

مقاله آموزشی - مروری

فناوری ریزآرایه

الهام فخر، نسرين معتمد*، مهران حبیبی رضائی

دانشکده زیست شناسی، پردیس علوم، دانشگاه تهران

چکیده

تکنولوژی ریز آرایه (micro array) امکان بررسی همزمان، بسیاری از فعل و انفعالات زیستی را فراهم میکند و در دو زمینه ژنومیکس (مطالعه مجموعه ژن های موجود زنده) و پروتئومیکس (مطالعه مجموعه پروتئین های موجود زنده) کاربرد های وسیعی دارد. بازده این روش بسیار بالا بوده و در مدت زمان کوتاهی قادر به تحلیل میزان قابل توجهی از اطلاعات میباشد. به منظور پردازش اطلاعات حاصل از ریز آرایه، بیوانفورماتیک می تواند حامی بسیار خوبی برای این تکنولوژی باشد و نظر به پیشرفت های شگرف علم بیوانفورماتیک در دهه های اخیر، می توان چشم انداز خوبی را برای فناوری ریز آرایه انتظار داشت. در انواع ریز آرایه، چه آرایه پروتئین و چه DNA، اساس کار یکسان میباشد. به این ترتیب که یک بستر جامد وجود دارد که بر روی آن لیگاند مورد نظر قرار گرفته است و سپس محلول مورد بررسی بر روی این سطح قرار داده می شود تا بر حسب اتصال لیگاند با مواد مورد نظر، تجزیه و تحلیل نتایج صورت پذیرد.

واژه کلیدی: ریزآرایه

مقدمه

تکنولوژی ریز آرایه که روشی بسیار قدرتمند است، امکان بررسی بیان هزاران ژن بصورت همزمان و شناسایی هزاران فعل و انفعال پروتئینی را فراهم میکند. این تکنولوژی دو زیرمجموعه عمده دارد: ریزآرایه DNA و پروتئین. با استفاده از ریز آرایه DNA امکان

بررسی بیان هزاران ژن به صورت همزمان فراهم می شود. اهداف اینگونه از تحلیل های ژنی عبارتند از: (۱) چگونگی تاثیر بیان هر ژن منفرد بر بیان ژن های دیگر (۲) چگونگی بیان ژن در سلول های سالم و بیمار. به عنوان مثال انواع سرطان، نشانه های مورفولوژیکی مشابهی دارند بنابراین با استفاده از داده های بیان ژن می توان شیوه های تشخیصی مستقیمی را فراهم کرد. از سوی دیگر، آرایه پروتئینی نوعی روش اندازه گیری می باشد که می تواند متخصصان پزشکی را در اندازه گیری و وجود پروتئین ها در نمونه های زیستی، مانند خون، یاری دهد. این روش با توجه به پتانسیل بالای خود، می تواند یکی از ارزشمندترین روش های پروتئومیکس محسوب شود. امروزه به خوبی

* نسرین معتمد، PhD

دانشیار سلولی و مولکولی، دانشکده زیست شناسی،

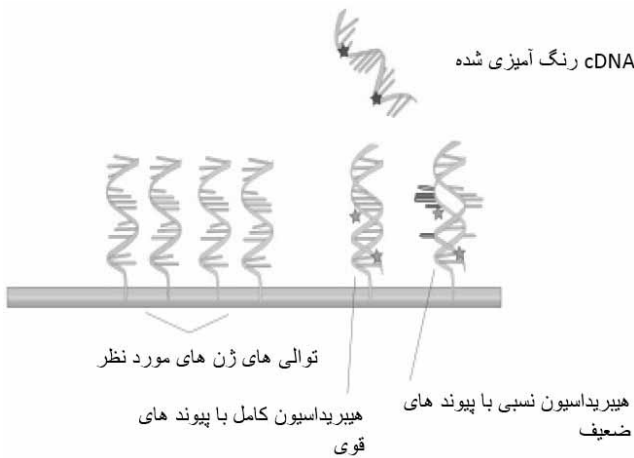
پردیس علوم، دانشگاه تهران

تلفن: ۰۲۱۶۱۱۲۴۴۲

پست الکترونیک: khayam.ut.ac.ir@motamed2

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۶/۱۳

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۸/۲۵



شکل ۱: هیبریداسیون میان cDNA و توالی های ژنی موجود روی سطح ریزارایه DNA (۲۱)

