

# Synthesis a New Viral Base Vector Carrying Single Guide RNA (sgRNA) and Green Florescent Protein (GFP)

M. Dara<sup>1</sup>, M. Dianatpour<sup>2,3\*</sup> and V. Razban<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Molecular Medicine, School of Advanced Medical Science and Technology, Shiraz University of Medical Science, Shiraz, Islamic Republic of Iran

<sup>2</sup>Department of Medical Genetics, School of Medicine, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Islamic Republic of Iran

<sup>3</sup>Stem Cell and Transgenic Technology Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Islamic Republic of Iran

\*Email: dianatpour@sums.ac.ir

## ساخت یک وکتور ویروسی جدید حامل sgRNA ( RNA راهنمایی کننده تک رشته‌ای) و GFP ( پروتئین فلورسنت سبز رنگ)

مهین تاج دارا<sup>۱</sup>، مهدی دیانت پور<sup>۲,۳\*</sup>، وحید رزبان<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup>گروه پزشکی مولکولی، دانشکده علوم و فناوری های نوین، دانشگاه علوم پزشکی، شیراز، جمهوری اسلامی ایران

<sup>۲</sup>گروه ژنتیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی، شیراز، جمهوری اسلامی ایران

<sup>۳</sup>مرکز سلولهای بنیادی و تکنولوژی ترانسژنیک، دانشگاه علوم پزشکی، شیراز، جمهوری اسلامی ایران

### چکیده

امروزه سیستم ویرایش ژنی CRISPR/Cas9 به عنوان یک ابزار قدرتمند در مطالعات درون‌تنی و برون‌تنی شناخته شده است. برای انتقال سیستم CRISPR/Cas9 به درون بافت‌ها و سلول‌های مختلف، ناقل‌های متعددی وجود دارد که یکی از این ناقل‌ها ویروس‌های وابسته به ادنو ویروس‌ها یا AAV می‌باشند. به دلیل محدودیتی که این ویروس در بسته‌بندی ژنی دارد، وکتورهای حمل‌کننده سیستم CRISPR/Cas9 که می‌خواهد در قالب ویروس AAV به درون سلول یا بافت هدف حمل شوند، نمی‌توانند ژن‌های گزارشگری همچون Gfp را که امکان ردیابی آسان سلول‌های حاوی ویروس را فراهم می‌کنند، با خود داشته باشند. هدف این مطالعه، تغییر دادن و ساختن یه وکتور ویروسی برای سیستم CRISPR/Cas9 است که بتواند sgRNA یا RNA ی راهنمایی کننده تک رشته ایی را به همراه پروتئین فلورسنت سبز رنگ را حمل کند و در AAV بسته بندی شود. در این مطالعه وکتور px602 با آنزیم‌های NcoI و HindIII مورد هضم آنزیمی قرار گرفت. ژن Gfp طی فرایند PCR از وکتور px458 تکثیر و جدا شد و در نهایت به وکتور بریده شده (با دو آنزیم قبلی) طی فرایند Ligation به هم متصل شدند. بعد ترانسفورم کردن وکتور جدید به درون سلول‌های باکتری و انجام colony PCR بر روی کلنی‌های سفید رنگ، این وکتور جداسازی شد و برای تایید نهایی به درون سلول‌های HEK-293 انتقال یافت. بیان ژن Gfp در این سلول های نشان‌گر، قرار گرفتن صحیح این ژن در مکان طراحی شده، طبق طراحی ما بود. در این مطالعه ما به تغییر دادن و ساخت یک وکتور ویروسی جدید برای سیستم CRISPR/Cas9 که حامل RNA راهنمایی کننده تک رشته‌ایی و GFP (پروتئین فلورسنت سبز رنگ) است و می‌تواند در AAV بسته‌بندی شود، امکان ردیابی آسان سلول‌های حاوی ویروس AAV را فراهم کردیم.

