Instructions for Use:

Haplotype Analysis of Genes with Autosomal Inheritance Patterns

دفترچه راهنمای استفاده از:

آنالیز هاپلوتایپ ژن هایی با الگو توارث اتوزومال

شرکت زیست فناوری کوثر

KBC
Kawsar Biotech Company

فهرست

۱. رسم هاپلوتایپ ژن هایی با نحوه توارث اتوزومال ۲

۱,۱. نحوه رسم هاپلوتایپ بر اساس Affected Child (AC) ۲

۱,۱,۱. نحوه رسم هاپلوتایپ بر اساس Affected Child (AC) دارای یک جهش به صورت هموزیگوت ۲

۱,۱,۲. نحوه رسم هاپلوتایپ بر اساس Affected Child (AC) دارای دو جهش به صورت هتروزیگوت مرکب ۸

۱,۲. نحوه رسم هاپلوتایپ بر اساس موتاسیون مشترک پدر و مادر ۱۱

۱.۲.۱. نحوه رسم هاپلوتایپ بر اساس جواب آزمایش CBC ۱۳

۲. اساس تفسیر نتایج Linkage analysis آنیوپلوئیدی ها ۱۵

۲,۱. رسم هاپلوتایپ برای مارکرهای آنیوپلوئیدی ۱۵

۳. عوامل موثر در رسم هاپلوتایپ ۱۸

۳,۱. پدیده کراسینگ اور ۱۸

۳,۲. یکسان بودن سایزها ۱۹

۴. رفع شبه نمونه جنین از نمونه مادری ۲۱

۵. تشخیص دیزومی تک والدی ۲۴

۶. نمونه تفسیر نتایج کیت HBB SegCheck™ ۲۵

۶,۱. محل قرارگیری مارکرهای ژن بتاگلوبین بر روی کروموزوم ۱۱ ..... ۲۵

۶,۲. نمونه نتایج حاصل از کیت HBB SegCheck™ ۲۶

۶,۳. رسم هاپلوتایپ ۲۷

۷. نمونه تفسیر نتایج کیت PAH SegCheck™ ۳۰

۷,۱. محل قرارگیری مارکرهای ژن PAH بر روی کروموزوم ۸ ..... ۳۰

۷,۲. نمونه نتایج حاصل از کیت PAH SegCheck™ ۳۱

۷,۳. رسم هاپلوتایپ ۳۳

۱. رسم هاپلوتایپ ژن هایی با نحوه توارث اتوزومال

اساس تفسیر نتایج Linkage analysis ژن هایی با نحوه توارث اتوزومال

برای رسم این نوع هاپلوتایپ دو حالت در نظر گرفته می شود:

رسم هاپلوتایپ بر اساس Affected Child (AC)

- ✓ AC دارای یک جهش به صورت هموزیگوت
- ✓ AC دارای دو جهش به صورت هتروزیگوت مرکب

رسم هاپلوتایپ بر اساس موتاسیون مشترک پدر و مادر

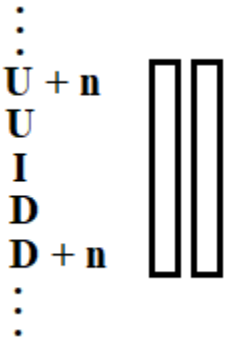
❖ در تمامی مثال های آورده شده ، خط قرمز نمایان گر کروموزوم نشان دهنده الل های جهش یافته می باشند.

۱,۱. نحوه رسم هاپلوتایپ بر اساس Affected Child (AC)

۱,۱,۱. نحوه رسم هاپلوتایپ بر اساس Affected Child (AC) دارای یک جهش به صورت هموزیگوت

جهت رسم هاپلوتایپ بر اساس نتایج بدست آمده، مراحل زیر را انجام دهید:

- ➢ نتایج حاصل از الکتروفورز کیت را با نرم افزار طبق راهنمای فرآیند کپیلاری الکتروفورز باز نمایید.
- ➢ سپس مارکرها را بر اساس موقعیت Upstream تا Downstream آن ها بر روی کروموزوم به ترتیب از بالا به پایین همانند شکل فرضی زیر مشخص نمایید.



شکل شماره ۱: شکل فرضی ترتیب مارکرها

❖ جهت تعیین موقعیت آن ها باید مد نظر داشت که محل هایی که با I (Intergenic) نمایش داده شده اند در بین محل های Upstream (بالا دست) و Downstream در (پایین دست) قرار دارند.

❖ در بالا n عدد فرضی است و نقطه چین نمایان گر این است که می توان محل های بالا دست و پایین دست را با n فاصله بیشتر از محل های اینترژنیک نمایش داد. این نکته هم در نظر بگیرید n فاصله بین محل ها عدد یکسانی نیست و می تواند در فواصل متغیر، محل ها از یکدیگر فاصله داشته باشند.

❖ همچنین این امکان وجود دارد در کیتی محل I وجود نداشته باشد و فقط محل های بالادست و پایین دست تعریف شده باشد.

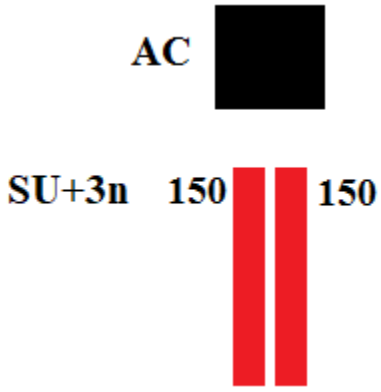
با توجه به توضیحات داده شده شروع به تعیین موقعیت مارکرها در مثال فرضی زیر می نمایید. بنابراین ابتدا برای نمونه AC با توجه جنسیت آن که مذکر یا مونث می باشد، علامت شجره نامه یعنی علامت مربع که متعلق به جنسیت مذکر است را بکشید و در کنار آن دو خط که هر کدام نمایانگر یک کروموزوم فرد است را رسم کنید.

شکل شماره ۲: نمایش کروموزوم های یک فرد

➢ سپس سایزهای هر مارکر که نشان دهنده طول قطعه همان مارکر و در الکتروفروگرام در زیر هر مارکر نمایش داده شده است را برای AC را براساس موقعیت آن ها مشخص نمایید.

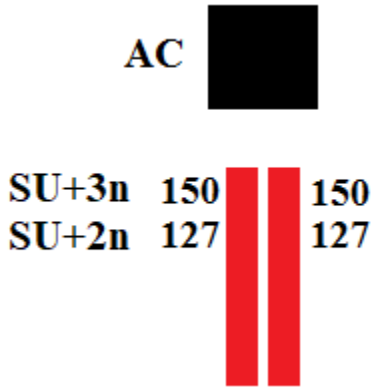
در مثال آورده شده فرض بر آن است که کیت دارای ۵ محل (سه محل بالادست و دو محل پایین دست) می باشد و تمامی عدد ها فرضی می باشد. بنابراین اولین محلی که سایز آن را در هاپلوتایپ وارد می نمایید دورترین محل بالادست است که در اینجا با توجه به سه محل بالادست ژن، همان SU+3n فرضی می باشد.

در نمونه AC به طور مثال در این محل فرضی تنها یک پیک با سایز ۱۵۰ وجود دارد که نشان دهنده هموزیگوت بودن نمونه می باشد که آن را در هاپلوتایپ یادداشت نمایید.



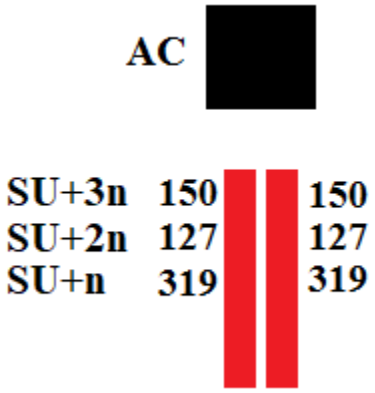
شکل شماره ۳: نمایش موقعیت مارکر اول

- سپس سایز فرضی محل SU+2n را وارد نمایید.



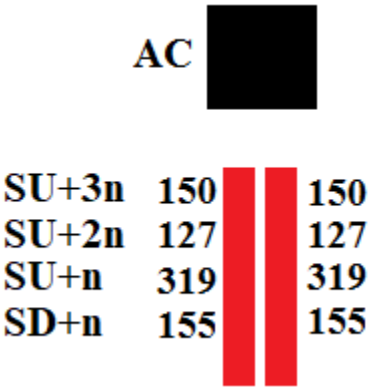
شکل شماره ۴: نمایش موقعیت مارکر دوم

- سایز فرضی محل SU+n را وارد نمایید.



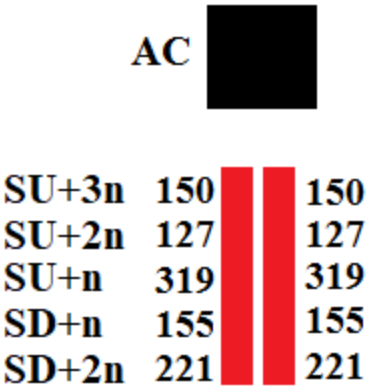
شکل شماره ۵: نمایش موقعیت مارکر سوم

- در این مرحله سایز فرضی نزدیک ترین محل پایین دست (محل فرضی SD+n) را وارد می نمایید.



شکل شماره ۶: نمایش موقعیت مارکر چهارم

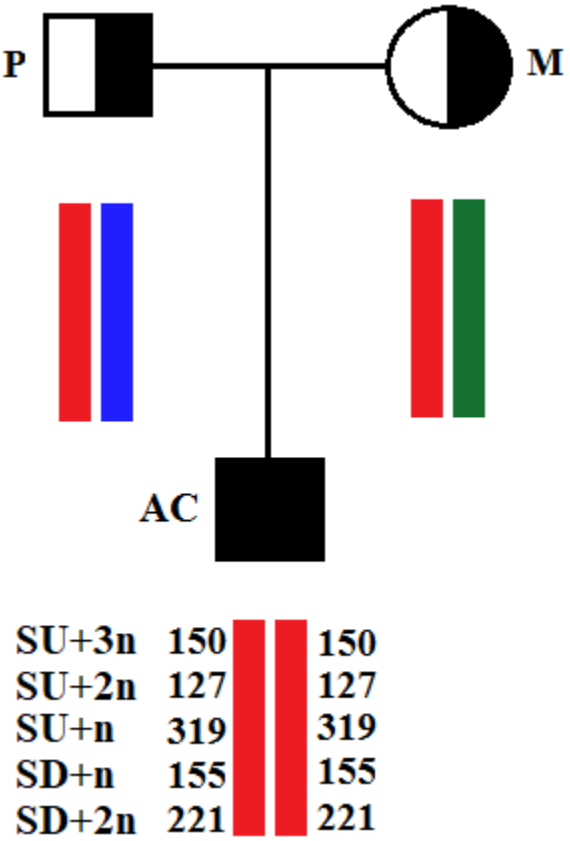
- در نهایت سایز فرضی محل SD+2n را که دور تر از محل فرضی پایین دست قبلی است، وارد نمایید.



شکل شماره ۷: نمایش موقعیت مارکر پنجم

- در این مرحله براساس نمونه AC، برای نمونه پدر (P) علامت مربع و مادر (M) علامت دایره شجره نامه را کشیده و در کنار آن دو خط را رسم کرده تا سایزهای مربوط به پدر و مادر را با توجه به نمونه فرزند AC رسم نمایید.

در این مثال فرضی پدر و مادر هر دو ناقل هستند، بنابراین یکی از کروموزوم ها را همرنگ نمایش می دهید. و از آنجایی که این کروموزوم موجب بیماری زایی در فرزند گردیده است قرمز رنگ می باشد.