نتایج

کاربردهای ریزارایه DNA

برخی از کاربردهای مهم ریزارایه DNA عبارتند از:

- (۱) بررسی بیان ژن و تغییرات آن در اثر عواملی مانند: درمان، عوامل بیماری زا، آسیب سلول (۵).
- (۲) هیبرید سازی مقایسه ای ژنوم^۷: تعیین محتوای ژنوم موجودات زنده و مقایسه آن ها با یکدیگر (۶،۷).
- (۳) شناسایی چندشکلی های تک نوکلئوتیدی^۸: با استفاده از این تکنولوژی می توان چند شکلی های تک نوکلئوتیدی را در میان جمعیت های مختلف مطالعه کرد. این مطالعات در زمینه های مختلفی می توانند موثر باشند مانند: تعیین ژنوتیپ، اندازه گیری احتمال ابتلا به برخی از بیماری ها، تخمین جهش های سلول های زایا و جهش های سوماتیک در سرطان، تحلیل پیوستگی ژنتیکی، تعیین کاهش چندتخمی بودن^۹ (۸).

مشخص شده است که پیچیدگی پروتئوم^۱ انسان بسیار بیشتر از ژنوم اوست. از این رو سرمایه گذاری تجاری در این زمینه از بیوتکنولوژی بسیار مهم می باشد.

آرایه DNA^۲

در آرایه DNA، آرایه ای از پروب^۳ های مولکولی وجود دارند که مکمل توالی های خاصی از cDNA بوده و بر روی یک فاز جامد به عنوان مثال اسلاید شیشه ای ثابت شده اند. (۱) این ثابت سازی معمولاً توسط ربات هایی که اصطلاحاً arrayer^۴ نامیده می شوند، انجام میشود (۲). شناسایی در این تکنیک بیشتر بر اساس خواندن شناساگرهای فلوروسانت می باشد. اساس ریزارایه DNA، هیبریداسیون میان رشته های DNA می باشد. هرچه جفت بازهای بیشتری با هم مکمل شوند، پیوند هیدروژنی قوی تر می باشد. چنین اتصالی در اثر شستشو از بین نمی رود در حالی که اتصال های ضعیف، که جفت بازهای کمتری را به اشتراک می گذارند، با شستشو از سیستم حذف می شوند. میزان شدت و قدرت سیگنال نهایی وابسته به میزان نمونه هایی است که با توالی های روی سطح، اتصال قوی برقرار کرده اند.

معرفی برخی از سطوح مورد استفاده در ریز آرایه DNA

سطوح مورد استفاده برای این نوع از ریز آرایه ها عبارتند از شیشه، پلاستیک و سطوح سیلیکون. پلاستیک میتواند تولید بار الکتریکی مثبت کند، در نتیجه مولکول های DNA را که حاوی بار الکتریکی منفی هستند بر روی سطح خود جذب و ثابت کند. سیلیکون نیز توانایی اتصال به مولکول های DNA را دارد.