واژه‌های کلیدی: CRISPR/Cas9؛ AAV؛ ویرایش ژنی

# Chemotaxonomy, Morphology and Chemo Diversity of *Scutellaria* (Lamiaceae) Species in Zagros, Iran

F. Jafari Dehkordi and N. Kharazian\*

Department of Botany, Faculty of Sciences, Shahrekord University, Shahrekord, Islamic Republic of Iran

\* Email: kharazian\_1@yahoo.com

## کمو تاکسونومی، تنوع ریخت‌شناسی و شیمیایی گونه‌های *Scutellaria* (Lamiaceae) در زاگرس، ایران

فرزانه جعفری دهکردی و نواز خرازیان\*

گروه زیست‌شناسی گیاهی، دانشکده علوم، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، جمهوری اسلامی ایران

### چکیده

این مطالعه به ارزیابی تغییرات ریخت‌شناسی و فلاونوئیدی، و کمو تاکسونومی هفت گونه از جنس *Scutellaria* L. می‌پردازد. حدود گونه‌ها در جنس *Scutellaria* با عوامل مختلفی نظیر دورگه‌گیری و چندشکلی مخدوش شده است. بدین منظور، ۳۹ جمعیت از گونه‌های جنس *Scutellaria* از رویشگاه‌های متفاوت ناحیه زاگرس، ایران جمع‌آوری شد. در مجموع، ۱۵ صفت کمی و ۲۰ صفت کیفی ریخت‌شناسی مورد مطالعه قرار گرفتند. فلاونوئیدهای برگ با استفاده از محلول متانول استخراج شد. کلاس‌های فلاونوئیدی با استفاده از کروماتوگرافی لایه نازک، کروماتوگرافی ستونی، طیف اشعه ماوراء بنفش و کروماتوگرافی مایع-طیف‌سنجی جرمی مورد بررسی قرار گرفت. به منظور آشکار کردن موقعیت تاکسونومی گونه‌های جنس *Scutellaria* تحلیل‌های آماری نظیر تحلیل خوشه‌ای، درخت عدم تشابه و روش اوردیناسیون به کار گرفته شد. نتیجه حاصل از این تحقیق ۵ کلاس فلاونوئیدی را آشکار کرد که شامل ایزوفلاون، فلاون، فلاونون، فلاونول و چلکون است. بر پایه تحلیل خوشه‌ای با استفاده از داده‌های فلاونوئیدی و ریخت‌شناسی، اعضای بخش *Scutellaria* از اعضای بخش *Lupulinaria* به درستی مجزا شده‌اند. نتایج حاکی از حضور ارتباط بین *Sc. patonii* و *Sc. multicaulis* است. علاوه بر این، کرک‌هایی نظیر کرک زبر خمیده با قاعده غده‌دار، پشمالو، پتویی و نمدی در برگ و ساقه، دم‌برگ، کاسبرگ، و شکل رأس برگ، و طول گل آذین به عنوان صفات تشخیصی معرفی می‌گردند. بر پایه نتایج حاصل از این تحقیق، نشانگرهای فلاونوئیدی و ریخت‌شناسی موقعیت تاکسونومیک سطوح داخل و بین گونه‌ای در جنس *Scutellaria* را به نمایش می‌گذارند.

واژه‌های کلیدی: فلاونوئید، ایران، Lamiaceae، ریخت‌شناسی، *Scutellaria*

# Phenol Based RNA Isolation is the Preferred Procedure for Study of Gene Expression in Human Urinary Sediment

H. Yazdani<sup>1</sup>, Sh. Kalantari<sup>2</sup>, M. Nafar<sup>2</sup>, M. Naji<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Biology, Faculty of Basic Science, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Islamic Republic of Iran

<sup>2</sup>Chronic Kidney Disease Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Islamic Republic of Iran

<sup>3</sup>Urology and Nephrology Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Islamic Republic of Iran

\* Email: naji\_m\_f@yahoo.com

## استخراج RNA بر پایه فنل روشی ارجح در مطالعه بیان ژن در سدیمنت ادراری

هوتن یزدانی<sup>۱</sup>، شیوا کلانتری<sup>۲</sup>، محسن نفر<sup>۲</sup> و محمدناجی<sup>۳\*</sup>

<sup>۱</sup>گروه بیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، شعبه علوم و تحقیقات، تهران، جمهوری اسلامی ایران

<sup>۲</sup>مرکز تحقیقات بیماری های کلیوی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، جمهوری اسلامی ایران

<sup>۳</sup>مرکز تحقیقات نفرولوژی و اورولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، جمهوری اسلامی ایران