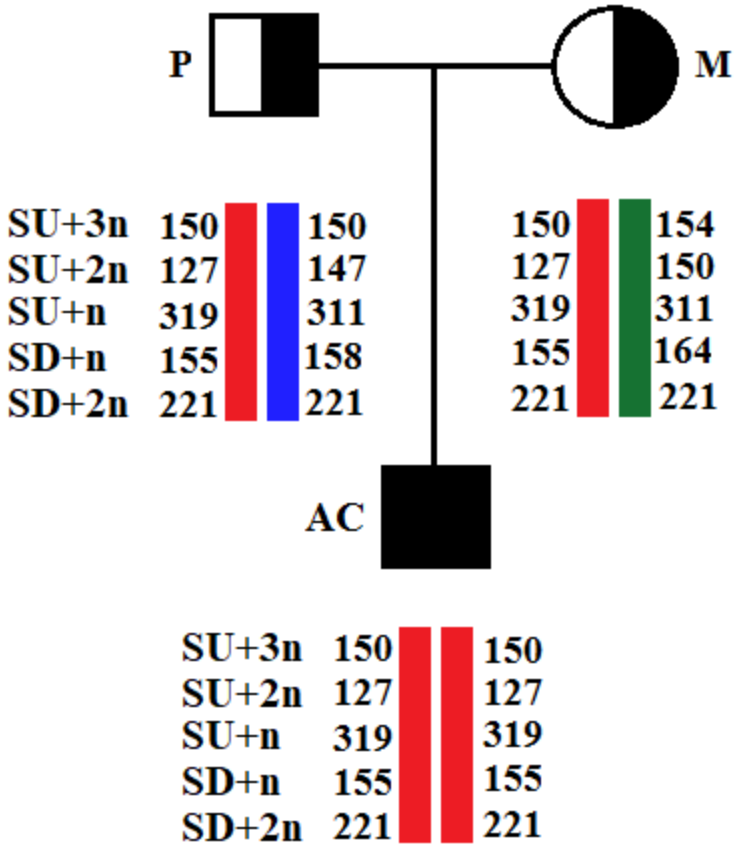
شکل شماره ۸: نمایش موقعیت مارکر ها در یک خانواده

- سپس با توجه به نتایج بدست آمده، سایز های پدر و مادر را با AC مطابقت داده تا مشخص گردد که هر کروموزوم AC متعلق به کدام یک از کروموزوم های والدین است و بر اساس آن در هاپلوتایپ وارد گردد.

به طور مثال در محل SU+3n فرض می شود در نمونه پدری تنها یک پیک با سایز ۱۵۰ وجود دارد که مشخص است یکی از سایز های ۱۵۰ را فرد AC از پدر دریافت کرده است و عدد یادداشت می گردد.

همچنین مشاهده شده در نمونه مادری دو پیک با سایزهای ۱۵۰ و ۱۵۴ وجود دارد که نشان دهنده هتروزیگوت بودن نمونه مادری است که اعداد آن را در هاپلوتاپ یادداشت نمایید. در اینجا پر واضح است که سایز ۱۵۰ مربوط به الل معیوب بوده که به AC به ارث رسیده است و سایز ۱۵۴ مربوط به الل سالم نمونه مادری می باشد.

بر همین اساس چهار محل دیگر ژن فرضی (در این مثال ژن خاصی مد نظر نمی باشد و هدف رسم هاپلوتایپ می باشد) بررسی شده و هاپلوتایپ رسم شده است.



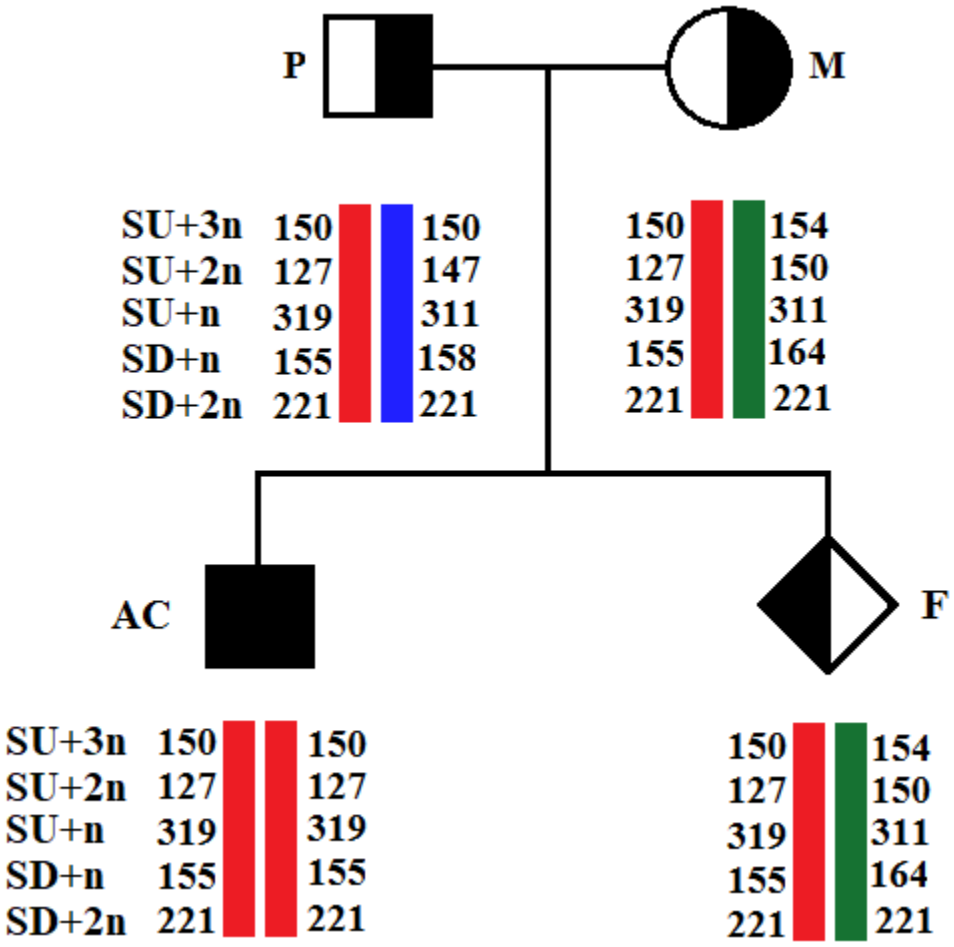
شکل شماره ۹: نمایش نهایی موقعیت مارکر ها در یک خانواده

- در این مرحله جهت بررسی نمونه جنینی (F) این خانواده علامت لوزی شجره نامه را کشیده و بر اساس سایزهای نتایج حاصل از کیت مشخص نمایید که کدام الل از پدر یا مادر به ارث رسیده است. در نهایت با توجه به نتیجه مشخص گردد که جنین سالم، ناقل یا بیمار است.

در مثال ذکر شده ، سایز محل های فرضی جنین را با پدر و مادر مطابقت داده تا مشخص گردد که این الل متعلق به کدام یک از والدین است و بر اساس آن در هاپلوتایپ وارد گردد.

به طور مثال در محل SU+3n، فرض می شود جنین دارای سایز ۱۵۴ می باشد پس این سایز را از مادر و سایز ۱۵۰ را از پدر به ارث برده است.

پس از رسم آن مشخص گردید که جنین مورد بررسی ناقل می باشد.



شکل شماره ۱۰: نمایش موقعیت مارکر ها در جنین

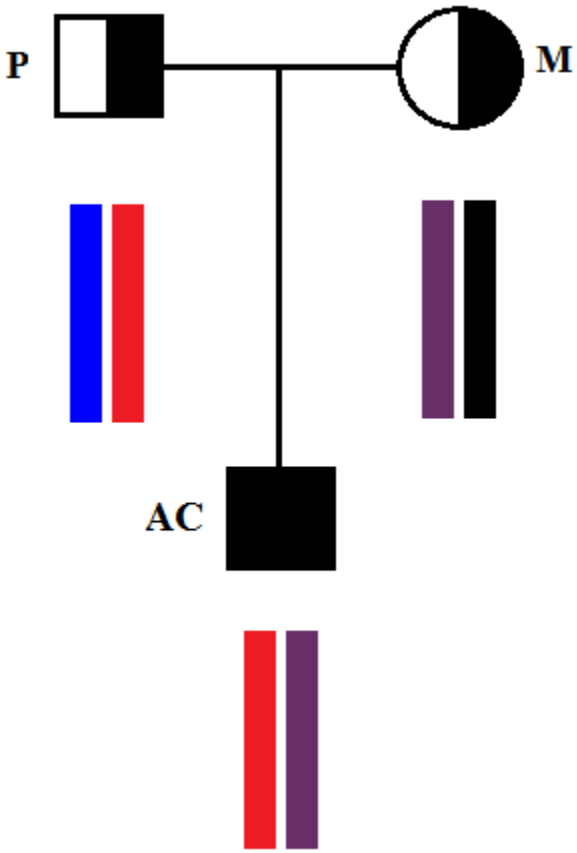
❖ در مثال بالا فرزند مبتلا هموزیگوت بوده و رسم هاپلوتایپ آن به دلیل داشتن یک پیک در هر محل از ۵ محل مورد بررسی ژن فرضی، بدون در نظر گرفتن پدر و مادر ممکن می باشد. در حالی که این احتمال وجود دارد که فرزند مبتلا هتروزیگوت مرکب و دارای دو جهش (Compound Heterozygote) بوده و حتما برای رسم هاپلوتایپ باید همزمان از نتایج پدر و مادر استفاده گردد.

۱،۱،۲. نحوه رسم هاپلوتایپ بر اساس Affected Child (AC) دارای دو جهش به صورت هتروزیگوت مرکب

جهت رسم این هاپلوتایپ بر اساس نتایج بدست آمده، مراحل زیر را انجام دهید:

➢ ابتدا همانطور که قبلا اشاره شد علامت شجره نامه رو برای فرزند مبتلا و پدر و مادر رسم نمایید. در واقع الل بنفش و رنگ قرمز رنگ حاوی لوکوس جهش یافته می باشند.

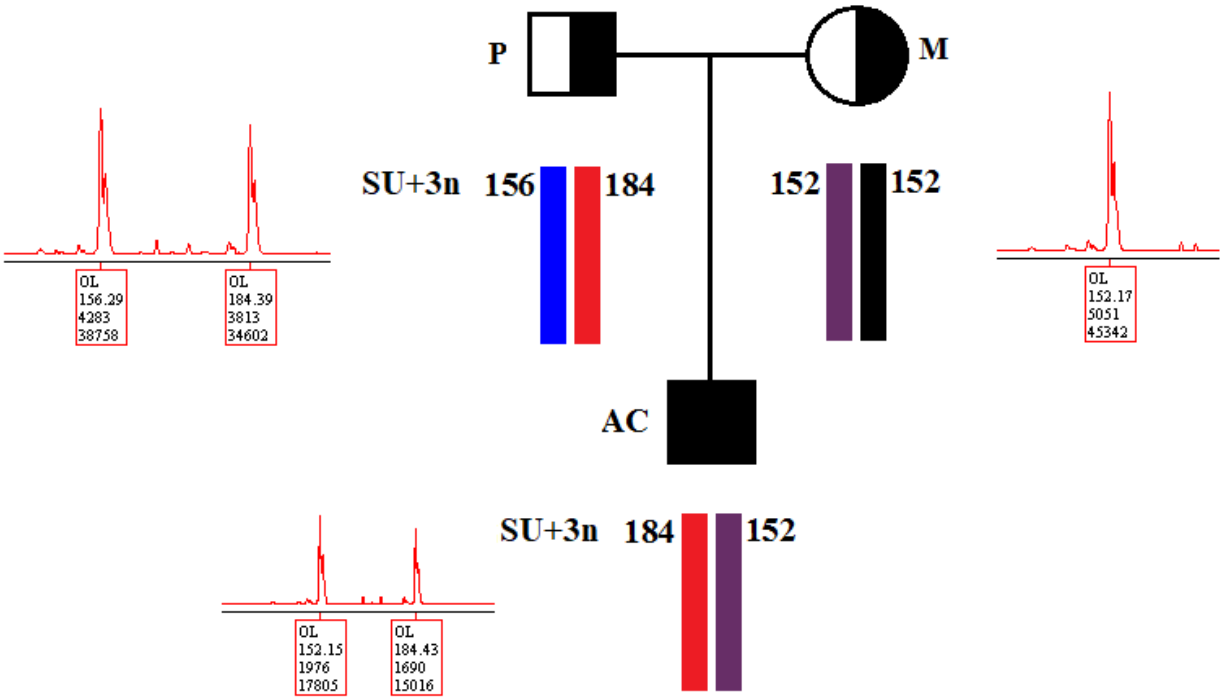
❖ در حین رسم حتماً دقت فرمایید که هر خطی که برای پدر و مادر رسم می نمایید در همان جهت فرزند مبتلا باشد. به طور مثال اگر الل های به ارث رسیده از پدر را در سمت چپ رسم نموده اید (خط قرمز رنگ)، مربع نمایانگر پدر را در سمت چپ و الل های به ارث رسیده از مادر را در سمت راست رسم نموده اید (خط بنفش رنگ)، دایره نمایانگر مادر را در سمت راست رسم نمایید.



