

عنوان گزارش کار: مشاهده چوبک طبل در نوتروفیل
نام استاد: سرکار خانم دکتر نوروزپور
نام اعضای گروه: لیلا عبدالهی _ سونیا تاجیک
تاریخ آزمایش: ۱۴۰۳/۹/۵

ژن دیسترو (Dystrophin) به طور عمده در بافت‌های عضلانی و عصبی بیان می‌شود و نقش مهمی در حفظ ساختار و عملکرد سلول‌های عضلانی دارد.

تغییرات اپی ژنتیکی

تغییرات روی ژن رخ می‌دهد بدون اینکه تغییر در توالی نوکلئوتید ایجاد می‌شود. روی بیان ژن اثر گذارد این تغییرات اپی ژنتیکی علاوه بر اینکه الگوی بیان ژن‌ها را تنظیم می‌کند باعث تشکیل جسم بار یا

varbady در پستانداران می‌شود با تشکیل بار روی یکی از کروموزوم X در پستانداران غیر فعال می‌شود و این امر باعث دوزی بیان بیان ژن‌ها در بین جنس‌های نر و ماده می‌شود در طی تشکیل جسم بار کروموزوم به حالت کروماتین در می‌آید چون در جنس ماده دوتا کروموزوم X است ولی در نرها یک کروموزوم X وجود دارد بنابراین در ماده‌ها از ژن‌هایی که روی

کروموزوم X هستند.

دو سری وجود دارد اگر قرار باشد که هر دو ژن بیان شوند میزان بیان ژن هایی که روی کروموزوم X در ماده دو برابر نرهایی می شود یک کروموزوم X دارند اما با تشکیل بار هتروکروماتین شدن یکی از کروموزوم های X میزان بیان ژن های روی کروموزوم X در نر و ماده مشابه می شود به این فرایند جبران دوزی گفته می شود

ژن **Xist** (X-inactive specific transcript) نقش کلیدی در فرایند غیرفعال سازی کروموزوم X (XCI) ایفا می کند. این فرایند به ویژه در پستانداران ماده که دارای دو کروموزوم X هستند، برای متعادل کردن بیان ژن ها بین جنس های نر و ماده ضروری است.

عملکرد ژن Xist:

1. تولید RNA غیرکد کننده: ژن Xist یک RNA غیرکد کننده طولانی تولید می کند که به طور خاص به کروموزوم X که باید غیرفعال شود، متصل می شود.

2. پوشش کروموزوم X: RNA تولید شده توسط Xist

به طور کامل بر روی کروموزوم X غیرفعال شده پوشش می‌دهد و باعث تغییرات ساختاری و شیمیایی در آن می‌شود.

3. تغییرات اپی‌ژنتیکی: اتصال RNA Xist به کروموزوم X موجب ایجاد تغییرات اپی‌ژنتیکی می‌شود که منجر به متراکم شدن کروموزوم و غیرفعال شدن آن می‌گردد. این تغییرات شامل متیل‌دار شدن DNA و تغییرات در هیستون‌ها هستند.

4. تثبیت غیرفعال‌سازی: پس از اینکه کروموزوم X به طور کامل غیرفعال شد، این وضعیت تثبیت می‌شود و در طول تقسیم سلولی نیز حفظ می‌شود، به طوری که هر دو دختر سلول نیز کروموزوم X غیرفعال را حفظ می‌کنند.

نتیجه‌گیری:

ژن Xist به عنوان یک عنصر کلیدی در فرایند غیرفعال‌سازی کروموزوم X عمل می‌کند و نقش مهمی در تنظیم بیان ژن‌ها و حفظ تعادل ژنتیکی در

پستانداران ماده دارد. این فرایند نه تنها برای توسعه صحیح سلول‌ها ضروری است بلکه در جلوگیری از بروز اختلالات ژنتیکی نیز مؤثر است.

مراحل غیرفعال شدن کروموزوم X در طول دوره ی جنینی :

در طول اولین مراحل تقسیم زیگوت ماده ، ژن XIST روی کروموزوم X پدری طوری بیان می شود که بیش تر ژن های وابسته به X آن خاموش اند . تا زمانی که بلاستوسیت تشکیل نشده ، توده ی کروموزوم X پدری در تروفوبلاست خاموش است . اما در توده ی سلول های داخلی (ICM) رونویسی ژن XIST در کروموزوم X پدری متوقف شده و باعث می شود تا صدها ژن دیگر روی کروموزوم بیان شوند .

خاموش شدن ژن XIST در اثر متیلاسیون توالی این ژن صورت می گیرد . همچنین تغییرات هیستونی مانند متیلاسیون هیستون H3 ، یوبی کیتیناسیون هیستون H2 و همچنین تغییرات DNA از طریق متیلاسیون

جایگاه های CpG، از جمله تغییراتی هستند که به بیان ژن ها روی کروموزوم X کمک کرده و باعث غیرفعال شدن کروموزوم و به هم فشرده شدن آن می شود و بار بادی را ایجاد می کند. هم زمان که تکامل رویانی در حال انجام است، غیر فعال شدن X دوباره آغاز می شود. اما این بار، این پدیده کاملاً تصادفی صورت می گیرد.

