بسم الله الرحمن الرحيم

به نام خدا

معرفی جهش های تک نوکلئوتیدی (SNP) و ارتباط آن با بیماری چشمی GDLD

مولفان :

رقیه محمدی

سمیه نادرخانی

انتشارات ارسطو

(سازمان چاپ و نشر ایران – ۱۴۰۳)

نسخه الکترونیکی این اثر در سایت سازمان چاپ و نشر ایران و اپلیکیشن کتاب رسان موجود می باشد

chaponashr.ir

سرشناسه : محمدی، رقیه، ۱۳۶۹
عنوان و نام پدیدآور : معرفی جهش های تک نوکلئوتیدی (SNP) و ارتباط آن با بیماری چشمی GDLD/ مولفان رقیه محمدی، سمیه نادرخانی.
مشخصات نشر : انتشارات ارسطو (سازمان چاپ و نشر ایران)،۱۴۰۳.
مشخصات ظاهری : ۱۰۳ ص.
شابک : ۳-۴۳۲-۴۰۸-۶۲۲-۹۷۸
وضعیت فهرست نویسی : فیپا
موضوع : جهش های تک نوکلئوتیدی (SNP) - بیماری چشمی GDLD
شناسه افزوده : نادرخانی، سمیه، ۱۳۶۸
رده بندی کنگره : PN۲۱۴۸
رده بندی دیویی : ۸۰۹/۲۳۴
شماره کتابشناسی ملی : ۹۴۹۳۸۶۰
اطلاعات رکورد کتابشناسی : فیپا

نام کتاب : معرفی جهش های تک نوکلئوتیدی (SNP) و ارتباط آن با بیماری چشمی GDLD
مولفان : رقیه محمدی - سمیه نادرخانی
ناشر : انتشارات ارسطو (سازمان چاپ و نشر ایران)
صفحه آرایی، تنظیم و طرح جلد: پروانه مهاجر
تیراژ : ۱۰۰۰ جلد
نوبت چاپ : اول - ۱۴۰۳
چاپ : زبرجد
قیمت : ۱۰۳۰۰۰ تومان
فروش نسخه الکترونیکی - کتاب‌رسان :
https://chaponashr.ir/ketabresan
شابک : ۳-۴۳۲-۴۰۸-۶۲۲-۹۷۸
تلفن مرکز پخش : ۰۹۱۲۰۲۳۹۲۵۵
www. chaponashr. ir

فهرست

مقدمه..... ۹

فصل اول..... ۱۱

SNP چیست؟..... ۱۱

جهش‌های نقطه‌ای عامل ایجاد SNPها[۸]..... ۱۴

اهمیت SNPها..... ۲۰

انواع SNP[۷]..... ۲۱

راه‌های شناسائی SNPها[۸]..... ۲۴

منابع بیوانفورماتیکی برای شناسایی و بررسی SNPها[۲۵-۱۱]..... ۳۱

تاریخچه مطالعات انجام شده بر روی SNPها..... ۳۳

معرفی بیماری GDLD..... ۳۹

علائم بیماری و نحوه‌ی درمان..... ۴۳

سابقه‌ی بیماری در ایران و جهان..... ۴۴

علت مولکولی بیماری (همراه با معرفی پروتئین Trop2)[۳۶]..... ۴۵

ویژگی‌های پروتئین Trop2:[۴۱]..... ۴۶

آمیلوئیدوز چیست؟[۹]..... ۴۸

مثال‌هایی از بیماری‌های مرتبط با آمیلوئیدوزیس:..... ۵۰

تاریخچه مطالعات انجام شده بر روی GDLD..... ۵۲

بیوانفورماتیک و بیولوژی کامپیوتری چیست؟[۹]..... ۵۳

استفاده از بیوانفورماتیک در علوم پزشکی[۹]..... ۵۵

ارتباط بین بیوشیمی و پزشکی..... ۵۷

اساس بیوشیمیایی بیماری‌ها..... ۵۷

جمع‌بندی..... ۵۸

فصل دوم..... ۶۱

معرفی پایگاه داده‌ی NCBI[۴۲]و نحوه‌ی استفاده از این پایگاه جهت استخراج SNPهای ژن M1S1..... ۶۲