شکل شماره ۱۱: نمایش کروموزوم ها در هتروزیگوت مرکب

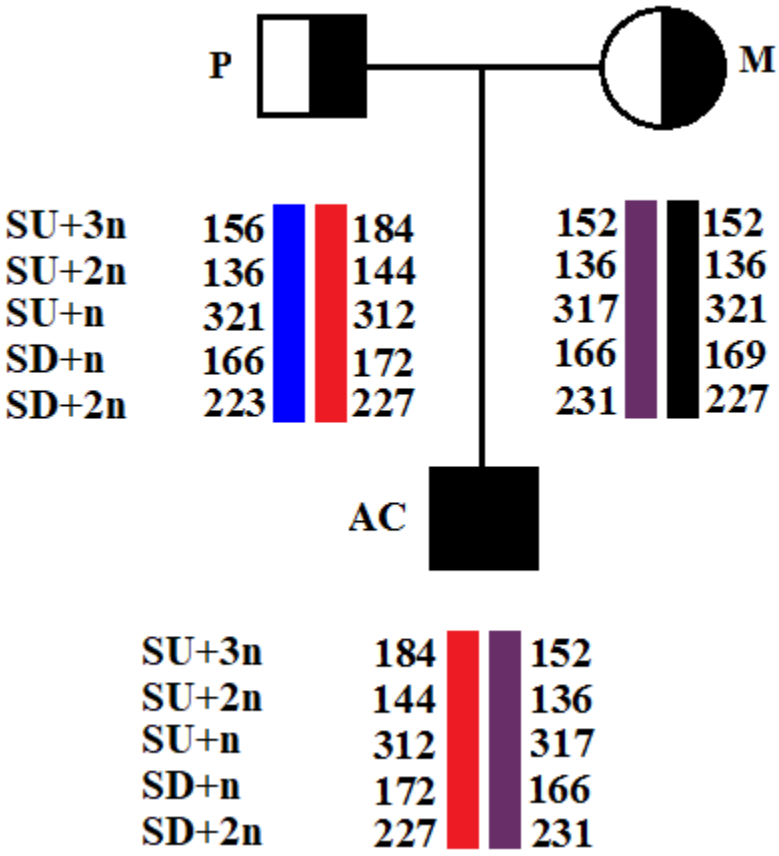
➢ سپس نتایج محل فرضی SU+3n را برای هر سه نفر را کنار هم قرار داده تا مشخص گردد که کدام الل جهش یافته رو از پدر و یا مادر دریافت کرده است.

به طور مثال ، فرزند مبتلا دو سایز ۱۵۲ و ۱۸۴ دارد که با در نظر گرفتن نمونه پدر و مادر مشخص است که سایز ۱۸۴ الل جهش یافته را از مادر نگرفته چون مادر هموزیگوت و دارای یک پیک با سایز ۱۵۲ الل جهش یافته می باشد پس بنابراین سایز ۱۵۲ رو از مادر و سایز ۱۸۴ را از پدر به ارث برده است و به دلیل دارا بودن دو جهش متفاوت که هرکدام را از یکی از والدین گرفته است، فرد مبتلا دارای دو جهش به صورت هتروزیگوت مرکب می باشد.



شکل شماره ۱۲: نمایش مقایسه مارکر در هتروزیگوت مرکب

- محل های دیگر هم به همین روش مشخص نمایید.



شکل شماره ۱۳: نمایش موقعیت مارکرها در هتروزیگوت مرکب

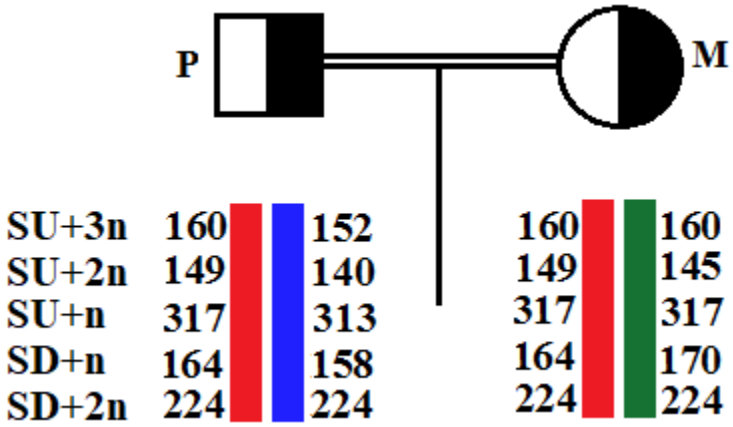
پس از آنکه الل های جهش یافته پدر و مادر را مشخص شد، بر همین اساس می توان هاپلوتایپ جنین را رسم کرده و ناقل یا حالت های دیگر آن را مشخص نمایید.

۱,۲. نحوه رسم هاپلوتایپ بر اساس موتاسیون مشترک پدر و مادر

نحوه رسم این هاپلوتایپ زمانی کاربرد دارد که نمونه فرزند مبتلا (AC) موجود نبوده و پدر و مادر به دلیل نسبت فامیلی دارای یک موتاسیون مشترک بوده و بر اساس همان موتاسیون هاپلوتایپ جنین با توجه به مراحل زیر رسم می گردد.

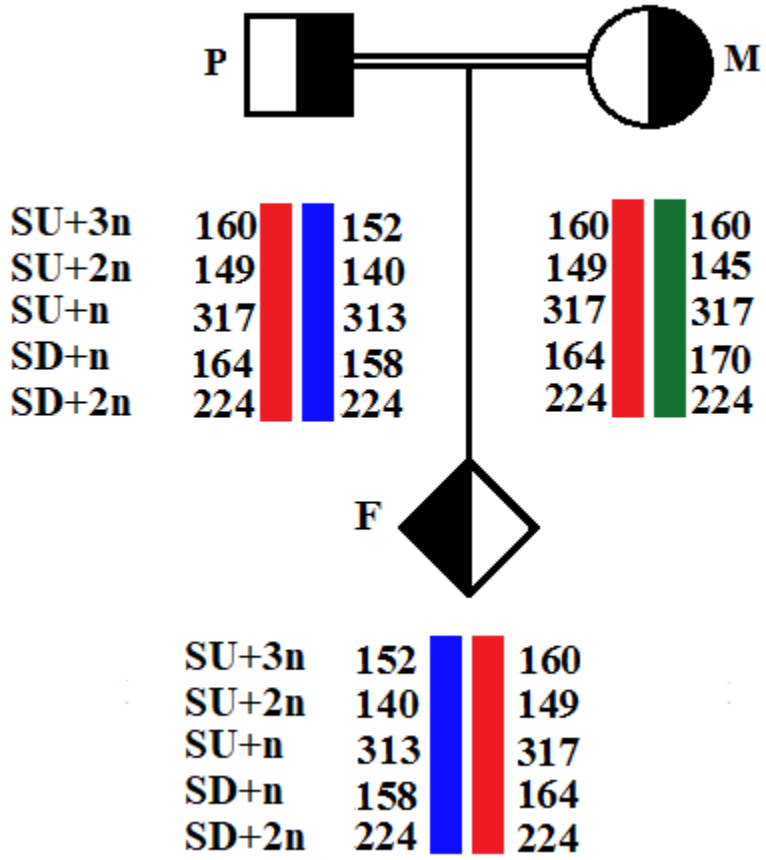
- برای رسم این دسته از هاپلوتایپ ها ابتدا پدر و مادر را با روش مستقیم تعیین موتاسیون کرده و چنانچه هر دو آنها جهش مشابهی داشته باشند (که به احتمال زیاد الل جهش یافته در آنها باید هاپلوتایپ مشابهی داشته باشد)، الل های مشترک پدر و مادر را برای هر محل مشخص کرده و آن را به عنوان الل موتانت در نظر گرفته و وارد کرده و عدد دیگر را نیز به عنوان الل سالم در نظر بگیرید.

بنابراین همانند مثال قبلی رسم هاپلوتایپ برای AC را انجام دهید.



شکل شماره ۱۴: نمایش موقعیت مارکرها در موتاسیون مشترک پدر و مادر

- سپس در مرحله بعدی براساس اعداد هر محل هاپلوتایپ جنین را رسم نمایید.



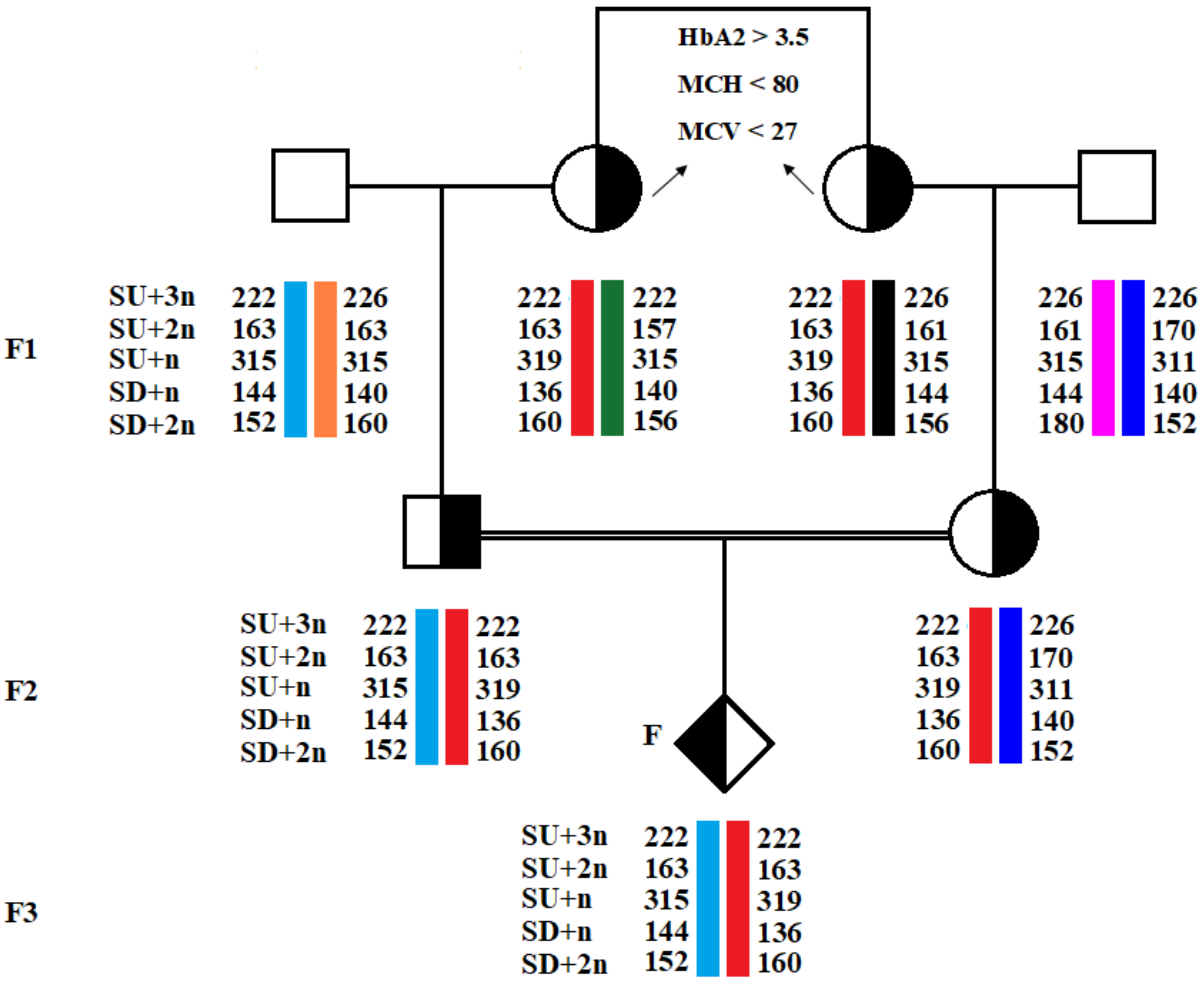
شکل شماره ۱۵: نمایش موقعیت مارکرها در نمونه جنینی