در عمل نمی توان پیش بینی کرد که کدام یک از کروموزوم X مادری یا پدری در سلول به جسم بار تبدیل می شود. البته همه ی ژن های کروموزوم X غیر فعال نمی شوند. در واقع 18 ژن فعال روی کروموزوم X غیر فعال افراد مؤنث وجود دارد که دقیقاً معادل آن ها نیز در کروموزوم Y در افراد مذکر قرار دارد. این تشابه ژنی باعث می شود که افراد مذکر و مؤنث در یک شرایط تعادلی قرار بگیرند.

جسم بار در سلول های مردان وجود ندارد و یا تعداد آن از 3-4% تجاوز نمی کند. از این رو جنس مرد را کروماتین منفی می گویند. قرینه ی جسم بار در مردان جسم F یا جسم Y نام دارد. در صورتی که مردی

بیش از یک کروموزوم Y داشته باشد ، کروموزوم های Y اضافی جسم F را تشکیل می دهند .

در این آزمایش با استفاده از سلول های نوتروفیل خون و تهیه ی گستره ی میکروسکوپی از خون به بررسی و مشاهده ی جسم بار در جسم ماده و نر پرداختیم

ابزار وسایل مورد نیاز
دو عدد لام / لانت / الکل /

روش کار

ابتدا لام تمیزی را اختیار کرده و نوک انگشت چند فرد مؤنث و مذکر را با الکل استریل می کنیم . سپس با لانت ضربه ای به قسمت استریل شده ی انگشت می زنیم تا خون ظاهر شود . یک قطره خون را بروی لام منتقل می کنیم . با لبه ی لامل تمیزی ، قطره ی خون را از یک انتهای لام به سمت انتهای دیگر می کشیم تا یک لایه ی نازک خون سطح لام را بپوشاند و حتی الامکان گسترشی به شکل شعله ی شمع ایجاد شود . سپس لام را در هوای آزمایشگاه خشک می کنیم .

در مرحله ی بعد گسترش خون را به مدت 10 دقیقه درون اتانول 96 % می گذاریم . بعد از بیرون آوردن لام ، آن را در هوای آزمایشگاه می گذاریم تا الکل کاملاً بپرد . در غیر این صورت لام در مرحله ی بعدی رنگ نمی گیرد . در مرحله ی آخر لام را درون رنگ گیمسا 15 - 10 % منتقل کرده و می گذاریم 20 دقیقه در آن بماند .

در نهایت لام را خشک کرده و زیر میکروسکوپ مشاهده می کنیم .

نتایج

با مشاهده ی میکروسکوپی گسترش خون ، تصاویر زیر قابل مشاهده بود:

تصویری از نوتروفیل با هسته ی چند لوبی پیوسته که جسم بار به صورت یک میله از آن به سمت بیرون برآمدگی پیدا کرده است .

با توجه به مشاهدات فوق ، نوتروفیل ها نوعی از سلول های خونی اند که هسته ای چند لوبه)

2-5 لوب (دارند که نوتروفیل های بالغ هسته ای با 5 لوب و سایر نوتروفیل ها معمولا هسته ی

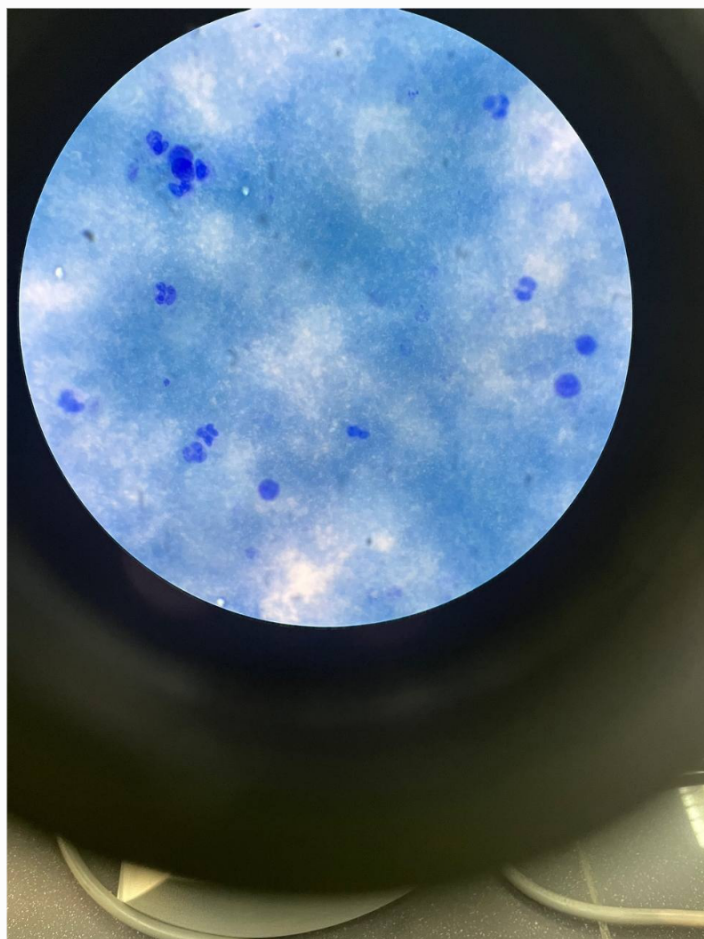
3 لوبه دارند که این لوب ها توسط الیاف ظریفی از جنس مواد هسته ای به یکدیگر مربوط هستند . نوتروفیل ها 65% کل گلبول های سفید خون را تشکیل می دهند . در نوتروفیل های افراد مؤنث ، زائده ای مانند چوبک طبل به طول 1 میکرومتر به یکی از لوب های هسته چسبیده است که آن را جسم کروماتینی جنسی یا جسم بار می نامند .

