر تمایز عصبی رده سلولی **NT2**

نگارش

حسن مومن دیزقندی

استادان راهنما

دکتر موسی گردانه

دکتر محمد معصومی

شهریور ۱۳۹۰

حق استفاده از مفاد پایان نامه برای پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری محفوظ است

بسم الله الرحمن الرحيم

چکیده فارسی:

بیماری پارکینسون دومین بیماری شایع در بین بیماری‌های زوال نورونی در انسان است که حدود ۱٪ جمعیت بالای ۶۵ سال را گرفتار می کند که دلیل اصلی به وجود آمدن این بیماری تخریب پیش‌رونده نورون‌های دوپامین‌ساز در ناحیه Substantia nigra pars compacta (SNpc) در مغز میانی می باشد. به دلیل عوارض جانبی شدیدی که درمان‌های دارویی مرسوم در طولانی مدت ایجاد می کنند و همچنین عدم قطعیت درمان این بیماری توسط این روشها، تحقیقات تمرکز نسبتا بالایی بر روی درمان‌های مطمئن‌تر مانند پیوند نورونهای دوپامینرژیک پیدا کرده‌اند. این در حالی است که پیوند نورونهای دوپامینرژیک می تواند به میزان نسبتا بالایی موجب بهبود نشانه‌های کلینیکی بیماری پارکینسون شود. تولید نامحدود و با بازده بالا یکی از اهدافی است که برای درمان این بیماری مورد بررسی قرار می گیرد.

هدف از انجام این پایان نامه تمایز نورونی سلولهای پرتوان NT2 می باشد. برای رسیدن به این هدف ابتدا بر اساس سازه های pLV-Pitx3 و pLV-GDNF ویروسهای نو ترکیب ساخته شد. پس از آن استوک های غلیظی از این ویروسها ساخته شد و برای ترانسدوکسیون سلولهای هدف به کار برده شد: ویروس pLV-Pitx3 برای آلوده ساختن سلولهای NT2 و ویروس pLV-GDNF برای آلوده ساختن سلولهای آستروسیت رده 1321N1 مورد استفاده قرار گرفت. به دنبال این کارافزایش بیان ژنهای هدف در سلولهای مزبور با روش RT-PCR به اثبات رسید. سپس مراحل تمایز سلولهای NT2 به ترتیب زیر انجام گرفت: ابتدا با کشت این سلولها در محیط حاوی اسید رتینوییک و سرم جایگزین (SR) اجسام شبه جنینی (Embroid like bodies) ساخته شد. پس از آن این اجسام به صورت تک سلول درآمده در محیط حاوی رتینوییک اسید و محیط مشروط سلولهای آستروسیت آلوده به ویروس GDNF و در غیاب FBS کشت داده شدند. پس از ۴ تا ۶ روز که سلولها فرصت تمایز بدست آوردند، بیان ژنهای هدف توسط آزمایشات RT-PCR و یا ایمونوسیتوشیمی مورد بررسی قرار گرفت تا تاثیر محیطهای مزبور و افزایش بیان Pitx3 بر فرایند تمایزنورونی روشن شود. افزون بر تمایز نورونی، هدایت سلولهای پرتوان NT2 به سمت نورونهای دوپامین ساز نیز توسط دو فاکتور دوپامینی یعنی Pitx3 و GDNF با شیوه های مزبور مورد بررسی قرار گرفت. نتایج ما نشان می دهد که فاکتور نوروتروفیک GDNF و فاکتور رونویسی Pitx3 می توانند با هم اثر هم افزایی بر تمایز نورونی داشته و حتی بر تمایز دوپامینی سلولهای NT2 تاثیرگذار باشند. روش ما در صورت بهینه شدن راه را برای تبدیل سلولهای NT2 به منبعی مطمئن برای تولید نورونهای دوپامین ساز هموار خواهد کرد.

واژگان کلیدی: بیماری پارکینسون،ژن GDNF، ژن PITX3 ، لنتی ویروس،آستروسیت رده 1321N1، تکوین نورونی ، رده سلولی Ntera2