مراحل کار با ریزارایه DNA

به طور کلی برای تهیه آرایه DNA باید طبق مراحل زیر عمل کرد:

- (۱) نمونه گیری (۲) خالص سازی نمونه و جداسازی mRNAها
- (۳) انجام رونویسی معکوس^۶ و تهیه cDNA (۴) متصل کردن cDNA به رنگ های فلوروسانت مانند ۵-FAM (۵) ریختن محلول بر روی سطح ریز آرایه که از قبل توسط توالی های ژن مورد نظر پوشیده شده است، مدتی صبر میکنیم تا هیبریداسیون میان cDNA ها و توالی های سطح ریزاری انجام گیرد (۶) شستشو (۷) بررسی و پردازش

۱. مجموعه پروتئین های موجود زنده

2. <http://learn.genetics.utah.edu/content/labs/microarray/>

3. Probe

4. Contact-printing robot

5. Base pair

6. Reverse transcriptase

7. Comparative genomic hybridization

8. Single nucleotide polymorphism (SNP)

9. Loss of heterozygosity

فراوانی کم می‌باشند، ثبت نگردند. در نتیجه برای کارهای تشخیصی چندان مناسب نبوده چراکه اغلب، پروتئین‌های با فراوانی اندک برای تشخیص مورد توجه هستند. در نتیجه به یک روش جامع تر و کامل تر مانند آرایه پروتئینی نیاز است. در حال حاضر این تکنولوژی به عنوان تکنولوژی محوری پروتئومیکس مد نظر میباشد (۹).

ملاحظات مربوط به آرایه پروتئینی و اساس آزمایش ثابت کردن پروتئین بر روی سطح

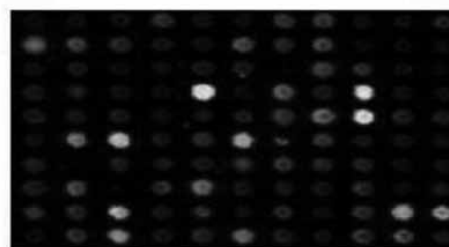
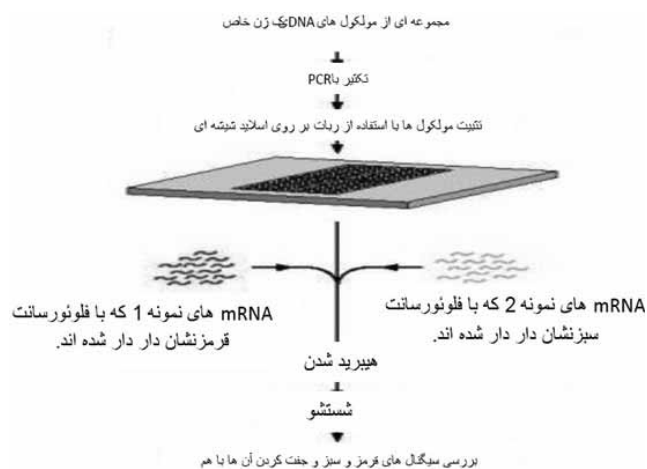
از مشخصات خوب یک ریز آرایه پایداری شیمیایی سطح آرایه بعد و قبل از فرآیند اتصال می‌باشد. لکه گذاری مناسب، حداقل پیوند غیر اختصاصی، داشتن پس زمینه^{۱۰} مناسب، سازگار بودن با سیستم‌های متفاوت شناسایی از خصوصیات خوب و مهم یک آرایه پروتئینی میباشد. روش ثابت سازی پروتئین باید برگشت پذیر و برای انواع پروتئین‌ها مناسب باشد. هر دو روش کووالان و غیر کووالان ثابت سازی پروتئین‌ها مزایا و معایب خود را دارد. انتشار از سطوح پر منفذ (مانند ژل پلی آکریل آمید) روشی موفق می‌باشد که سبب ایجاد پیوند غیر کووالان بین ساختار هیدروژل و پروتئین می‌شود. در این روش، پس زمینه مناسب بوده و علاوه بر آن عملکرد پروتئین از بین نمی‌رود. پیوند کووالان، پیوندی پایدار بوده که برای انواع پروتئین‌ها قابل استفاده می‌باشد و بازگشت پذیری خوبی دارد اما با این وجود ممکن است برخی از خواص پروتئین‌ها تغییر یابد. به طور کلی هر روش اتصالی مناسب باید چنین ویژگی‌هایی داشته باشد: (۱) اتصال قوی (۲) حفظ عملکرد پروتئین (۳) پس زمینه ناچیز^{۱۱} (۱۰). مزایا و معایب روش‌های اتصالی را در جدول ۱ بررسی میکنیم (۹).