### چکیده

ارزیابی بیان ژن‌ها در سدیمنت ادراری به عنوان یک روش غیر تهاجمی امیدبخش در شناسایی بیومارکرهای بیماری‌های کلیوی در نظر گرفته می‌شود. با این وجود، استخراج RNA از این منبع با ارزش بیومارکری به واسطه محتوای سلولی پایین و سایر عامل‌های تأثیرگذار در استخراج RNA بسیار چالش برانگیز است. از آن رو، در این مطالعه چهار روش استخراج RNA را از نمونه‌های سدیمنت ادرار با هم مقایسه شد. TRIzol با پروتکل پایه (روش ۱)، روش تغییر یافته TRIzol (روش ۲)، یک روش استخراج بر پایه ستون (روش ۳) و ترکیب روش‌های ۱ و ۳ (روش ۴) برای استخراج RNA از نمونه‌های یکسان از سدیمنت ادراری پنج فرد سالم به کار گرفته شدند. غلظت و خلوص RNA استخراج شده، مورد ارزیابی قرار گرفت و سنتز cDNA برای هر کدام از روش‌ها انجام شد. سطح بیان ژن GAPDH و miR-21 با استفاده از RT-PCR کمی، بررسی شد. بیشترین میزان RNA در روش‌های ۱ و ۲ مشاهده شد. خلوص RNA در تمام روش‌ها با هم تفاوتی نداشت. نتایج RT-PCR کمی، نشان داد که کمترین میزان Ct (که معادل بیشترین میزان بیان است) در روش ۱ قابل مشاهده است. در روش ۲ با وجود غلظت بالای RNA اما کاهش مقدار Ct می‌تواند نشانه‌ی تجزیه RNA استخراج شده باشد. پروتکل‌های بر پایه ستون (روش ۳ و ۴) مقدار RNA قابل توجهی نداشتند. استخراج با استفاده از TRIzol به عنوان یک روش بر پایه فنل، مناسبترین و قابل اعتمادترین روش برای استخراج RNA از سلول‌های سدیمنت ادراری است.

واژه‌های کلیدی: استخراج RNA؛ سدیمنت ادراری؛ RT-PCR کمی؛ میکرو RNA

# Electropolymerization of Glycine at Carbon Paste Electrode and its Application for the Determination of Methyl Orange

C. Raril and J. G. Manjunatha\*

Department of Chemistry, FMKMC College, Madikeri, Mangalore University Constituent College, Karnataka, India

\* Email address: manju1853@gmail.com

## الکتروپلیمر گلیسین در الکتروُد خمیر کربن و کاربرد آن در سنجش متیل اورانژ

س. راریل و ژ.ج. منجوناتا\*

گروه شیمی، دانشکده FMKMC، دانشگاه منگالور، کارناتاکا، هندوستان

### چکیده

الکتروپلیمر گلیسین تغییر شکل یافته خمیر کربن (PGMCPE) برای بررسی رفتار الکتروشیمیایی متیل اورانژ (MO) مورد استفاده قرار گرفت. مورفولوژی این الکتروُد تغییر شکل یافته و الکتروُد معمولی خمیر کربن (BCPE) با روش FESEM شناسایی شدند. الکتروُد تغییر شکل یافته فعالیت الکتروشیمیایی عالی در اکسایش MO از خود نشان داد. با ولتامتری چرخه‌ای (CV) مشخص شد که MO در پتانسیل  $651 \text{ mV}$  اکسید می‌شود. پیک جریان حاصل برای الکتروُد تغییر شکل یافته در گلیسین  $4/2$  مرتبه بیشتر از BCPE است. پارامترهای تاثیرگذار در اکسایش الکتروشیمیایی MO مانند pH، سرعت جاروب (scan) و غلظت مطالعه شدند. آنالیز هم‌زمان (با ایندیگو کارمین) به روش ولتامتری پاس تفاضلی (DPV) نیز آزمایش شد. در شرایط بهینه منحنی کالیبراسیون MO در محدوده  $1.5 \times 10^{-5}$  تا  $1.8 \times 10^{-4}$  مول به دست آمده به نقطه شناسایی  $7.4 \times 10^{-6}$  مول منجر شد.

واژه‌های کلیدی: الکتروُد خمیری کربن؛ گلیسین؛ متیل اورانژ؛ ایندیگو کارمین و ولتامتری چرخه‌ای

# Role of Hydrogen Transfer and Ionic Bonding on RR, SS and RS Medetomidine Conglomerates/Acids Stability: A Theoretical Study

V. Zarei<sup>\*1</sup>, N. Javadi<sup>2</sup>, Z. Ghahramani<sup>3</sup>, H. Fakhraian<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Shiraz, Shiraz, Islamic Republic of Iran

<sup>2</sup> Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Imam Hossein, Tehran, Islamic Republic of Iran

<sup>3</sup> Department of Chemistry, Firouzabad Branch, Islamic Azad University, Islamic Republic of Iran