فهرست مطالب

مقدمه ۱۱

نورون ۱۲

۱-۱-۱ انتقال دهنده های عصبی ۱۲

۱-۲ نورون های دوپامین ساز ۱۴

۱-۲-۲ آسیب های نورونی ۲۱

۱-۳ بیماری پارکینسون ۲۳

۱-۳-۱ پاتولوژی بیماری پارکینسون: ۲۳

۱-۳-۲ اپیدمیولوژی بیماری پارکینسون ۲۶

۱-۳-۳ اتیولوژی بیماری پارکینسون ۲۶

۱-۳-۴ علائم بالینی پارکینسون ۲۹

۱-۳-۵ استراتژیهای درمانی پارکینسون: ۳۰

۱-۴ شکل گیری و تکامل نورون های دوپامین ساز ۳۰

۱-۴-۱ نقش فاکتورهای رونویسی در تکامل نورونهای دوپامین‌ساز ۳۱

۱-۴-۲ فاکتور های دخیل در تکامل نورونهای دوپامین‌ساز ۳۲

۱-۴-۳ خانواده GDNF از فاکتورهای نوروتروفیک: ۴۱

۱-۵ ژن و سلول درمانی در پارکینسون ۵۱

۱-۵-۱ مشکلات موجود برای پیوند ۵۰

۱-۵-۲ تولید نورونهای دوپامینرژیک در ظرفهای کشت ۵۱

۱-۶ رده سلولی NT2 ..... ۵۳

۱-۷ سیستم های لنتی ویروسی جهت انتقال ژن ۵۴

۱-۷-۱ ساختار ژنوم لنتی ویروسی ۵۵

۱-۷-۲ ساختار ویرویون ۵۸
۱-۷-۳ چرخه همانند سازی لنتی ویروسها ۵۸
۱-۸ توسعه و بهبود سیستم های انتقال ژن لنتی ویروسی ۶۰
۱-۸-۱ انواع ناقل های مهندسی شده لنتی ویروس ۶۰
۱-۸-۲ توسعه و بهبود ناقلین لنتی ویروسی ۶۲
۱-۸-۳ ویژگیهای ایمنی و بهداشتی لنتی ویروسها(Biosafety) ۶۵
۱-۸-۴ تولید لنتی ویروسهای نوترکیب ۶۶
فصل دوم ۶۸
۲ مواد و روش ها ۶۹
۲-۱ دستگاه های آزمایشگاهی و لوازم آزمایشگاهی ۷۰
۲-۲ مواد مورد استفاده در آزمایشات مولکولی ۷۱
۲-۳ مواد مورد استفاده در طول آزمایشات سلولی ۷۲
۲-۴ مراحل آزمایشات بخش مولکولی ۷۳
۲-۴-۱ الکتروفورز ژل آگارز ۷۳
۲-۴-۲ ترانسفورماسیون ۷۳
۲-۴-۳ استخراج پلاسمید از باکتری به مقدار کم(Miniprep) ۷۴
۲-۴-۴ انبوه سازی پلاسمید به مقدار زیاد (Maxiprep) ۷۴
۲-۵ بخش سلولی ۷۵
۲-۵-۱ کشت سلول ۷۵
۲-۵-۲ تولید و تغلیظ ویروسهای نوترکیب ۷۶
۲-۵-۳ تمایز نورونی ۷۸
۲-۵-۴ آنالیز سلولی ۷۹
۳ نتایج ۸۴
۳-۱ تولید سلولهای NT2 بیان کنندهی PITX3 ..... ۸۵

۳-۱-۱ ترانسفکشن سلولهایHEK-293T با حاملهای لنتی ویروسی pLV-PITX3 وpLV-EGFP ۸۵
۳-۱-۲ آلوده سازی سلولهای NT2 با ویروسهای pLV-PITX3 وpLV-EGFP ۸۶
۳-۱-۳ تایید بیان mRNA مربوط به mPitx3 در سلولهای NT2 با استفاده از RT-PCR ۸۸
۳-۲ تولید سلولهای آستروسیت بیان کنندهGDNF ۸۸
۳-۲-۱ ترانسفکشن سلولهایHEK-293T با ناقل لنتی ویروسی حامل ژن pLV-GDNF و تولید ویروس نوترکیب ۸۸
۳-۲-۲ آلوده سازی سلولهای آستروسیت با لنتی ویروس pLV-GDNF ۸۹
۳-۲-۳ تایید بیان ژنGDNF در آستروسیتهای آلوده شده با استفاده از RT-PCR ۸۹
۳-۳ تمایز سلولهایNT2 ..... ۹۰
۳-۳-۲ تولید اجسام شبه جنینی ۹۰
۳-۳-۳ کشت مجدد اجسام شبه جنینی به صورت تک سلول و تمایز عصبی ۹۳
۳-۳-۴ آنالیز بیان ژن در سطح mRNAبا استفاده از RT-PCR در روز یازدهم از تمایز سلولهای NT2 ..... ۹۵
۳-۳-۵ بررسی بیان مارکرهای اختصاصی در سطح پروتئین با استفاده ازتکنیک ایمونوسیتوشیمی ۹۷
۴ *بحث و نتیجه گیری* ۱۰۱
۵ منابع ..... **Error! Bookmark not defined.**
۶ ضمیمه ..... **Error! Bookmark not defined.**