معرفی برخی از سطوح مورد استفاده در آرایه پروتئینی

ایده آل ترین سطوح آرایه عبارتند از PVDF، نیتروسلولز و اسلایدهای پوشیده شده با عوامل مختلف مانند پلی آکریل آمید و سیلان (۱۱،۱۲).

(۱) PVDF^{۱۲}

به عنوان عایق بر روی بعضی از سیم‌های الکتریکی استفاده می‌شود، PVDF انعطاف پذیر، سبک و مقاوم به حرارت و مواد شیمیایی



یک منطقه کوچک از micro array، توانایی بررسی بیان 110 ژن مخمر را دارد.

شکل ۲: با استفاده از ریز آرایه DNA می توان بیان هزاران ژن را به صورت همزمان بررسی کرد، ابتدا نمونه های mRNA تبدیل به cDNA می شوند و سپس با فلوروسانت نشان دار میگردند. نمونه های نشان دار شده با هم مخلوط شده و سپس اجازه می دهیم که با مولکول های DNA سطح اسلاید هیبرید شوند. بعد از انکوبه شدن، شستشو انجام میدهیم و نتایج را بررسی میکنیم. لکه های قرمز حاکی از آن هستند که ژن نمونه ۱ بیان بیشتری نسبت به ژن نمونه ۲ دارد. لکه های سبز نشان دهنده بیان بیشتر ژن نمونه ۲ نسبت به نمونه ۱ میباشد. لکه های زرد به معنای بیان برابر دو ژن میباشد. در مکان لکه های سیاه، بیان کم و یا عدم بیان هر دو ژن را داریم. (۲۰)

آرایه پروتئینی

آرایه پروتئینی یک روش قدرتمند برای شناسایی پروتئین‌ها می‌باشد. آرایه پروتئینی امکان بررسی هزاران فعل و انفعال را به صورت همزمان فراهم میکند. پروتئین‌های به کار رفته در این روش را میتوان به شکل نوترکیب تهیه کرد که در این صورت ارتباط مستقیم و تنگاتنگی میان نتایج آرایه پروتئینی و توالی DNA وجود خواهد داشت.

دو روش مرسوم آنالیز پروتئوم‌ها الکتروفورز ژل دو بعدی و طیف سنجی جرمی می‌باشد اما با وجود موثر بودن این روش‌ها، محدودیت‌هایی نیز وجود دارد. در این روش‌ها ممکن است پروتئین‌های مورد نظر که دارای

10. Back ground

11. Low back ground

12. Polyvinylidene fluorid

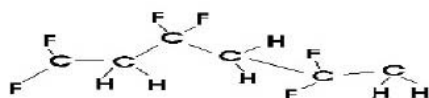
جدول ۱- مزایا و معایب روش های اتصالی

نوع اتصال	مزایا	معایب	نمونه
انتشار	عدم تغییر پروتئین، پس زمینه ناچیز	به خوبی ثابت نشدن پروتئین بواسطه انتشار در ژل	ژل پلی آکریل آمید، آگاروز
جذب سطحی ^۱	پس زمینه ناچیز	دنا توره شدن پروتئین ها، پخش شدن پروتئین ها بر روی سطح	نیتروسولولز PVDF
پیوند کوالان	اتصال قوی، حساسیت بالا، تثبیت منفرد و مناسب پروتئین ها	دنا توره شدن پروتئین ها	سطوح سیلان دار
جذب تمایلی ^۲	اتصال قوی، پس زمینه ناچیز، تثبیت منفرد و مناسب پروتئین ها	دنا توره شدن پروتئین ها	بیوتین-آویدین