در واقع برای رسم هاپلوتایپ جنین بر اساس موتاسیون مشترک پدر و مادر باید به دنبال الل های مشترک بین پدر و مادر بوده و همان الل را به عنوان الل بیماری زا در نظر گرفت. به طور مثال محل SU+2n پدر دارای دو الل با سایز های ۱۴۹ و ۱۴۰ و مادر

دارای دو الل با سایز های ۱۴۹ و ۱۴۵ می باشد، بنابراین الل مشترک بین آن ها اللی با سایز ۱۴۹ می باشد که به عنوان الل بیماری زا در نظر گرفته که در جنین نیز مشاهده شده است. به دلیل اینکه تنها بر روی یک کروموزوم الل های بیماری زا مشاهده شده، در نتیجه جنین ناقل می باشد.

۱،۲،۱. نحوه رسم هاپلوتایپ بر اساس جواب آزمایش CBC

در کیت HBB Segcheck™ در یک خانواده مورد بررسی، در صورت عدم وجود نمونه فرزند مبتلا و موتاسیون مشترک بین پدر و مادر می توان با جواب آزمایش CBC والدین، مینور بودن هر یک از والدین را مشخص نمود. در واقع معمولا اگر HbA2>3.5، MCH<80 و MCV<27 باشد می توان از طریق هاپلوتایپ، الل معیوب را شناسایی کرد.



شکل شماره ۱۶: نمایش هاپلوتاپ بر اساس جواب آزمایش CBC

در مثال بالا با توجه به جواب آزمایش CBC، مینور بودن بتا-تالاسمی دو خواهر (دارای HbA2 برابر ۴ می باشند) در شجره نامه تایید گردید. سپس بر اساس هاپلوتایپ، الل معیوب مشخص می شود. همانطور که مشاهده می نمایید الل معیوب به نسل F2 به ارث رسیده است و بر اساس آن مشخص می گردد که جنین ناقل می باشد.

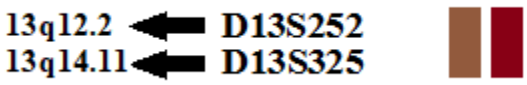
۲. اساس تفسیر نتایج Linkage analysis آنیوپلوئیدی ها

مارکرهایی که جهت غربالگری آنیوپلوئیدی در کیت های تشخیصی تعبیه شده است، به دو روش مورد بررسی قرار می گیرند. در واقع علاوه بر رسم هاپلوتایپ برای آن ها، مساحت زیر نمودار (اساس QF-PCR) نیز بررسی می شود.

در اینجا با یک اختلال کروموزومی روبرو هستیم بنابراین هدف تعیین ناقلی نیست.

۲,۱. رسم هاپلوتایپ برای مارکرهای آنیوپلوئیدی

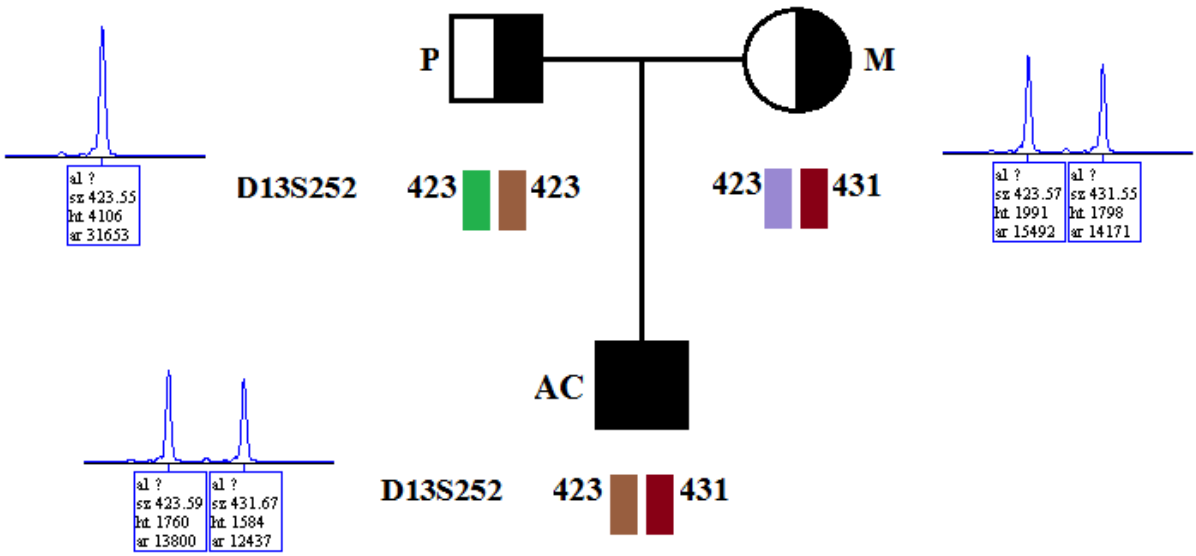
- ابتدا در نظر داشته باشید که برای هر کروموزوم در بررسی آنیوپلوئیدی ها خطوط جداگانه ای را تعریف نمایید. همچنین ترتیب محل های هر کروموزوم را رعایت فرمایید. به طور مثال اگر دو محل D13S252 و D13S325 در غربالگری کروموزوم ۱۳ وجود دارد بر اساس موقعیت کروموزومی آن ها (موجود در جدول مشخصات مارکرهای کیت در دستورالعمل مربوط به هر کیت) همانند مثال زیر یادداشت نمایید.



شکل شماره ۱۷: نمایش موقعیت مارکرها در یک کروموزوم

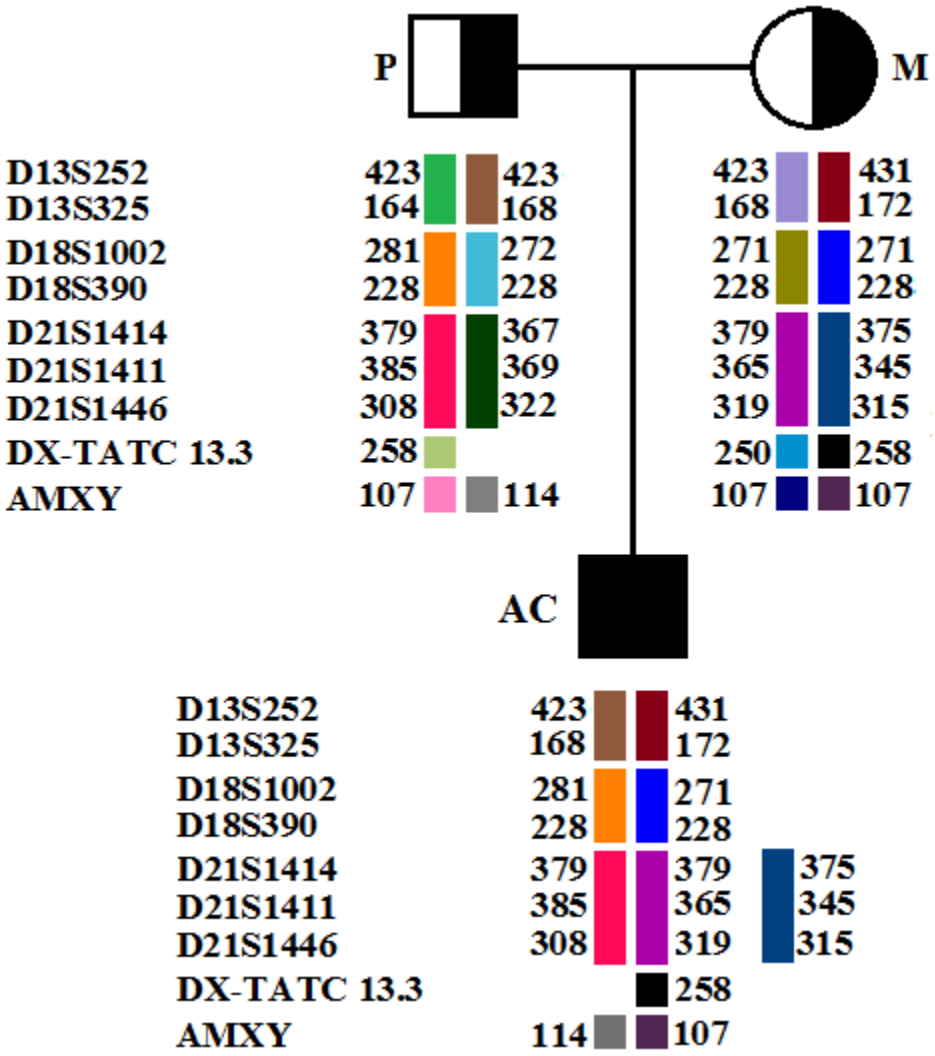
جهت رسم خطوط کروموزومی در نظر داشته باشید که برای هر کروموزوم رنگ متفاوتی در نظر بگیرید. به طور مثال برای کروموزوم ۱۳ برای دو الل متفاوت در پدر رنگ سبز و قهوه ای، در مادر بنفش و زرشکی و در فرزند سبز و زرشکی در نظر گرفته شده است.

- به طور مثال برای اولین محل D13S252 (فرض نمایید این محل در کیت تهیه شده جهت غربالگری وجود دارد) برای هر سه عضو خانواده رسم می گردد. سپس با مقایسه نتایج سایز های محل D13S252 (با توجه به شکل زیر) در نمونه فرزند با نمونه پدر و مادر مشخص نموده که کدام کروموزوم را به ارث برده است.



شکل شماره ۱۸: نمایش مقایسه مارکر آنیوپلوئیدی

- بعد از مشخص کردن اولین محل، تمامی محل ها را به همین صورت مشخص نمایید.



شکل شماره ۱۹: نمایش نهایی موقعیت مارکرهای آنیوپلوئیدی

همانطور که در نتیجه نهایی مثال فرضی مشاهده می نمایید این فرد دو کروموزوم ۲۱ از مادر و یک کروموزوم ۲۱ از پدر دریافت نموده به همین دلیل این فرد تریزومی ۲۱ می باشد.

❖ این نکته را مد نظر داشته باشید در محل DX-TATC13.3 برای جنس مذکر تنها یک سایز باید وجود داشته باشد بدین منظور در شکل جای خالی نشان دهنده عدم حضور X دوم است.

