

# طراحی استریپ تشخیصی با بکارگیری تکنیک هیبریدسازی کووالانت معکوس DNA برای تشخیص سریع دو موتاسیون رایج IVS-I-5 و IVS-I-110 بتاتالاسمی در ایران

مهرداد هاشمی\*، علی ناظمی\*\*، مهدی فروزنده\*\*\*

\* دانشکده پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد پزشکی تهران  
\*\* دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تنکابن  
\*\*\* گروه بیوتکنولوژی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس

## چکیده

سابقه و هدف: بتاتالاسمی یک اختلال اتوزومال مغلوب می‌باشد که در اکثر موارد بوسیله موتاسیون‌های نقطه‌ای در ژن بتا-گلوبین ایجاد می‌گردد. موتاسیون‌های IVS-I-5 و IVS-I-110 موتاسیون‌های شایع در میان جمعیت ایران بوده و حدود ۱۲٪ از اختلالات بتاتالاسمی را شامل می‌شوند. در این مطالعه با طراحی استریپ، تکنیک هیبریدسازی معکوس نقطه‌ای RDB، بعنوان یک روش غیررادیواکتیو و سریع برای تشخیص این دو موتاسیون شایع ژن بتاگلوبین گسترش داده شد.

روش بررسی: پس از استخراج DNA ژنومی از خون کامل، واکنش PCR با پرایمرهای اختصاصی Forward و Reverse روی ناحیه‌ای از ژن بتا-گلوبین حاوی دو موتاسیون مورد نظر انجام گرفت. برای تهیه استریپ، پروپ اولیگونوکلوئوتیدی بر روی غشاء نایلونی حاوی گروه‌های کربوکسی Biotin از طریق فعال‌سازی غشاء تثبیت گردید. عمل هیبریداسیون به همراه ۱۰ میکرولیتر از محصول دناتوره نشاندار شده با DIG-11-dUTP در دمای ۴۲° سانتیگراد بمدت یک ساعت انجام شد. بدنال آن عمل بلاکینگ غشاء با BSA (Bovine serum albumin) ۰/۱ درصد انجام و سپس با ۵ یونیت آنتی‌بادی Anti DIG متصل به آلکالین فسفاتاز بمدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق مجاور گردید. ظهور رنگ با سوبسترای نمک نیتروپلوتترازولیموم (NBT/BCIP) بمدت ۲ ساعت انجام گردید.

یافته‌ها: حضور یک توالی خاص DNA بوسیله ظهور یک لکه روی غشا شناسایی شد. افراد نرمال لکه‌ها را تنها در مقرهای تثبیت پروبهای طبیعی، افراد هتروزیگوت، یک لکه در مقر تثبیت پروب طبیعی و یک لکه در مقر تثبیت پروب موتانت، و افراد هموزیگوت تنها یک لکه در مقر تثبیت پروب موتانت نشان دادند.

نتیجه‌گیری: در این تحقیق یک استراتژی سریع و ساده به منظور تشخیص موتاسیون‌های متداول بتاتالاسمی ایران بر اساس PCR و بدنال آن هیبریدسازی معکوس راه‌اندازی گردید.

واژگان کلیدی: استریپ، موتاسیون، بتاتالاسمی، هیبریدسازی نقطه‌ای معکوس.

## مقدمه

جمله جمعیت ایران ایجاد می‌نماید. در این جمعیت فراوانی ژن بتاتالاسمی ۰/۱۵ می‌باشد. مدیریت مناسب این اختلال شامل غربالگری نوزادان تازه متولد شده، مشاوره ژنتیک و تشخیص والدینی است که در هر یک، تشخیص صحیح الزامی می‌باشد (۱،۲).

بتاتالاسمی یکی از اختلالات ژنتیکی شایع در جامعه بشری است و مشکلات سلامتی عمده‌ای را برای اکثر جمعیتها از