Abbreviations

3'UTR	3' untranslated region
6-OHDA	6-hydroxydopamine
AADC	l-amino acid decarboxylase
BBB	blood brain barrier
BDNF	brain-derived neurotrophic factor
CNS	central nervous system
COMT	catechol-o-methyltransferase
CREB	cAMP response element-binding
DA	Dopamine
DOPAC	3,4-dihydroxy-phenylacetic acid
EB	embryoid body
EGFP	enhanced green flourscent protein
FBS	fetal bovine serum
Fgf8	fibroblast growth factor 8
GABA	gamma-aminobutyric acid
GDNF	glial cell line drived neurotrophic factor
GFRα	GDNF family receptor α
Gpi	globus pallidus pars externa
HBS	HEPES buffered saline
HEK	human embryonic kidney cells
HPLC	high-pressure liquid chromatography
L-dopa	L-3,4-dihydroxyphenylalanine
Lmx1a	LIM homeobox transcription factor 1a
Lmx1b	LIM homeobox transcription factor 1b

MAO	mono amine oxidase
MAP-2	microtubule-associated protein 2
MAPK	mitogen-activated protein kinase
mES	mouse embryonic stem cells
MPTP	1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine
NF-KB	nuclear factor-kappab
NT2	NTera-2
Nurr 1	nuclear receptor related 1 protein
Ori	origin of replication
Otx	orthodenticle homeobox
Pax	paired box
PBS	phosphat buffer solution
PCR	polymerase chain reaction
PD	ventral anterior and ventrolateral thalamic nuclei
PI3K	vesicular monoamine transporter 2
PPT	polypurine tract
PRE	posttranscriptional regulatory element
ROS	radica oxygene species
RRF	retrorubral field
SDS-PAGE	sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis
Shh	sonic hedgehog
SNpc	substantia nigra pars compacta
SN-ST	nigrostriatal patway
ST	Striatum
STN	subthalamic nucleus
Tat	transactivator of transcription

TGF-α	transforming growth factor-β
TH	tyrosine hydroxylase
VA-VL	ventral anterior
VMAT2	vesicular monoamine transporter 2
VTA	ventral tegmental area

فصل اول

مقدمه

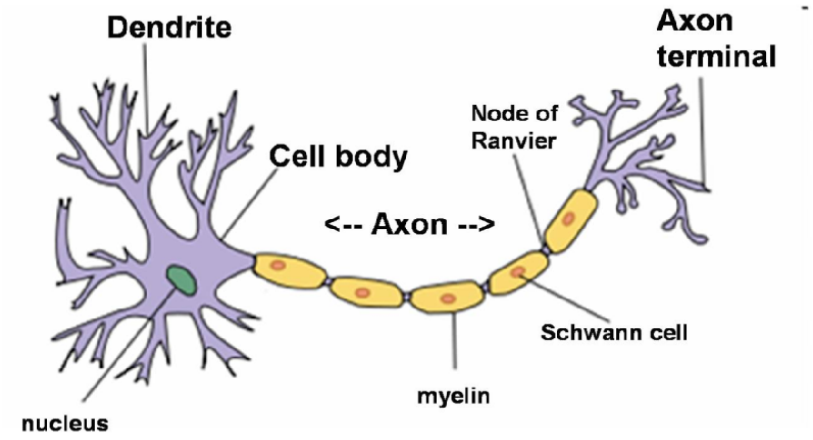
۱-۱ نورون

نورون ها سلول های عصبی هستند که وظیفه انتقال تکانه های الکتریکی را بر عهده دارند. ساختمان نورون ها سه قسمتی می باشد:

۱-جسم سلولی یا "سوما"[1] وظیفه سوخت و ساز سلول را بر عهده دارد.

۲- در انتهای سوما "دندریت" قرار دارد. دندریتها پیامهای عصبی را از سایر نورون‌ها می‌گیرند و تکانه‌های عصبی را به سوما منتقل می کنند.

۳- قسمتی از سوما به "آکسون"[2] منتهی می شود. آکسون تکانه های عصبی را از سوما به نورون های دیگر منتقل می کند. یک آکسون تکانه های خود را حدوداً به هزار نورون دیگر ارسال می کند (شکل ۱-۰).



شکل ۱-۰. ساختار سلول عصبی (Anon 2012)

۱-۱-۱ انتقال دهنده های عصبی

سلول های عصبی در بدن به شکل یک شبکه ارتباطی کار می‌کنند. این سلول ها برای ارتباط با هم از پیک های شیمیایی به نام انتقال دهنده عصبی استفاده می کنند. بین دو نورون فاصله ای وجود دارد که به

[1] Soma
[2] axon

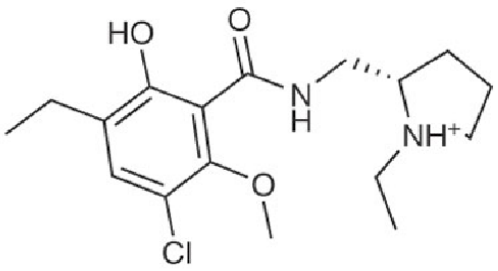
آن سیناپس[3] می گویند. انتقال دهنده‌های عصبی پیام ها را بین سلول های عصبی با عبور از فضای بین سلولی به نام سیناپس حمل می کنند. شش نوع عمده انتقال دهنده عصبی(نوروترانسمیتر)[4] تاکنون در بدن شناسایی شده است شامل: استیل کولین، گابا، نورواپی نفرین، دوپامین، سروتونین، اندروفین ها (Kalivas 1993).