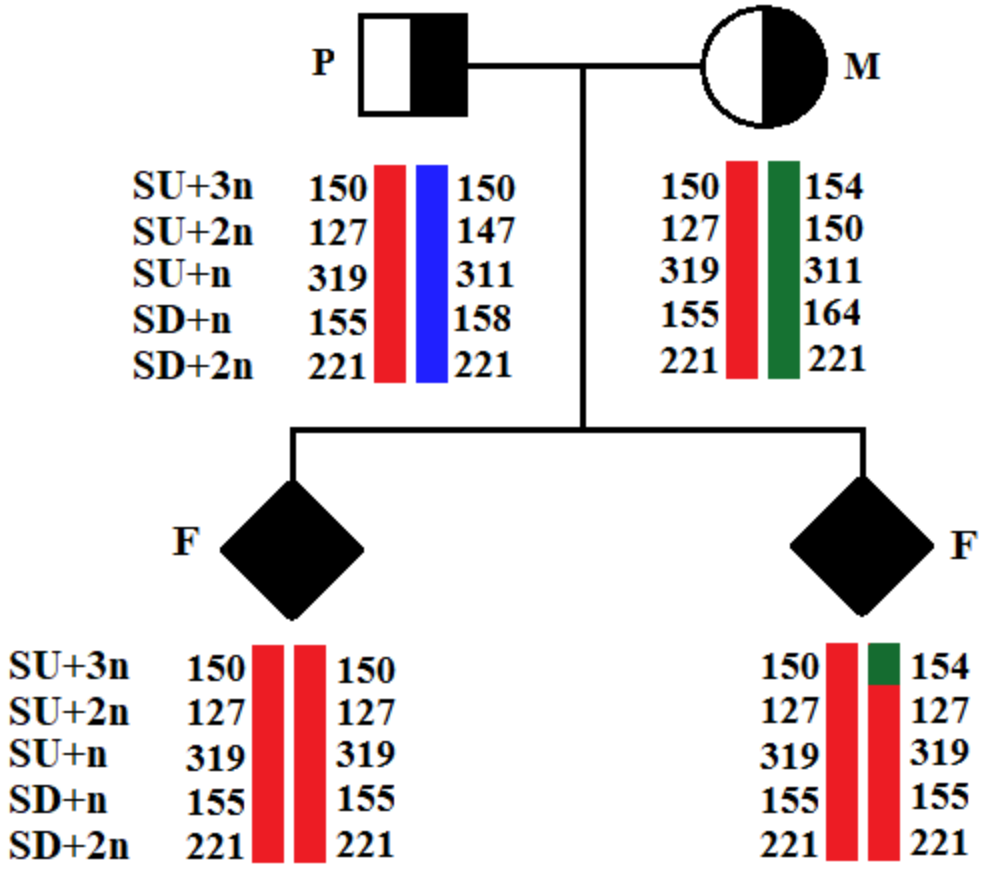
۳. عوامل موثر در رسم هاپلوتایپ

در موارد زیر، حالت های متفاوت دیگر هاپلوتایپ ها نمایش داده می شود:

۳,۱. پدیده کراسینگ اور

در برخی موارد در نمونه مورد بررسی مشاهده می شود، الل هایی که از یک والد به ارث برده است (پدر یا مادر) همان اللی نمی باشد که در پدر یا مادر مشاهده شده و تفاوت جزئی مشاهده می شود. به طور مثال در هاپلوتایپ زیر جنین سمت چپ هر دو کروموزوم عامل بیماری را به ارث برده و الل های آن کاملا با الل پدر و مادر یکسان می باشد در حالی که جنین سمت راست کروموزومی که از مادر به ارث برده است به جای سایز ۱۵۰ مارکر SU+3n، سایز ۱۵۴ را به ارث برده است و نمایش می دهد که با توجه به اینکه جنین سمت راست همان سایز ها را بر روی هر یک از الل نشان می دهد که در پدر و مادر نیز دقیقاً به همان ترتیب است، بنابراین این نتیجه را می توان با **پدیده کراسینگ اور** توجیه کرد.

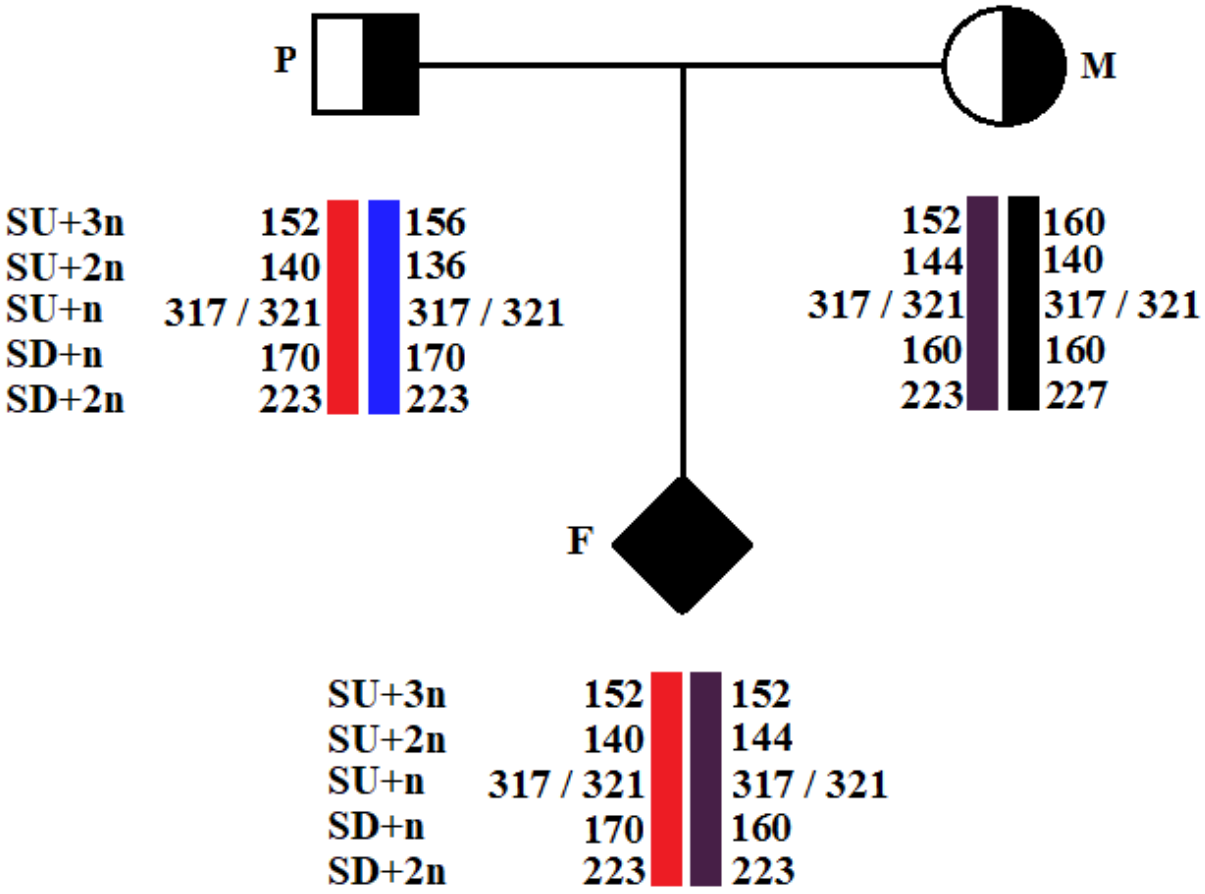
❖ اگرچه هنگام انتخاب و طراحی مارکرها شرکت زیست فناوری کوثر سعی نموده تا آنها در فاصله مناسبی از ژن و فاصله کمی از همدیگر قرار گرفته باشند که احتمال وقوع کراسینگ اور بسیار کم و یا نزدیک به صفر باشد.



شکل شماره ۲۰: نمایش هاپلوتایپ پدیده کراسینگ اوور

۳,۲. یکسان بودن سایزها

در مواردی مشاهده می شود که فرزند مبتلا در یک محل دارای دو سایز الل است که پدر و مادر هر دو آن سایز الل ها را دارا می باشند. بنابراین نمی توان مشخص کرد که کدامیک از آن دو الل که سایز های یکسانی در پدر و مادر و فرزند دارند، بیماری زا و کدامیک سالم است. به طور مثال در شکل زیر فرزند مبتلا هتروزیگوت مرکب در محل SU+n دارای دو الل با سایزهای ۳۱۷ و ۳۲۱ می باشد که این دو الل در پدر و مادر هم مشاهده می شود. در نتیجه به دلیل عدم قطعیت در تصمیم گیری اینکه کدام الل بیماری زاست به صورت زیر نمایش داده می شود.

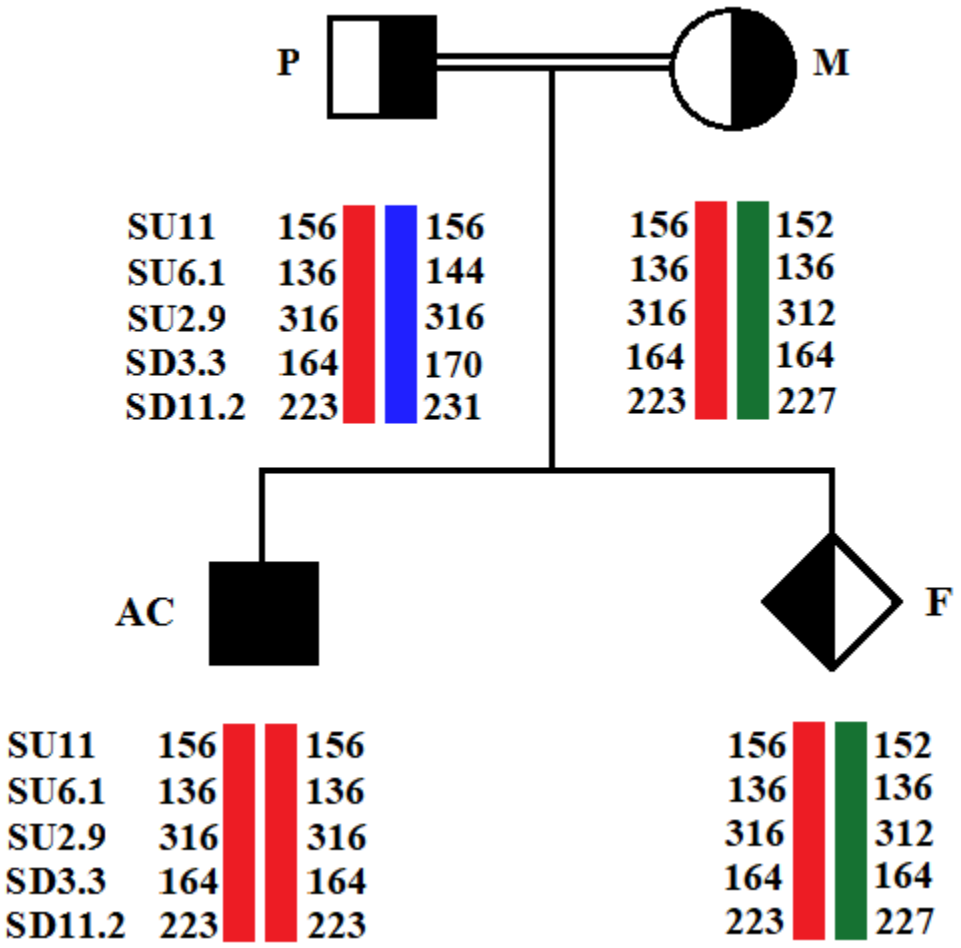


شکل شماره ۲۱: نمایش هاپلوتایپ در هنگام یکسان بودن سایزها

۴.رفع شبه نمونه جنین از نمونه مادری

همانطور که در دستورالعمل کیت ها بدان اشاره شده است آلودگی نمونه جنین به نمونه مادری یکی از مواردی است که می توان بوسیله مارکرهای موجود در کیت بررسی نمود.