توالی پروتئین..... ۶۵

توالی ژن..... ۶۵

معرفی SNP – Nexus و چگونگی استفاده از آن[۶۳-۴۳]..... ۷۷

معرفی Mutpred[۶۴-۶۷] ۸۰

معرفی سرور Protparam[۶۸] ۸۴

معرفی سرور Phyre 2 [۶۹-۷۰] ۸۶

منابع ۹۰

مقدمه

SNP متداول‌ترین شکل تنوع ژنتیکی در انسان است .SNPها می‌توانند عمل DNA، RNA و Protein را تغییر دهند. پیش‌بینی و شناخت تأثیرات تنوعات ژنتیکی با استفاده از روش‌های محاسباتی در تحقیقات ژنتیکی و شناخت مبنای مولکولی بیماری‌ها، اهمیت فزاینده‌ای دارد. به طور متوسط هر دو فرد غیرخویشاوند در میلیون‌ها SNP با یکدیگر متفاوتند. اگر بتوانیم این SNPها به بیماری‌های انسانی مرتبط کنیم که از طریق نقص در تک نوکلئوتیدها به وجود می‌آیند، می‌توانیم احتمال یک بیماری را در افراد مختلف از طریق بررسی SNPها محاسبه کنیم. ازمیان انواع SNPها: nsSNPها در بروز اختلالات نقش مهم‌تری دارند، چرا که می‌توانند توالی آمینواسیدی را با جانشینی یک آمینواسید دچار تغییر کنند. حال اگر این تغییر آمینواسیدی در فعالیت پروتئین اثرگذار باشد، آن را Missense و اگر تأثیری در فعالیت پروتئین نگذارد آن را NonSense می‌گویند. این نوع SNPها باعث تغییر در ویژگی‌های ساختاری پروتئین، مانند قابلیت دسترسی به سوبسترا، جایگاه فعال پروتئین، تشکیل پیوند دی‌سولفیدی و ... می‌شوند. محققان دریافته‌اند که تقریباً ۷۰ درصد از جهش‌های مربوط بیماری، در مناطق ساختاری پروتئین بوده‌اند و هم‌چنین ۲۶ الی ۳۲ درصد از nsSNPها روی عملکرد پروتئین تأثیر می‌گذارند. در ایران نیز مطالعات گسترده‌ای روی SNPها و ارتباطشان با بیماری‌هایی نظیر دیابت و سرطان انجام شده برای مثال: بیماری GDLD (Gelatinous Drop Like Corneal Distrophy) یکی از انواع دیستروفی‌های قرنیه‌ی چشم است. عامل مسبب این بیماری وقوع SNP خاصی در ژن کدکننده‌ی پروتئین آمیلوئیدی شده و رسوب داده می‌باشد که موجب تغییر

آمینو اسیدی رشته‌ی پلی‌پپتیدی و نهایتاً رسوب آن در بافت چشم می‌شود. با بررسی‌های به عمل آمده در ایران، عامل بیماری SNPی E227k گزارش شده است. محصول ژن TACSTD2 یک گلیکوپروتئین غشاءگذر چند دوماینی می‌باشد که دارای ۳۲۳ آمینو اسید می‌باشد، که در این مطالعه SNPهای مربوط به همین ژن بررسی شده است. پروتئین محصول این ژن دارای سه دوماین: خارج سلولی، غشاءگذر و سیتوپلاسمیک می‌باشد. در این مطالعه ابتدا با استفاده از پایگاه NCBI تمام SNPهای شناخته شده‌ی این ژن به تعداد ۶۱ عدد استخراج شد و سپس با استفاده از سایت SNP-Nexus که بر اساس دو سایت SIFT و Polyphen بررسی می‌کند اثر SNPهای مربوطه از لحاظ درجه‌ی تأثیر بر ساختار و عملکرد پروتئین مورد مطالعه قرار گرفت. سپس ۱۰ SNPکه خطرناک‌تر گزارش شدند، منتخب شدند و در قدم بعدی مطالعاتی در سایت Mutpred بر روی این ۱۰ SNP انجام شد و از میانشان ۴ SNP که اثرگذاریشان از بقیه بیشتر بوده، در سایت Protparam وPhyre2 بررسی و مطالعه شد.

علاقه مندان جهت مطاعه بیشترمیتوانند به پایان نامه کارشناسی ارشد نویسنده رقیه محمدی با عنوان:

بررسی بیوانفورماتیکی اثر انواع SNPهای ژن M1S1 در سطح ساختار پروتئین

که دردانشگاه زنجان به تاریخ شهریور۱۳۹۴نگاشته شده است مراجعه نمایند.