\* Email: vahidzarei181@gmail.com

## نقش انتقال هیدروژن و پیوند یونی در پایداری (RR)، (SS)، و (RS) کانگلومراتهای مدتومدین / اسید: یک مطالعه نظری

وحید زارعی<sup>۱\*</sup>، نبی جوادی<sup>۲</sup>، زینل قهرمانی<sup>۳</sup>، حسین فخرائیان<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup> گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه شیراز، شیراز، جمهوری اسلامی ایران

<sup>۲</sup> گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه امام حسین (ع)، تهران، جمهوری اسلامی ایران

<sup>۳</sup> گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی، فیروزآباد، جمهوری اسلامی ایران

### چکیده

این مطالعه به (RR)، (SS)، و (RS) مدتومدین (MM) و شامل چندین اسید غیر کایرال پرداخته تا نشان دهد که اسید می‌تواند به تشکیل کانگلومرات به جای مخلوط‌های راسمیک کریستالی با تعیین کمترین انرژی ساختارشان کمک کند. جهت‌گیری مناسب اسیدها در برهم‌کنش با انانتیومرهای (MM) بعد از بهینه‌سازی تعیین شدند. قابل توجه‌ترین برهم‌کنش شامل انتقال هیدروژن از اسید به اتم نیتروژن (N) انانتیومرهای (MM) است، که با تئوری کوانتومی اتم‌ها در مولکول (QTAIM) و اوربیتال طبیعی پیوند (NBO) تایید می‌شوند. به‌علاوه، ماهیت و منبع تغییر این پیوندها با تعیین بارزترین برهم‌کنش دهنده-پذیرنده تعیین شدند. نتایج معلوم کرد برای به‌دست آوردن کانگلومرات‌های (RR) و (SS)، حلال اگزالیک اسید بهترین پایداری را می‌دهد. علاوه بر این، کاربرد حلال پروپانوئیک اسید نباید فراموش شود چون کریستاله کردن (MM) با این حلال خود به خودی نیست. بنابراین اگزالیک اسید، اسید انتخابی برای تشکیل کانگلومرات ترجیحی است.

واژه‌های کلیدی: شیمی کوانتوم؛ کانگلومراتها؛ انتقال هیدروژن؛ مدتومدین؛ پایداری

# Mineralogy, Geochemistry and Raman Spectroscopy of Multi-Genesis Serpentine Polymorphs of Darepahn Ophiolites

B. Bahrambeygi<sup>1</sup>, H. Moeinzadeh<sup>\*1</sup>, S.K. Alavipanah<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Geology, Faculty of Sciences, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Islamic Republic of Iran

<sup>2</sup> Department of Remote sensing and GIS, Faculty of Geography, University of Tehran, Tehran, Islamic Republic of Iran

\*Email: hmoeinzadeh@uk.ac.ir

## مطالعه کانیاپی، ژئوشیمی و طیف نگاری رامان پلی مورف‌های سرپانتین با چند منشاء در افیولیت‌های دره پهن

بهرام بهرام بیگی<sup>۱</sup>، سیدحسام الدین معین زاده<sup>\*۱</sup>، سیدکاظم علوی پناه<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> گروه زمین شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهیدباهنر کرمان، کرمان، جمهوری اسلامی ایران

<sup>۲</sup> گروه سنجش از دور و GIS، دانشکده جغرافیا، دانشگاه تهران، تهران، جمهوری اسلامی ایران