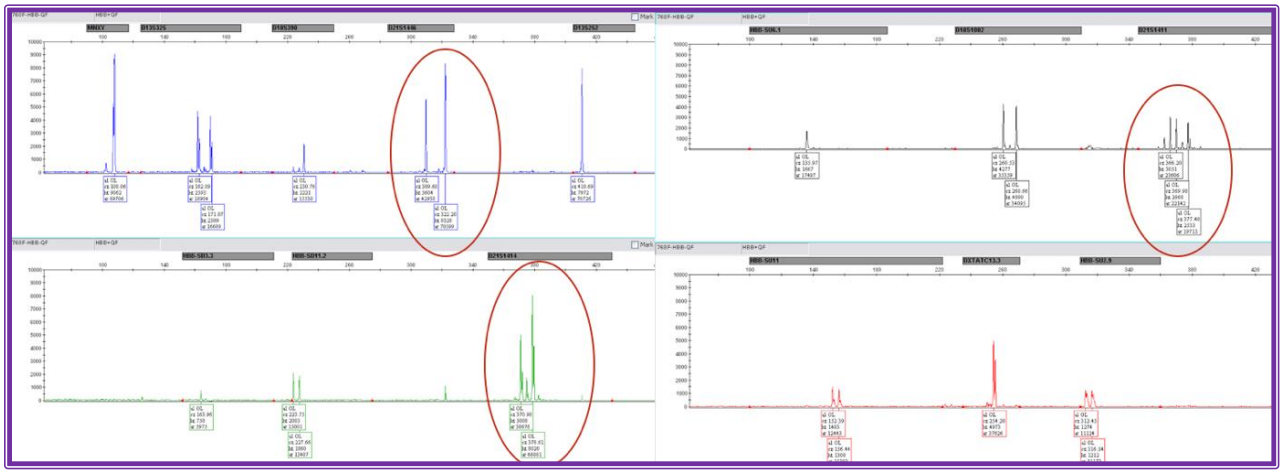
به طور مثال در شکل زیر هاپلوتایپ جنین با مادر یکی است. البته در هر تشخیصی که مادر و پدر واجد هاپلوتایپ مشترک باشند حالت فوق در ۵۰ درصد موارد دیده می شود. در این موارد باید ثابت کرد که نمونه جنین واقعاً به جنین تعلق دارد و به دلیل آلودگی با نمونه مادری نمی باشد. تا اینجا تنها نکته حائز اهمیت این است که با توجه به سایزهای مشترک جنین با پدر و مادر می توان اثبات کرد که نمونه متعلق به این خانواده است و اصالت نمونه تایید می گردد. همچنین اینکه نمونه جنین ناقل است (به شرط اینکه قطعاً متعلق به جنین باشد نه مادر) و نتیجه موتاسیون را تایید می کند. و اطمینان حاصل می گردد که با نمونه AC هم جا به جا نشده است.



شکل شماره ۲۲: نمایش هاپلوتایپ جهت رفع شبه نمونه جنینی از نمونه مادری

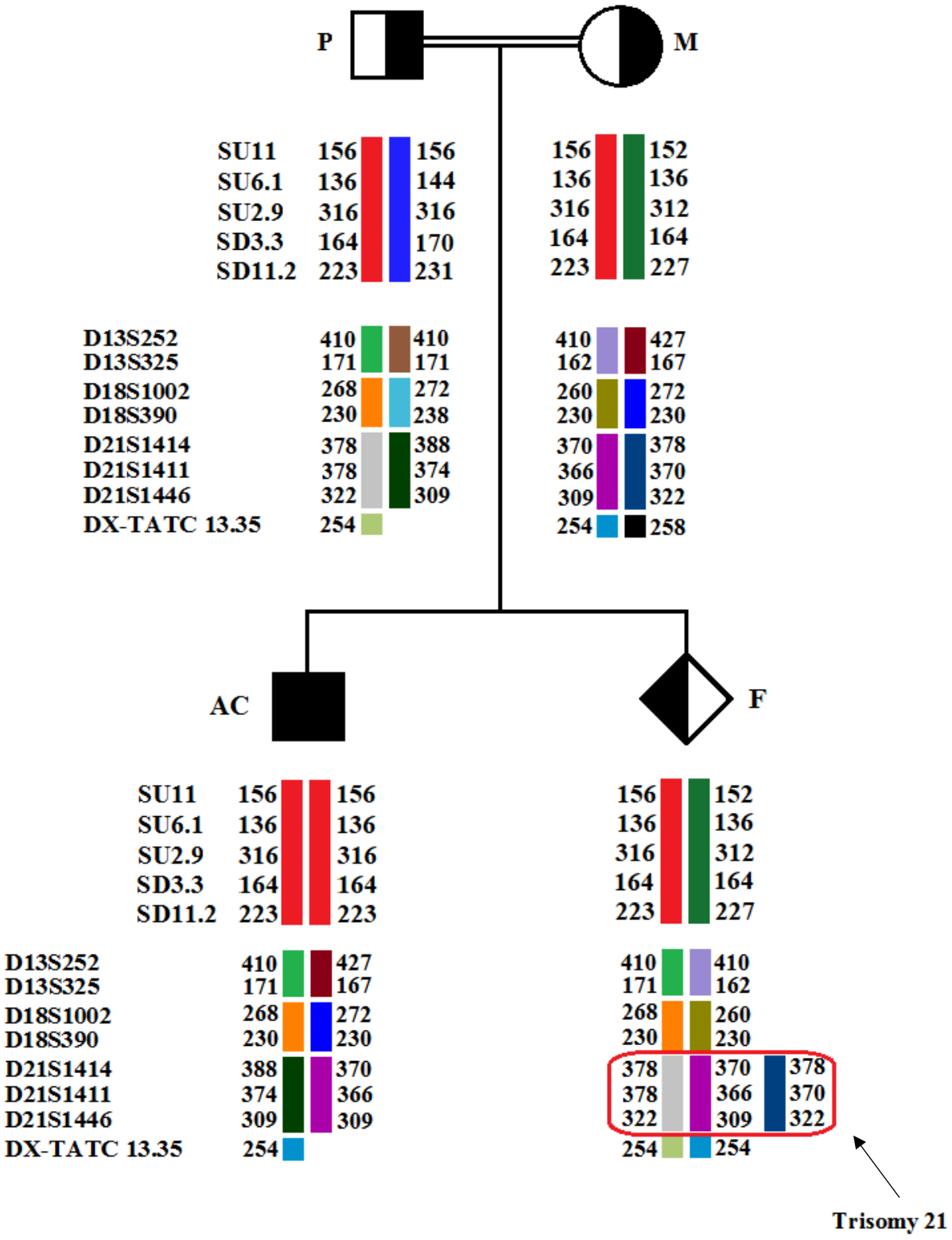
بنابراین جهت اطمینان از عدم آلودگی نمونه جنین با نمونه مادری تنها با مارکرهای مربوط به آنیوپلوئیدی امکان پذیر است. با رسم هاپلوتایپ (شکل زیر) این مارکرها و بررسی کروموزوم ۱۳ نمونه جنین و نمونه مادر، فرضیه آلودگی نمونه جنین به مادر رد می شود. به دلیل اینکه در صورت آلودگی نمونه جنین به مادر، نمونه جنین دارای سه پیک می باشد. همچنین اصالت نمونه جنینی و اینکه جنین به این خانواده تعلق دارد نیز تایید می شود.

با مشاهده اطلاعات بیشتر برای دیگر کروموزوم ها مشخص می شود که جنین متعلق به این پدر می باشد. جنسیت جنین با توجه به تک پیک بودن محل AMXY و وجود مارکرهای هتروزیگوت بر روی کروموزوم X مشخص می گردد که جنسیت جنین مونث می باشد. در عکس مربوط به الکتروفوروگرام یا Result نمونه مشاهد می شود که نمونه جنین برای هر سه محل کروموزوم ۲۱ Triallelic می باشد و البته نتیجه با بررسی کیت AneuQuick kit v3.2 شرکت زیست فناوری کوثر نیز تایید گردید.



شکل شماره ۲۳: نمایش الکتروفروگرام تریزومی ۲۱ نمونه جنینی

عکس فوق تریزومی برای هر سه محل کروموزوم ۲۱ را نشان می دهد. در محل هایی که با رنگ سبز و آبی مشخص هستند فرد تریزومی دی اللیک و در محل مشکی به صورت تری الیلیک می باشد که در هر سه حالت تریزومی مشهود است.



شکل شماره ۲۴: نمایش نهایی هاپلوتایپ تریزومی ۲۱

۵.تشخیص دیزومی تک والدی

از توانایی ها و قابلیت های دیگر سری کیت های SegCheck™ می توان به تشخیص دیزومی تک والدی یا Uniparental disomy (Uniparental heterodisomy or Uniparental isodisomy) و یا موزایسم گنادی اشاره کرد. به طور مثال در یک مورد بیماری فنیل کتونوریا یا PKU (یکی از بیماری ها با توارث اتوزومال مغلوب) مشخص شد که پدر ناقل بیماری و مادر سالم است ولی فرزند آنها مبتلا به این بیماری می باشد. علت ناقل نبودن مادر را به دلیل احتمال Allele Dropout در نظر گرفته ولی با استفاده از کیت PAH SegCheck™ مشخص شد که علت Uniparental isodisomy کروموزوم ۱۲ واجد جهش از پدر به کودک می باشد.