۱-۱-۱-۱دوپامین

دوپامین یکی از مهمترین انتقال دهنده های عصبی می‌باشد (شکل ۰-۲). این ماده بیولوژیکی فعال با فرمول شیمیایی

($C_6H_3(OH)_2$-CH_2-CH_2-NH_2) و نام شیمیایی(4 - (2-aminoethyl) benzene -1,2-diol)

یکی از اعضای خانواده catecholamine است (شکل).



شکل ۰-۲. فرمول انتقال دهنده عصبی دوپامین (Carlsson et al. 2011)

دوپامین به عنوان یک سوبسترای بالقوه در شکل پذیری سیناپس و مکانیسم های حافظه معرفی شده است. این ماده فعالیت های فیزیولوژی بسیار مهمی اعم از کنترل حرکات جنبشی ارادی، خواب، خلق وخو، توجه ویادگیری را بر عهده دارد، ولی بیشتر نقش بازدارنده را ایفا می کند. به عنوان مثال می توان مهار پرولاکتین را از مهمترین ویژگی آن نام برد. فعالیت دوپامین توسط رسپتورهای آن تنظیم می شود. رسپتور های دوپامین در سیستم عصبی مرکزی وظایفی از قبیل انتقال، رهاسازی و ذخیره دوپامین در سیناپس ها را بر عهده دارند. این رسپتورها به ترتیب شامل D_1، D_2، D_3، D_4، D_5 می باشد و بازتاب فعالیت های آنها در قسمتهای مختلف مغز متفاوت می باشد (Kalivas 1993).

[3] Synapse
[4] Neurotransmitter

۱-۲ نورون های دوپامین ساز[5]

Dahlstrom و Fuxe در سال ۱۹۶۴ برای اولین بار در مغز نورون های دوپامین ساز را مشاهده کردند. بر طبق تعریف این دو محقق نورون های دوپامین ساز گروهی خاص از سلولهای عصبی هستند که با سیگنال هایی به هم مرتبط می شوند و ازطریق انتقال دهنده های عصبی از جمله دوپامین با هم ارتباط برقرار کرده و حرکات جنبشی بدن را کنترل می کنند (Conley & Kirchner 1999). این سلول های عصبی منابع بسیار غنی برای سنتز دوپامین به شمار می روند. دوپامین یک کتکول‌آمین[6] است و نمی تواند از سد خونی- مغزی (BBB)[7] عبورکند و بایستی درون جسم سلولی و پایانه های عصبی نورون های دوپامین ساز از اسید آمینه تیروزین توسط آنزیم تیروزین هیدروکسیلاز (TH) [8] ساخته شود (شکل۱-۲). به همین دلیل TH معمولا به عنوان یک مارکر هیستوشیمیایی نورون های دوپامین ساز استفاده می شود. این نورون ها در بخشهای مختلف مغز پراکنده شده اند و از چند طریق شناسایی می شوند (Nieoullon & Coquerel 2003).

۱-۲-۱-۱ طبقه بندی نورون های دوپامین ساز

شناسایی نورون های دوپامین ساز در مغز بر اساس سه معیار تعیین می شوند:

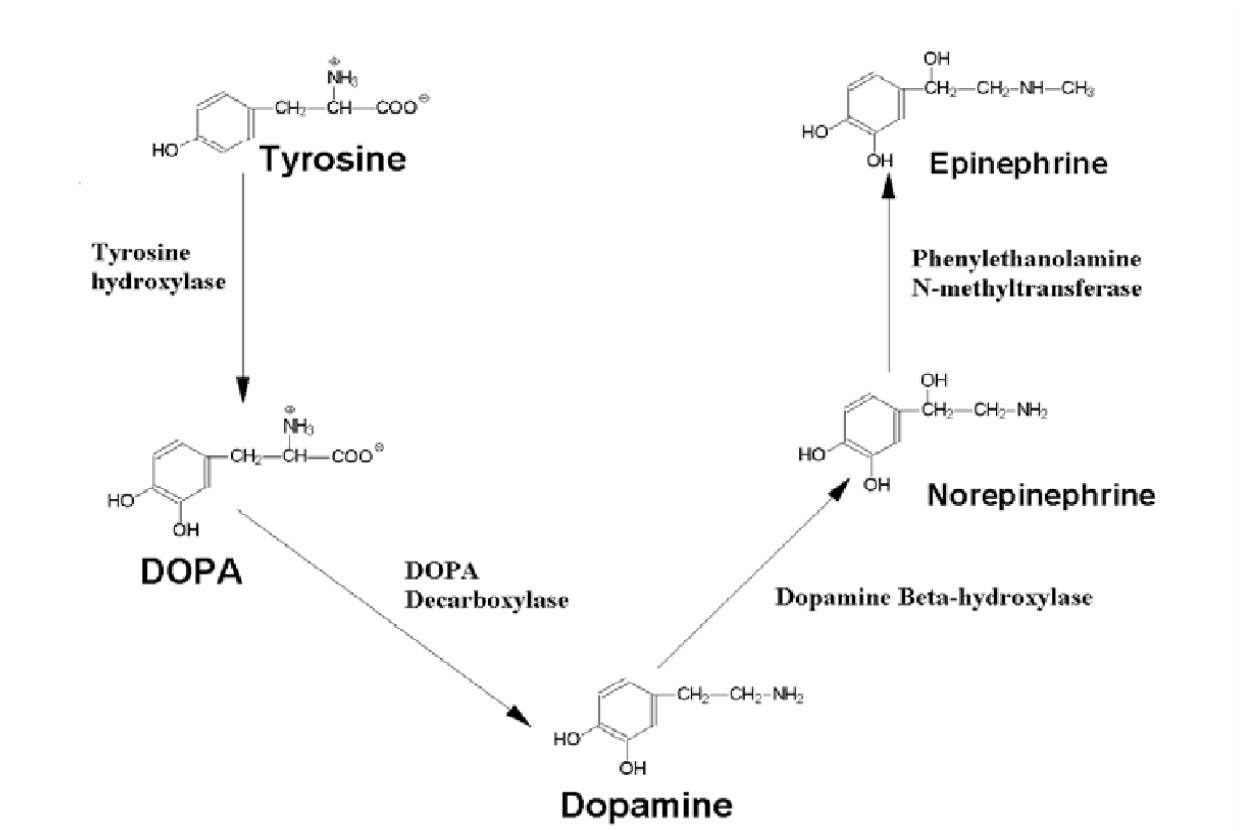
۱. ساختار سیتوپلاسمی (سلولی) با روش های رنگ آمیزی غیر اختصاصی مثل رنگ آمیزی میسل

۲. شناسایی نورون ها از طریق فنوتیپ آنها.

۳. سازماندهی نورون های دوپامین ساز در ردیف پشتی و جلویی مغز میانی(از نظر جایگاه قرار گرفتن در مغز میانی).

---

[5] Dopaminergic neurons
[6] catecholamine
[1]-Blood brain barrier
[8] Tyrosine hydroxylase



شکل۱-۳. سنتز دوپامین و دیگرکتکول آمین ها (Anon 2011).

حضور نورون های دوپامین ساز در مغز در قسمت های دیانسفالون و مزنسفالون و در هسته بویایی به خوبی شناخته شده است (Bjorklund & Lindvall 2000). نورون ها ی دوپامین ساز حدودا ۷۵ ٪ از کل نورون های مغز را تشکیل می دهند (Nunes et al. 2003) و تقریبا ۹۰٪ کل نورون های دوپامین ساز در قسمت جلویی مزنسفالون در مغز قراردارند (Chinta & Andersen 2005).

نورونهای دوپامین ساز به چندین گروه دسته‌بندی می‌شوند که از A_8 تا A_{17} شماره‌گذاری شده‌اند (شکل ۱-۳) : نورونهای A_8 تا A_{10} در منطقه مزنسفالون[9] و نورون های A_{11} تا A_{15} در دیانسفالون[10] و نورونهای A_{16} و A_{17} درمنطقه تلنسفالون[11] قرار دارند. در کل نورون های دوپامین ساز مزنسفالون در پستانداران (mesDA) در ۳ منطقه مشخص مغز قرار دارند.

۱.منطقه جسم سیاه مغز میانی(Substantia Nigra pars compacta (SNpc

[9] Mesencephalon
[10] Diencephalon
[11] Telencephalon

۲.منطقه Ventral Tegmental Area (VTA)

۳.منطقه پشتی هسته قرمز Retrorubral Field (RRF)

بر طبق طبقه بندی که توسط Fuxe و Dahlstrom صورت گرفته، نورون های منطقه(RRF) شامل نورون‌های A_8، نورون های منطقه SNpc شامل نورون های A_9 و نورون های منطقه VTA شامل نورون های A_{10} می باشند. از ویژگی های مهم و قابل توجه در علائم مشاهده شده در بیماری پارکینسون (به تفصیل در قسمت بعد توضیح داده شده است) تغییرات حاصله از جمعیتی از نورون های دوپامین ساز است که درقسمت SNpc در مزنسفالون قرار دارند. گونه های پستانداران تعداد مختلفی از نورون های دوپامین سازرا در مزنسفالون خود دارند. به عنوان مثال موش و Rat تعداد ۱۶۴۰ تا ۴۵۰۰۰ نورون دارند، درحالیکه این تعداد در میمون مدل Macaca و انسان به ترتیب به ۱۶۵۰۰۰ و ۵۹۰۰۰۰ نورون می رسد (جدول ۱-۱).