فصل اول

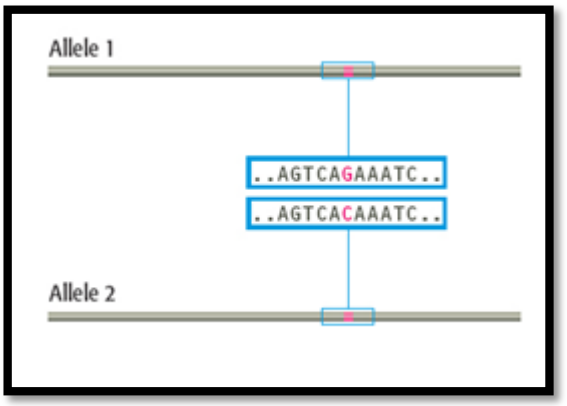
SNP چیست؟

از آغاز توالی‌بندی ژنوم بشری، تحقیقات و پروژه‌های زیادی جهت نشان دادن و بررسی تأثیرات تفاوت‌های ژنتیکی در میان افراد انجام گرفته شده است.

مطالعه روی SNP برای شناخت مبنای مولکولی بیماری‌ها اهمیت زیادی دارد. بر اساس تأیید NIH، بیش از چهار میلیون SNP در ژنوم انسان موجود است. SNP مخفف عبارت: Single Nocleutid polymorphism وبه معنای چند شکلی های تک نوکلئوتیدی میباشد.

SNP متداول‌ترین شکل تنوع ژنتیکی در انسان است. اساساً SNPها دو آللی هستند (شکل۱). یعنی تنها دوتا از چهار نوکلئوتید رایج در منطقه‌ی SNP یافت می‌شود.

1. National Institue of health (سازمان بهداشت جهانی)



شکل ۱: نمونه یک چندشکلی تک نوکلئوتیدی

بیشتر SNPها (بیش از ۹۵٪) در منطقه‌ی رمزگذاری نشده‌ی ژنوم (Non-coding) اتفاق می‌افتند (معمولاً در اینترون‌ها). شناخت تأثیر عمل SNPهایی که نزدیک یک ژن بوده یا در آن قرار دارند، بسیار مشکل است.

SNPها می‌توانند عمل DNA، RNA و pro را تغییر دهند [۳-۱].

SNP حداقل و تقریباً یک بار در هر ژن روی می‌دهد و بیشتر در اینترون‌ها که غیر کدکننده‌اند رخ می‌دهد[۴]. بیشتر SNPها (بیشتر از ۹۹٪) توالی اسید آمینه‌ای را تغییر نمی‌دهند.

پیش‌بینی و شناخت تأثیرات اندک تنوع ژنتیکی با استفاده از روش‌های محاسباتی در تحقیقات ژنتیکی و شناخت مبنای مولکولی بیماری‌ها، اهمیت فزاینده‌ای دارد[۶-۵].

برای شناخت این که SNPها چگونه روی ساختار پروتئین اثر می‌گذارند، استفاده از پایگاه‌های داده‌ی بیوانفورماتیکی نیز ملازم مطالعه بر روی SNPهاست. امروزه، پایگاه داده‌ای اولیه پلی‌مورفیسم، dbSNP می‌باشد که بیش از ۵ میلیون SNP معتبر انسانی را دربر می‌گیرد.

پلی‌مورفیسم مربوط به بیماری، در پایگاه داده‌ای مثل OMIM، Swiss-prot، HGMD و HGVBase موجود است. این پایگاه‌های داده‌ای اطلاعات مربوط به بیش از ۴۰ هزار پلی‌مورفیسم بدون رمزگذاری، همسان و غیرهمسان را ارائه می‌دهند[۷].