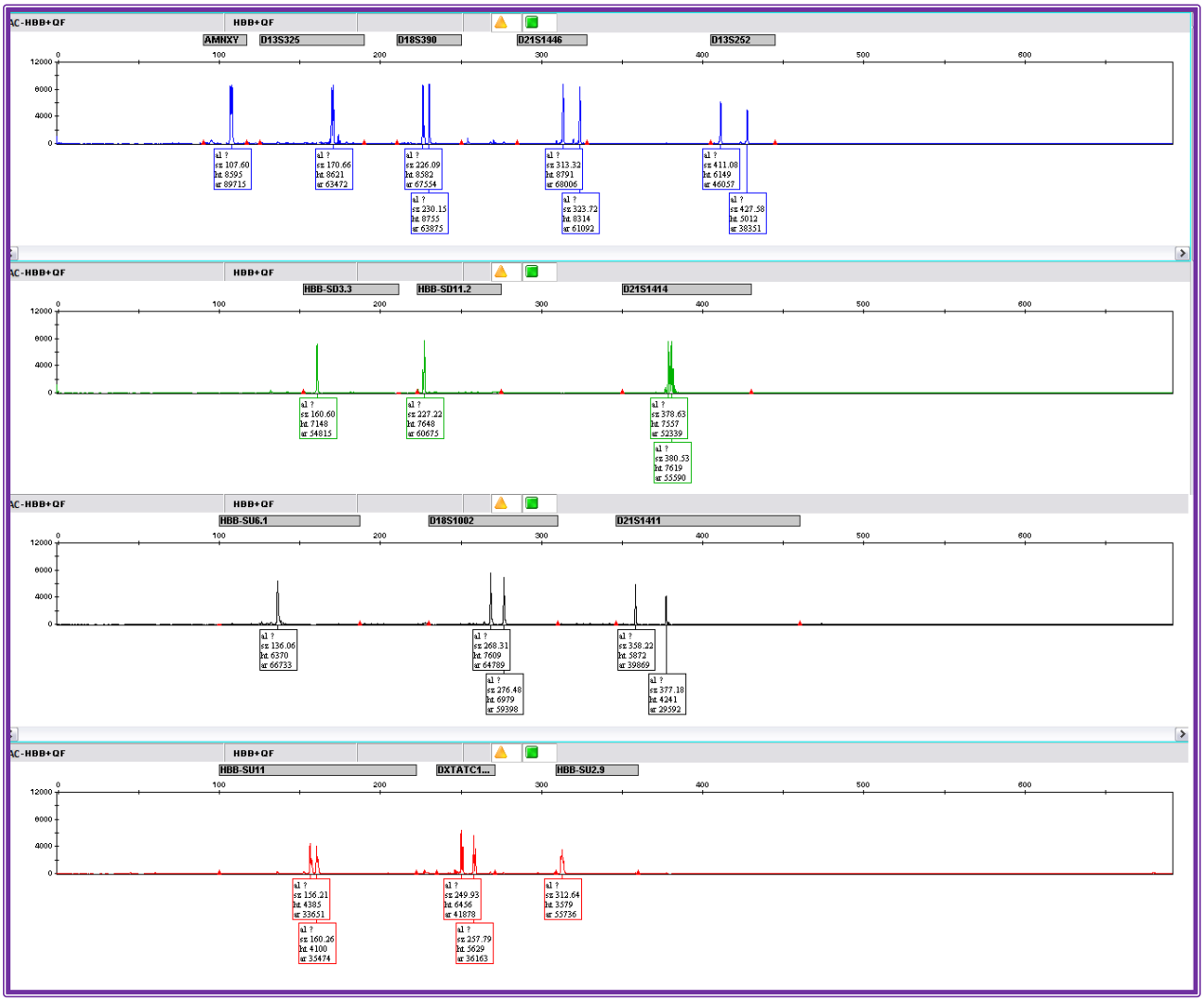
۶.نمونه تفسیر نتایج کیت HBB SegCheck™

۶,۱. محل قرارگیری مارکرهای ژن بتاگلوبین بر روی کروموزوم ۱۱

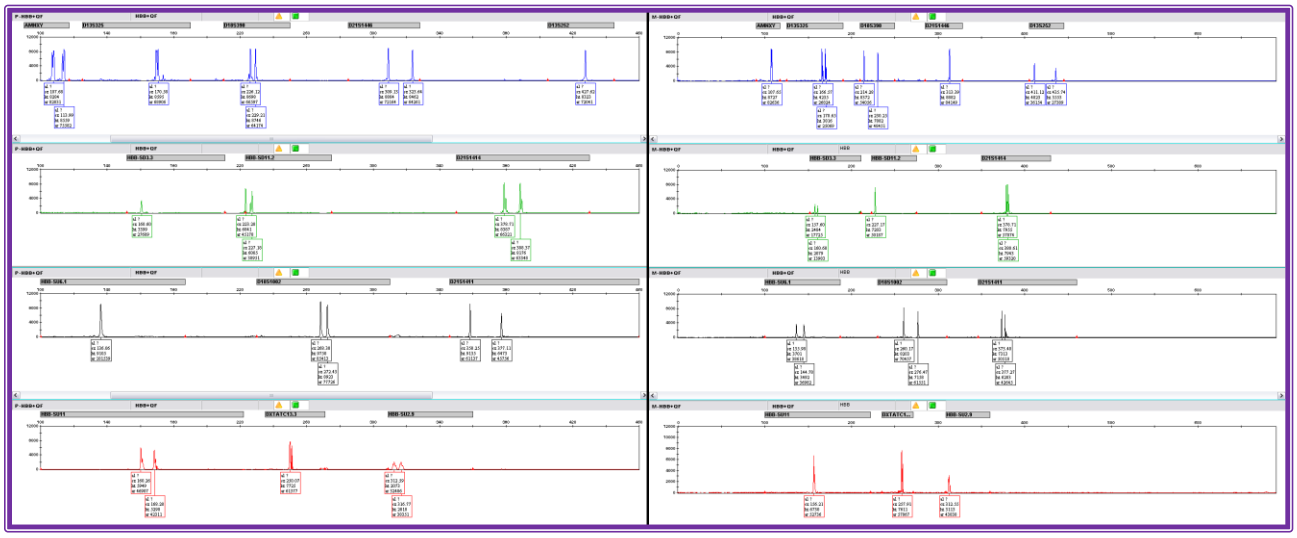
جدول شماره ۱: محل قرارگیری مارکرهای ژن بتاگلوبین بر روی کروموزوم

	مارکر	موقعیت
۱	SU11	Upstream
۲	SU6.1	Upstream
۳	SU2.9	Upstream
۴	SD3.3	Downstream
۵	SD11.2	Downstream

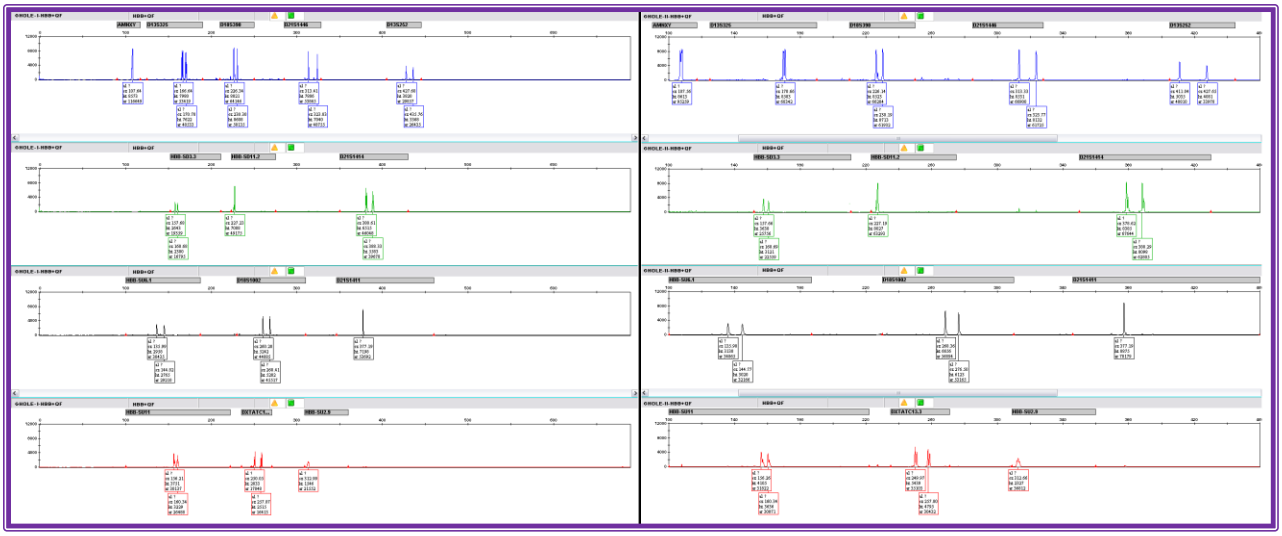
۶,۲. نمونه نتایج حاصل از کیت HBB SegCheck™



شکل شماره ۲۵: نتیجه فرزند مبتلا به بتا-تالاسمی



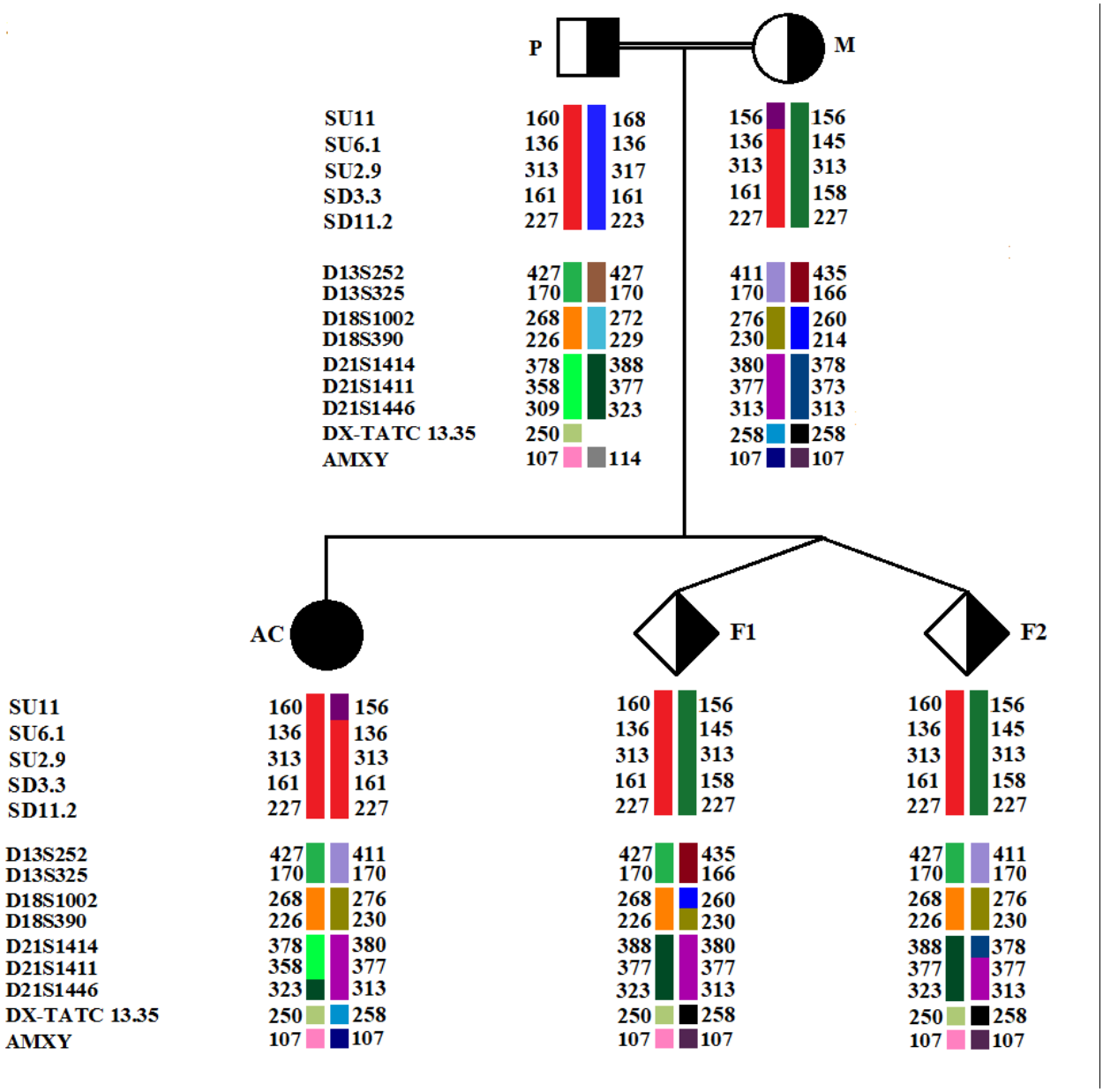
شکل شماره ۲۶: نتیجه پدر و مادر ناقل بتا-تالاسمی



شکل شماره ۲۷: نتیجه جنین ۱ و جنین ۲ ناقل بتا-تالاسمی

۶,۳. رسم هاپلوتایپ

بر اساس نتایج حاصل از الکتروفورز کیت HBB SegCheck™ هاپلوتایپ رسم شده است.



شکل شماره ۲۸: نمایش نهایی هاپلوتایپ کیت HBB SegCheck™

در مثال آورده شده در بالا همانطور که مشاهده می نمایید، در ابتدا بر اساس فرزند مبتلا هاپلوتایپ پدر و مادر رسم شده است. از آنجاییکه انتظار می رود با توجه به دارا بودن جهش مشترک (پدر و مادر نسبت خویشاوندی دارند) یکی از الل های والدین کاملا یکسان باشد. در حالی که هاپلوتایپ موتانت در محل SU11 نمونه مادری دارای سایز متفاوتی (سایز ۱۵۶) نسبت به نمونه پدری می باشد که در واقع این به دلیل پدیده کراسینگ اور رخ داده است و به دلیل آنکه این محل در دورترین قسمت بالادست ژن قرار دارد بنابراین حائز اهمیت نبوده و مشکلی ایجاد نمی نماید(در نتیجه نیازی به بررسی نحوه وراثت آن نمی باشد).

سپس با مشخص شدن الل معیوب هاپلوتایپ هر دو جنین همسان رسم شده است و ناقل بودن آن ها تایید می گردد. همچنین پدیده کراسینگ اور در هر سه نمونه فرزند مبتلا، جنین ۱ و جنین ۲ در محل های D21S1446، D18S1002 و D21S1414 به ترتیب مشاهده می گردد.