(Gardaneh M, 2010). بر اساس تقسیم بندی شناخته شده بهترین نورون های دوپامین ساز در سیستم شاهراه های نیگرواستریاتال[۱۲] (SN-ST) قرار دارند که از قسمت جسم سیاه (SNpc) شروع شده و فیبرهای آن تا قسمت پشتی استریاتوم[۱۳] که شامل هسته دم دار[۱۴] و هسته پوتامون[۱۵] می باشد می روند (Weidong Le et al. 2009). شاهراه های SN-ST نقش اساسی در کنترل حرکات ارادی دارد. سیستم های دوپامین ساز مزولیمبیک (شاهراهی که از مزنسفالون به منطقه لیمبیک می رود) در قسمت میانی تر سیستم SN-ST قرار گرفته و از قسمت تولید نورون های دوپامین ساز در منطقه VTA شروع شده و فیبر های خود را به منطقه لیمبیک (شامل هسته اکومبنس[۱۶]، سپتوم، آمیگدال[۱۷] و هیپوکامپ می فرستد (Bjorklund & Lindvall 2000). فیبر های خروجی سیستم های دوپامین ساز مجموعه شاهراه های مزولیمبیک را تشکیل می دهند. علاوه بر آن یک سیستم به نام سیستم مزوکورتیکال در مغز از مزنسفالون شروع و به کورتکس می رود (Woodbury et al. 2002). فیبر های خروجی نورون های دوپامین ساز منطقه VTA به مناطق کورتکس پری فرونتال[۱۸]، سینگولیت[۱۹] و پریریتال کورتکس[۲۰] میرود. نورون های

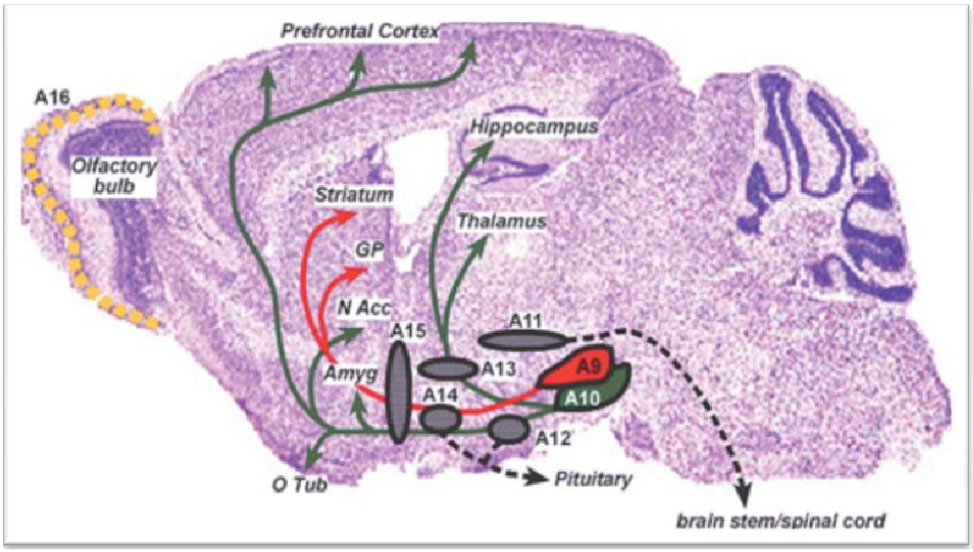
[12] Nigrostriatal patway
[13] striatum
[14] caudate
[15] - putamen
[16] -accombens
[17] -amygdale
[18] - prefrontal
[19] - cingulated
[20] perirhinal cortex

DAقسمت VTA رفتار های احساسی شامل انگیزه، پاداش، را کنترل می کنند. سیستم هـای دوپامینرژیـک مزولیمبیک و مزوکورتیکال در نزدیکی هم قرار داشته و همانطور که در شکل ۱-۴ مـی بینیـد، بـا هـم در حالت هم‌پوشان[21] قرار دارند و روی هم سیستم مزوکورتیکولیمبیک را تشکیل می دهنـد (Gardaneh M, 2010).