### چکیده

این پژوهش به مطالعه افیولیت‌های کرتاسه پسین منطقه دره پهن واقع در بخش جنوبی کمربند افیولیتی نایین بافت از افیولیت‌های مرکزی آلپ هیمالیا می‌پردازد. مطالعه شیمی سنگ کل از متاپریدوتیت‌های منطقه نشانگر مقادیر پایین سیلیس و مقادیر کم کلسیم، آلومینیوم و تیتانیوم که منعکس‌کننده غالب بودن الیوین در مقابل کلینوپیروکسن در پروتولیت سنگ‌های منطقه است. مقادیر قابل توجه کبالت (۸۵/۶ تا ۱۲۴/۶ ppm) و مقادیر بسیار جزئی اسکاندیم (۴/۳ تا ۱۵/۳ ppm) و استرانسیم (۰/۷ تا ۱۴ ppm) نیز شواهد تایید کننده پروتولیت‌های غنی در الیوین هستند. محاسبه اعداد کاتیونی در واحد فورمول بر اساس نتایج آنالیزهای الکترون میکروپروب بر روی پلیمرف‌های طبقه‌بندی شده سرپانتینی (طبقه‌بندی شده بر اساس الگوی طیف‌های رامان) نشان می‌دهد که جاننشینی تیشرمارک در لیزاردیت‌ها از نوع تتراهدرال است، درحالی‌که این نوع جاننشینی در کریزوتیل‌ها و آنتی‌گوریت‌ها اوکتاهدرال است. نتیجه این تفاوت‌های ژئوشیمیایی منجر به دستیابی به مرزهایی مشخص در نمودارهای ژئوشیمیایی میان  $\text{H}_2\text{O}:\text{MgO}$ ،  $\text{SiO}_2$  و  $\text{Al}_2\text{O}_3$  برای تفکیک پلیمرف‌های سرپانتینی منطقه گردید. پلیمرف‌های لیزاردیتی می‌توانند محصولات ابتدایی یک متاسوماتیسم به وسیله سیالات غنی از آهن باشند. لیزاردیت‌ها حاوی مقادیر بالایی از کاتیون‌های ۳ ظرفیتی (به ویژه  $\text{Fe}^{3+}$ ) و هم‌زمان تعداد اتم‌های سیلیسیوم کمتر از ۴ در واحد فورمولی هستند که منعکس‌کننده جاننشینی تیشرمارک از نوع تتراهدرال است. پلی مرف‌های آنتی‌گوریتی با بافت‌های دگرش یافته و تبلور مجدد همراه با مقادیر بالای کاتیون‌های اوکتائدری و مقادیر پایین محتوای آب مولکولی می‌توانند محصول یک فاز دگرگونی حرارتی باشند. کریزوتیل‌ها دارای مقادیر  $\text{FeO}$  و  $\text{MgO}$  با دو مود در نمودار فراوانی این عناصر می‌باشند که انعکاسی از تشکیل مگنتیت در کریزوتیل‌های زمینه‌ای (تهی از آهن) و جاننشینی تیشرمارک اوکتائدری (Fe به جای Mg) در کریزوتیل‌های رگه‌ای هستند. نتایج این مقاله نشان‌دهنده نحوه تغییرات ترکیبی پلی‌مرف‌های سرپانتینی منطقه دره پهن به عنوان تابعی از اشکال بافتی، موقعیت‌های ساختاری و شرایط ترمودینامیکی تشکیل هر کدام از پلی‌مرف‌ها در تاریخچه تکوین متاپریدوتیت‌های این منطقه می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: دره پهن؛ افیولیت‌های آلپ هیمالیا؛ پلی مرف‌های سرپانتین؛ متاپریدوتیت‌ها، طیف نگاری رامان

# Liu Estimates and Influence Analysis in Regression Models with Stochastic Linear Restrictions and AR (1) Errors

H. Mohammadi and A. R. Rasekh\*

*Department of Statistics, Faculty of Mathematical Sciences and Computer, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Islamic Republic of Iran*  
*\*Email: Rasekh\_a@scu.ac.ir*

## برآورد لیو و مباحث تشخیصی در مدل‌های رگرسیونی با محدودیت‌های خطی تصادفی و خطاهای AR(1)

هدی محمدی و عبدالرحمن راسخ \*

گروه آمار، دانشکده علوم ریاضی و کامپیوتر، دانشگاه شهید چمران، اهواز، جمهوری اسلامی ایران

### چکیده

در مدل‌های رگرسیون خطی با ساختار خطای AR(1)، می‌توان محدودیت‌های خطی تصادفی و یا تعمیم‌هایی از برآوردهای ارباب (از جمله برآورد لیو) را در هنگام مواجهه با هم‌خطی و به‌منظور کاستن مقدار واریانس برآورد شده‌ی ضرایب رگرسیونی به‌کاربرد. در این مقاله ترکیبی از برآورد لیو و برآورد تحت محدودیت خطی تصادفی، برای غلبه بر تأثیر هم‌خطی بر روی ضرایب رگرسیونی موردتوجه قرار گرفته است. به‌علاوه به‌منظور شناسایی مشاهدات مؤثر فرمول‌هایی بر اساس حذف موردی، برای برآوردگر موردنظر ارائه شده است. در پایان با استفاده از مثالی از داده‌های واقعی و شبیه‌سازی کارایی روش‌های پیشنهادی را مورد مطالعه قرار می‌دهیم.

واژه‌های کلیدی: برآوردگر لیو؛ محدودیت خطی تصادفی؛ هم‌خطی؛ خطاهای خودهمبسته؛ مباحث تشخیصی