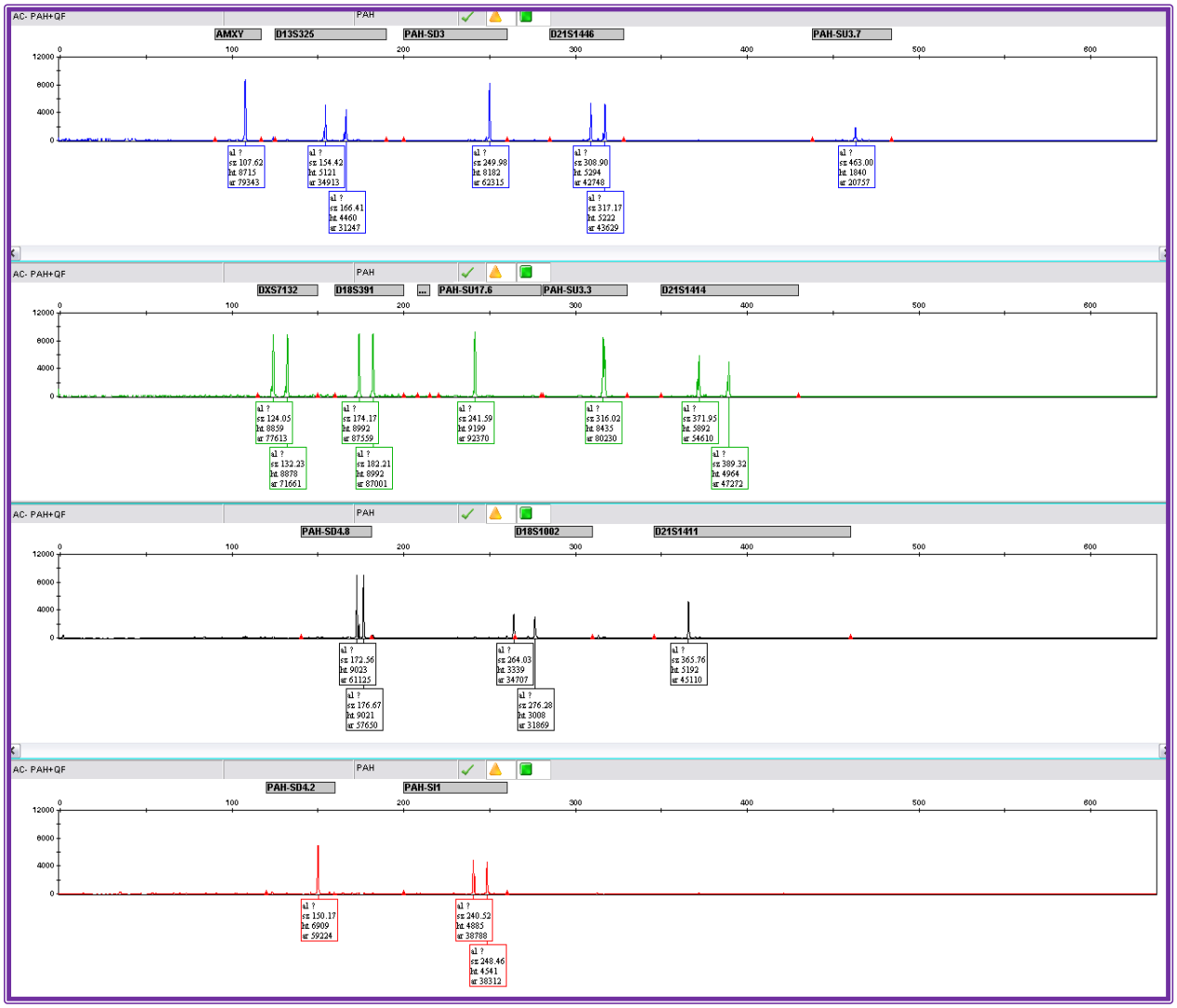
۷. نمونه تفسیر نتایج کیت PAH SegCheck™

۷,۱. محل قرارگیری مارکرهای ژن PAH بر روی کروموزوم ۸

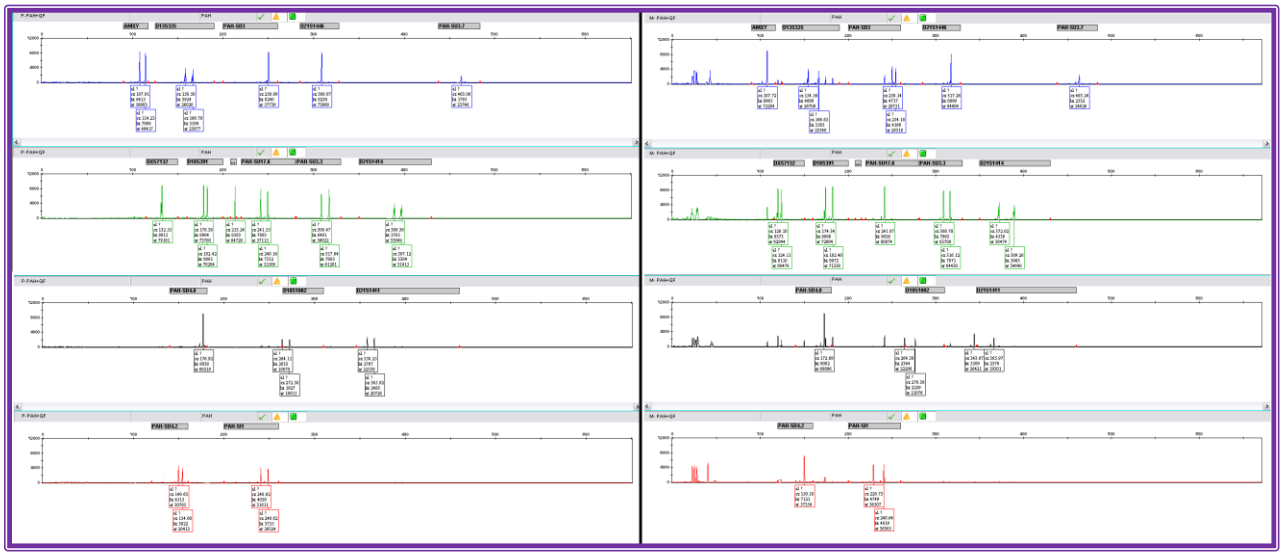
جدول شماره ۲: محل قرارگیری مارکرهای ژن PAH بر روی کروموزوم

	مارکر	موقعیت
۱	SU17.6	Upstream
۲	SU3.7	Upstream
۳	SU3.3	Upstream
۴	SI1	Intergenic
۵	SD3	Downstream
۶	SD4.2	Downstream
۷	SD4.8	Downstream

۷,۲. نمونه نتایج حاصل از کیت PAH SegCheck™



شکل شماره ۲۹: نتیجه فرزند مبتلا به فنیل کتونوریا

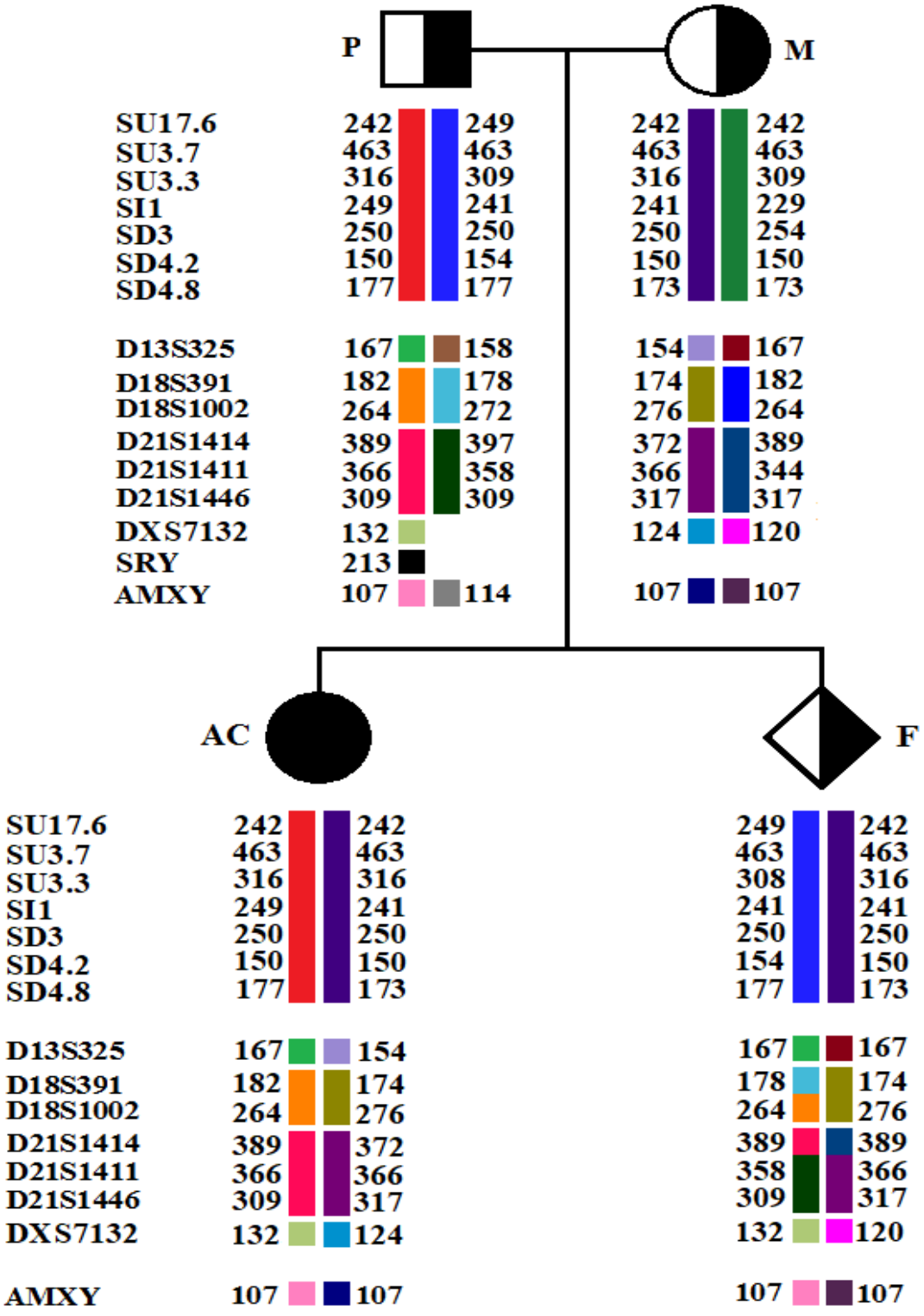


شکل شماره ۳۰: نتیجه پدر و مادر ناقل فنیل کتونوریا

شکل شماره ۳۱: نتیجه جنین مبتلا به فنیل کتونوریا

۷,۳. رسم هاپلوتایپ

بر اساس نتایج حاصل از الکتروفورز کیت PAH SegCheck™ هاپلوتایپ رسم شده است.



شکل شماره ۳۲: نمایش نهایی هاپلوتایپ کیت PAH SegCheck™

در مثال بالا، ابتدا بر اساس فرزند مبتلا (دارای جهش به صورت هتروزیگوت مرکب)، هاپلوتایپ پدر و مادر رسم شده است. سپس براساس آن هاپلوتایپ جنین رسم شده و همانطور که مشاهده می نمایید در محل D18S391 پدیده کراسینگ اور رخ داده است. قابل ذکر است که به دلیل اینکه این خانواده تنها دو فرزند دارند بنابراین نمی توان به قطعیت مشخص کرد که این کراسینگ اور رخ داده متعلق به فرزند مبتلا یا جنین است.

اطلاعات تماس

تهران، خیابان ولیعصر، بالاتر از فاطمی، خیابان مجلسی، پلاک ۴۱، طبقه ۳، شرکت زیست فناوری کوثر

۱۵۹۵۶۴۵۵۱۳

۰۲۱۸۸۹۳۹۱۵۰ - ۸۸۹۳۰۱۴۳-۵

۰۲۱۸۸۹۳۹۱۳۹

kbc@kawsar.ir

kawsar_biotech@yahoo.com