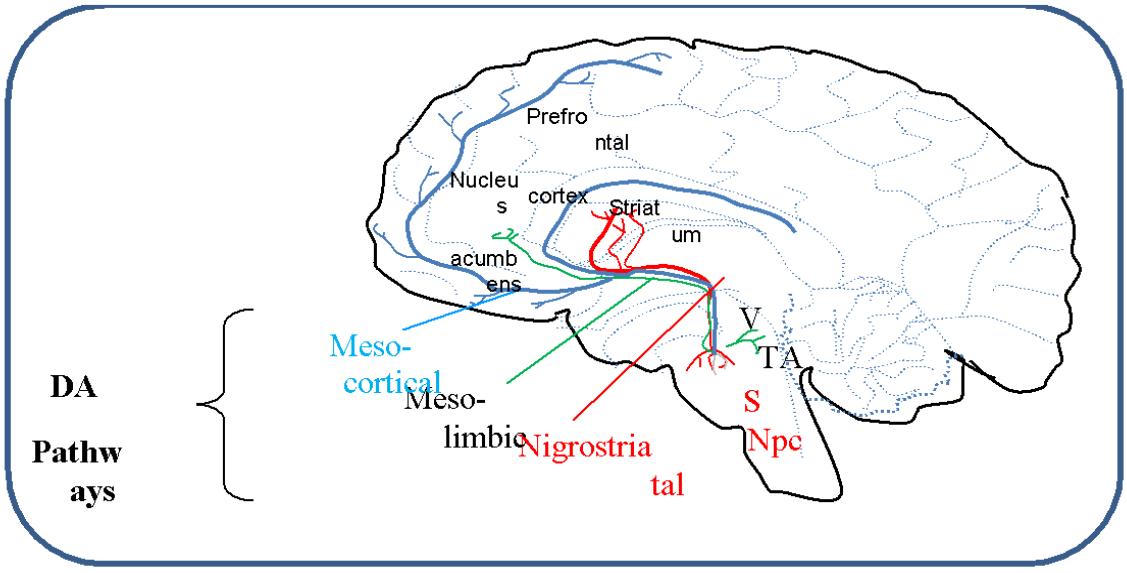
جدول ۱-۰. نرخ نورون های دوپامین ساز در گونه های پستانداران (Gardaneh M, 2010)

DA neuron numbers	Species	References
1640	Mice	German 1983
45000	Rats	German & Manaye 1993
16500	Macaca and Monkeys	German 1983
590000	humans	Pakkenberg 1991 German 1983

[21] overlap



شکل ۰-۳. نورونها در مغز به چندین گروه دسته‌بندی می‌شوند که از A8 تا A17 شماره‌گـذاری شـده‌انـد. نورونهای A8 تا A10 در منطقه مزنسفالون و نورون هایA11 تا A15 در دیانسـفالون و نورونهـای A1تـا A17درمنطقه تلنسفالون قرار دارند که در بیماری پارکینسون نورون های منطقه A9 آسیب می بیند. در کل نورون های دوپامین ساز مزنسفالون در پستانداران (mesDA) در 3 منطقه مشخص مغز قرار دارند (N Prakash & W Wurst 2006).



شکل۱-۵ نمای کلی از شاهراه های عصبی در مغز میانی (Gardaneh M, 2010).