به عبارت ساده‌تر: برخی از افراد در مناطقی از ژنوم خود، دارای نوکلئوتیدی هستند (مانند G) که در سایر افراد تفاوت دارد (مانند C). در ژنوم، تعداد متنابهی چند شکلی‌های تک نوکلئوتیدی (SNP) وجود دارد که فقط برخی از آن‌ها سبب ایجاد RFLP[1]«پلی مرفیک بودن محل‌های شناسائی آنزیم بر روی DNA (مثلاً یک ژن با دو آلل که توالی یک آلل برای برش آنزیمی مناسب، ولی توالی دوم به گونه‌ای تغییر یافته باشد که برای آنزیم قابل شناسائی نباشد) و ایجاد قطعات مختلف بر روی ژل کند، می‌شوند و بسیاری از آن‌ها قادر به ایجاد RFLP نمی‌باشند. زیرا هیچ آنزیم محدود کننده ی شناخته شده‌ای قادر به شناسائی محل آن‌ها نمی‌باشد. در ژنوم انسان حداقل چهار میلیون SNP وجود دارد که فقط تعدادی از آن‌ها ایجاد RFLP

1. Restriction fragment length polymorphism

می‌کنند، ولی بقیه آن‌ها به دلیل قرارگیری در توالی‌های خاصی که هیچ آنزیم محدود شده‌ای آن‌ها را نمی‌شناسند ایجاد RFLP نمی‌کنند.

هریک از چهار نوکلئوتید موجود می‌تواند در هر نقطه‌ای از ژنوم قرار گیرد، بنابراین ممکن است تصور شود که هر SNP باید حاوی چهار آلل باشد، این موضوع اگرچه از نظر تئوری صحیح است، ولی در عمل اکثر SNPها فقط دارای دو آلل مختلف می‌باشند، زیرا SNPها هنگامی به‌وجود می‌آیند که با یک جهش نقطه‌ای در ژنوم، یک نوکلئوتید به نوکلئوتید دیگر تبدیل شود.

اگر جهش در سلول‌های زایای یک فرد به وقوع پیوندد، یک یا چند نسل به وجود آمده از این فرد، جهش را به ارث می‌برند، بنابراین پس از گذشت چند نسل، SNP در جمعیت پایدار می‌شود.

اما فقط دو آلل وجود دارد، آلل اولیه و آلل موتانت. برای ایجاد آلل سوم، جهش دیگری در همان نقطه از ژنوم فرد دیگری لازم است و این فرد نیز باید مانند قبل، این آلل جدید را به نسل‌های بعد از خود منتقل کند تا در جمعیت پایدار شود. گرچه این روند غیرممکن نمی‌باشد، ولی نامحتمل است. در نتیجه اکثر SNPها دو آللی هستند. این ضعف SNPها، با تعداد زیاد آن‌ها در ژنوم جبران می‌شود [۸].

جهش‌های نقطه‌ای عامل ایجاد SNPها[۸]

جهش تغییر در توالی نوکلئوتیدی یک ناحیه از ژنوم می‌باشد، بسیاری از جهش‌ها از نوع نقطه‌ای (که قبلاً جهش ساده یا جایگاه منفرد نامیده می‌شد) هستند، که در

آن‌ها یک نوکلئوتید جایگزین نوکلئوتید دیگر می‌شود، جهش‌های نقطه‌ای را می‌توان به دو گروه تقسیم نمود.

۱-ترانزیسیون: که در آن‌ها پورین به پورین یا پیریمیدن به پیریمیدین تبدیل می‌شود.

(T→C, C→T, A→G, G→A)

۲-ترانسوریسیون: که در آن‌ها پورین به پیریمیدین یا پیریمیدین به پورین تبدیل می‌شود.

(A→C, A→T, G→C, G→T, C→A, C→G, T→A, T→G)

سایر جهش‌ها به واسطه‌ی درج‌شدگی یا حذف یک یا چند نوکلئوتید می‌باشند. جهش در یک ژن کلیدی ممکن است سبب ایجاد پروتئین ناقص شده و به مرگ سلول منجرشود. برخی جهش‌ها فاقد اثر روی فنوتیپ هستند یا اثر کم‌تری بر فنوتیپ دارند، بنابراین اگر جهش منجر به مرگ سلول نشود، می‌توان در تکامل ژنوم نقش داشته باشد، البته اگر این جهش در سلول زایا اتفاق بیافتد و در نسل‌های بعدی نیز انتقال داده شده و وجود داشته باشد.

البته لازم به ذکر است که تغییرات ژنومی در سلول‌های سوماتیک نیز سبب ایجاد فنوتیپ‌های زیان‌آور (بیماری) شود، هرچند غیرقابل انتقال است. بنابراین اشتباهات همانندسازی منشاء جهش‌های نقطه‌ای است. (شکل ۲)