Real Time PCR

Real time PCR یکی از تکنیک های مولکولی است که در زمینه تشخیص آزمایشگاهی تحولات شگرفی ایجاد نموده است. این روش تلفیقی از تکنیک PCR و تکنیک کاربرد پروب های فلورسنس است که هر دو در یک واکنش جمع گردیده اند. به طور کلی در این روش نوین، واکنش PCR و شناسایی قطعه تکثیر یافته در یک ساعت یا کمتر انجام می شود که این امر باعث افزایش سرعت و صرفه جویی در زمان نسبت به سیستم های رایج PCR گردیده است. مزیت دیگر این تکنیک نسبت به PCR این است که، مراحل Post PCR که شامل ژل الکتروفورز، رنگ آمیزی با ماده سرطانزای اتیدیوم بروماید و تفسیر ژل با نور ماورای بنفش می باشد، حذف گردیده و آلودگی محیط آزمایشگاه به اتیدیوم بروماید و قطعات DNA تکثیر یافته به روش PCR نیز به حداقل می رسد. کار با تجهیزات و دستگاه های بکار گرفته شده در انجام روش real-time PCR به طور قابل ملاحظه ای نسبت به PCR ساده تر بوده و مجموعه مزایایی نظیر ترکیب حساسیت و ویژگی بالا، خطر آلودگی پایین، ساده تر بودن کارکرد و سرعت بالا، باعث شده است تا فناوری real-time PCR جذاب تر از روش های رایج بر پایه کشت یا تست های ایمونولوژیکی در آزمایشگاه های میکروبیولوژی بالینی برای تشخیص عوامل بیماریزا گردد.

آدرس : مشهد ، بین خیابان پاستور و قائم ، جنب ورودی مترو ، ساختمان ۱۱۹ ، آزمایشگاه تخصصی نوید
تلفن : ۳۸۴۰۱۰۱۴ و ۳۸۴۴۵۷۵۷-۰۵۱

کاربردهای ***Real-Time PCR***:

۱) **بررسی بیان ژنها:** کاربرد وسیع آن در مورد بیان سایتوکاین های مختلف بخصوص در مورد بیماری های خود ایمنی و پاتوژنهایی نظیر لیشمانیا می باشد.

۲) **Drug Therapy Efficacy**: برای این منظور یک ژن خاص (البته این ژن عامل بیماری نیست و بعنوان مارکر تلقی می شود) درنظر گرفته شده و اثر داروی موردنظر بر تغییرات بیان این ژن بررسی می شود . تغییر بیان این ژن نشان دهنده وضعیت درمانی می باشد.

۳) **بررسی میزان بیان آنزیم های کبدی برای متابولیزه کردن داروی خاص:** بطور کلی اثر داروها بر روی آنزیم های کبدی به دو صورت است. گروهی بیان آنزیمهای تجزیه کننده داروها را افزایش داده و گروه دیگر باعث مهاراین آنزیمها می شوند. برای داروهای دسته اول مقدار دارو درخون کاهش می یابد و در نتیجه به دوز دارویی بالاتری نیاز است ولی دردسته دوم دارو تجزیه نشده و در نتیجه مقدار کمتری دارو موردنیاز است.

۴) **کابرد در جهت شناسایی و تعیین Load عوامل عفونی** : حساسیت به مراتب بالای این تکنیک امکان تعیین میزان دقیق یک پاتوژن را مهیا کرده است. تعیین میزان دقیق عواملی مثل HIVوHBV در درمان افراد آلوده دارای ارزش می باشد.

۵) **در سیستم های کنترل غذا و دارو برای Food Safety**: نمونه موردنظر از نظر میزان آلودگی میکروبی با نمونه کنترل مقایسه می شود.

۶) **بررسی سرطان های خونی و تعیین خطر بازگشت آن:** حساسیت این روش ، تشخیص ۱ سلول سرطانی از میان $۱۰^{۵}$ سلول سالم است که تشخیص قبل، درحین و بعد از درمان قابل انجام است.

آدرس : مشهد ، بین خیابان پاستور و قائم ، جنب ورودی مترو ، ساختمان ۱۱۹ ، آزمایشگاه تخصصی نوید
تلفن : ۳۸۴۰۱۰۱۴ و ۳۸۴۴۵۷۵۷-۰۵۱

۷)**در تعیین میزان موفقیت پیوند اعضـاء :** هر فرد شاخص های ایمونولوژیک ویژه ای دارد. با بررسی این شاخص ها در فرد دهنده و گیرنده، قبل و بعد از پیوند و مقایسـه آنها باهم میزان موفقیت پیوند مشـخص می شـود. درصـورت موفقیت پیوند باید شاخص های فرد دهنده درعضو پیوندی پس از پیوند بیشتر باشد.

۸) **ژن درمانی:** در این حـالت برای تعیین دوز وکتورحاوی ژن مورد نظر در ژن درمانی یا Copy Number آن و ارزیابی اینکه وکتور وارد چه سلولها یا بافتی شده است از Real -Time PCR استفاده می شود.

۹) **ژنوتایپینگ :** متداولترین کاربرد آن تشخیص قبل از تولد، تشخیص قبل از لانه گزینی، تعیین زیرمجموعه (subtype) ویروسـها و باکتریها می باشـد. در ژنوتایپینگ از مدل اختصـاصـی (specific format) استفاده می شود که در صفحات بعدی توضیح داده خواهد شد.

۱۰) **تشخیص ناقلین ناهنجاری های کروموزومی** مثل سندرم داون و دوشن همراه با تعیین دوز ژنی(Gene Dosage)

در این حالت ژن ها به گونه ای انتخاب می شـوند که مقدار آنها متناسـب با کاهش یا افزایش کروموزوم تغییر یابد. معمولا" از ژنهایی استفاده می شود که در هر کرموزوم یک کپی از آن موجود باشد(single copy) .

در صورت تغییر تعداد کرموزومها تعداد کپی این ژنها نیزتغییر می کند.

۱۱) **Loss of Hetrozigosity**: درصفتی که رابطه غالب ومغلوبی برقرار باشد فرد هتروزیگوت به دلیل داشتن آلل غالب، سالم است. درصورت حذف یا جهش در آلل غالب ،بیماری در فرد بروز می کند. به این حالت LOH گفته می شود. با استفاده از Real-time PCR و از طریق تعیین تعداد نسخه ژن مورد نظر می توان به وجود یا عدم وجوداین نقص پی برد.

۱۲) **تشـخیص پلی مورفیسم ناشی از جهش تک نوکلئوتید :** (Single nucleotide Polymorphism)به جهش های نقطه ای در منطقه ای از ژن گفته می شـود که بهترین مارکرهای اختصـاصـی ژنتیکی در فرد اسـت که دارای پلی مورفیسم با فراوانی حداقل ۱٪ است.