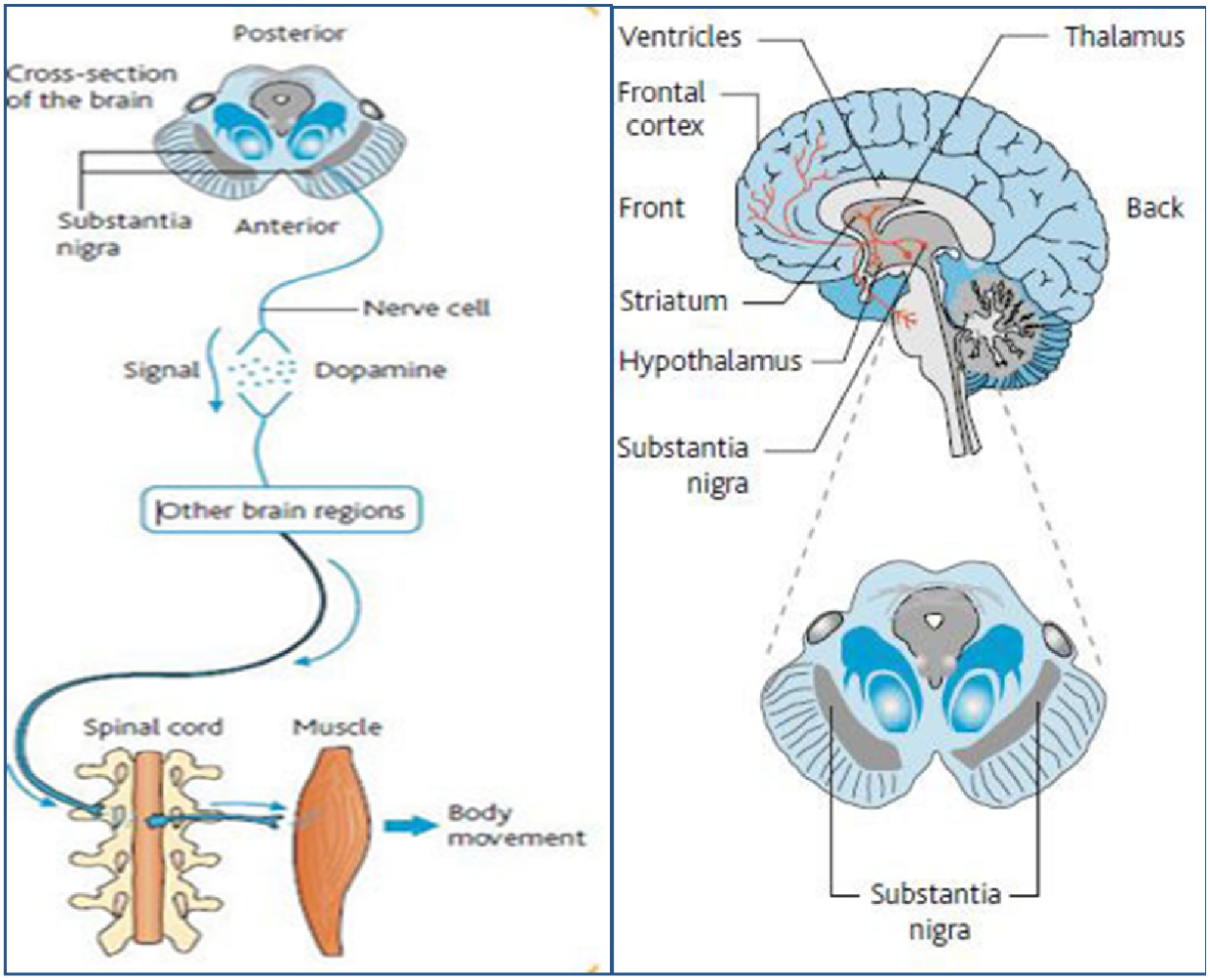
محققان بسیاری، درمورد چگونگی تولید وتوسعه دوگروه از نورون های دوپامین ساز مناطق SNpc و VTAبررسی های بسیاری انجام داده اند و به این نتایج رسیده اند که این دو گروه از نورون ها هر دو با بیان ژن‌های مشترکی تولید می شوند ولی تفاوتی که در این دو گروه وجود دارد مربوط به فاکتور رشد TGF-αمی باشد. به این معنی که کاهش فاکتور رشد TGF-α باعث کاهش تولید و توسعه نورون های دوپامین ساز در منطقه جسم سیاه[۲۲] می شود ولی کاهش این فاکتور تغییری در تولید و توسعه نورون های دوپامین ساز منطقهVTA[۲۳] ایجاد نمی کند. هنوز مکانیسم عمل فاکتور رشد TGF-α شناخته نشده است ولی محققان طی بررسی هایی که انجام داده اند متوجه شدند که نوزادان تازه متولد شده برای تولید وگسترش نورون های دوپامین ساز منطقه SNpc حتما نیاز به فاکتوررشد TGF-α دارند (N Prakash & W Wurst 2006).

۱-۲-۱-۲عملکرد نورون های دوپامین ساز

در مسیرهای عصبی وقتی نورون تحریک می شود انتقال دهنده عصبی از کیسه های سیناپسی آزادمی شود و بر گیرنده های نورون مجاور تاثیر می گذارد. این انتقال دهنده های عصبی در سیناپس می توانند پتانسیل غشا را افزایش یا کاهش دهند. پیک ویژه (دوپامین) در مغز میانی درقسمت جسم سیاه ظاهر می شود که به انتقال پیام به استریاتوم کمک می کند تا حرکت و تعادل را راه اندازی و کنترل کند. نورون بسته های دوپامین تولید می کند و در پرکردن خود ذرات دوپامین جمع آوری می کند. دوپامین پیام های عصبی را از مغز میانی به بخش دیگری از مغز به نام کارپوس استراتوم[۲۴] می برد. این بسته ها که دوپامین را حمل می کند به سمت انتهای سلول عصبی حرکت کرده، یک روزنه باز کرده و دوپامین را داخل سیناپس آزاد می کند. محل ارتباط دو نورون باهم و نورون و سلول ماهیچه ای را سیناپس می گویند. این ذرات جریان یافته به سلول پذیرنده می رسد. سلول دریافت کننده تحریک شده و بسته های دوپامین را جمع آوری می کند و در مسیر مشابه این کار را انجام می دهد. سپس بسته ها برای هماهنگی این ذرات دوپامین را داخل سیناپس آزاد می کنند. دُمین سیستم نوروترانسمیتری که در اتصال با سیستم دوپامین کار می کند استیل کولین است تا حرکت واقعی تولید کند. این سیستم ها در مجموع باعث کنترل حرکات جنبشی ارادی می شوند، شکل (۱-۵-B) (Nieoullon & Coquerel 2003).

[22] Substantia nigra
[23] ventral tegmental
[24] Corpus stratum

A B



شکل ۴-۰. A : شمایی کلی از منطقه جسم سیاه (Substantia nigra) در مغز میانی (Tanner, 2002)

B : مکانیسم عملکرد نورون های دوپامین ساز (Grimes, 2004).