جسم بار همان کروموزوم X غیر فعال موجود در سلول های سوماتیک افراد مؤنث می باشد . که در 40 تا 60% نوتروفیل ها نیز دیده می شود . باربادی ها در واقع بروز مورفولوژیکی کروموزوم های X غیر فعال اند و ممکن است در همه ی سلول های نوتروفیل این ویژگی مورفولوژیکی دیده نشود . ولی این ادعا دلیل بر عدم وجود جسم بار در سلول نمی باشد .

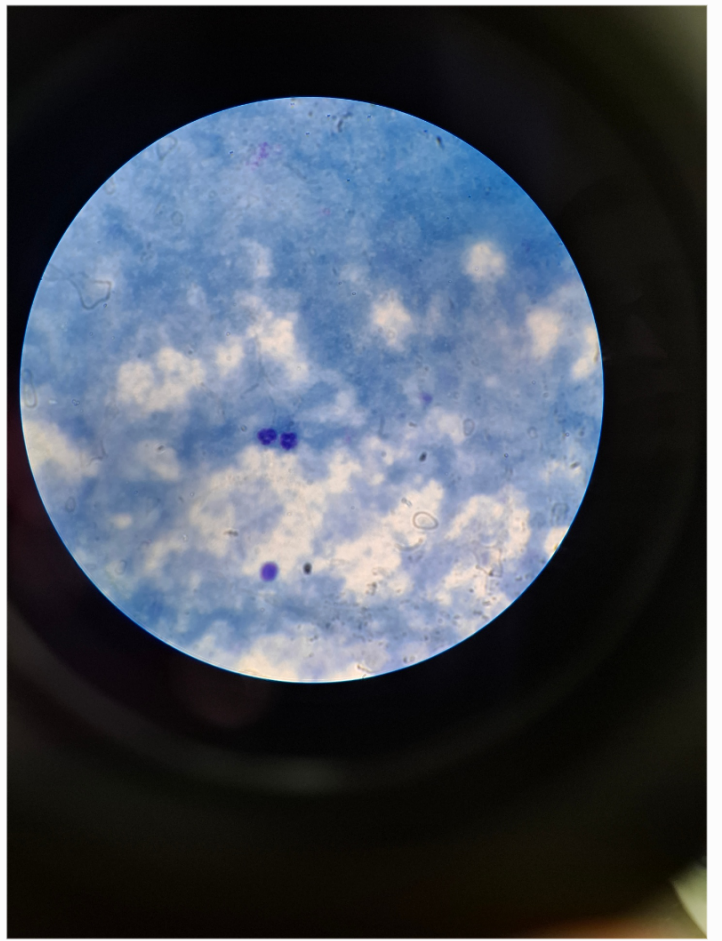
تشخیص جسم بار در یک سلول نوتروفیل بسیار حائز اهمیت است زیرا وجود یا عدم وجود آن در تشخیص

و گزارش بیماری های خاص به عنوان یک شاخص عمل می کند . در واقع اگر جسم بار در فرد مذکر مشاهده شود یا تعداد آن در سلول فرد مؤنث از یک عدد کمتر یا بیش تر باشد می تواند عامل بیمار بودن آن فرد باشد .

افرادی که تعداد کروموزوم های X آن ها غیر عادی باشد به افراد آناپلوئیدی (Aneuploidy) موسوم اند . این افراد دچار ناهنجاری هایی می باشند که همانند ناهنجاری های آناپلوئیدی دیگر چندان شدید نیست



مشاهده نوتروفیل در جنس مذکر دارای چوبک طبل



مشاهده نوتروفیل در مؤنت فاقد چوبک طبل