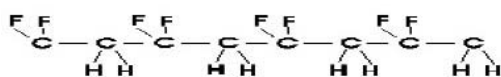
تست های تشخیصی مبتنی بر واکنش آنتی بادی و آنتی ژن مانند بارداری و CPR کاربرد دارد. PVDF و نیتروسولولز غالباً برای آرایه پروتئینی مناسب نیستند. این سطوح اجازه ایجاد تراکم بالا و مناسب از پروتئین را نداده و ممکن است مواد ثبت شده بر روی این سطوح پخش شوند و این مسئله سبب میشود که حداکثر سیگنال مورد نظر را نداشته باشیم. بنابر این در اکثر آزمایش ها از اسلایدهای میکروسکوپی استفاده می شود.

۳) اسلایدهای میکروسکوپی

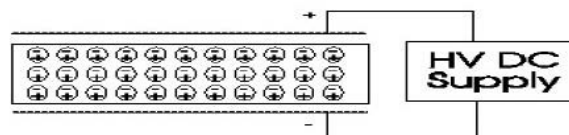
برای تهیه این نوع از چیپ ها، اکثر مواقع، اسلایدهای میکروسکوپی را به آلدئید و سیلان آغشته می کنند (۱۵). انواع دیگری از اسلایدهای میکروسکوپی را میتوان با استفاده از ژل پلی آکریل آمید تهیه کرد (۱۶). این روش مبتنی بر میانکنش گروه های آلدئیدی با گروه های α-آمین از پروتئین ها است. اتصال از نوع شیف باز^{۱۴} میباشد.



قبل از اعمال جریان الکتریکی



بعد از برقراری جریان الکتریکی



شکل ۳: تغییر بار سطحی PVDF در اثر جریان الکتریکی (۱۹)

13. Spotting
14. Schiff base

۲) Capture array: این نوع از چیپ‌ها شامل معرف‌های تمایلی، آنتی بادی‌های اولیه و یا داربست‌های پروتئینی^{۱۵} میباشند. از این روش برای شناسایی و بررسی کمی محلول‌هایی مانند پلاسما، سرم و استخراج بافتی استفاده می‌شود.

۳) Reverse array: در این روش محصولات حاصل از تجزیه سلول و بافت بر روی سطح چیپ ثبت شده و سپس توسط آنتی بادی‌هایی که بر روی آن‌ها قرار می‌گیرد، شناسایی انجام میشود (۹).

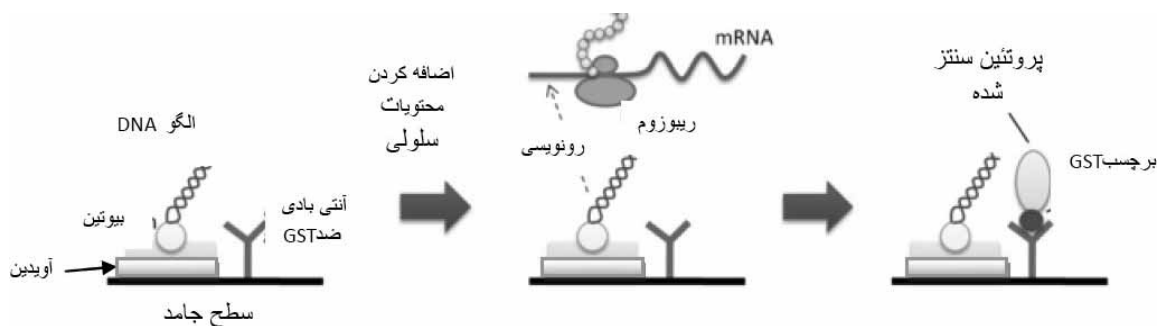
کیت‌های آرایه پروتئینی در جا^{۱۶} و بدون سلول^{۱۷} اساس روش

در این روش، سطح آرایه توسط آنتی بادی‌ها و یا عوامل گیرنده پروتئین پوشانده شده است و سپس پروتئین‌های سنتز شده، از ریبوزوم رها شده و با استفاده از توالی برچسب^{۱۸} خود که در قسمت

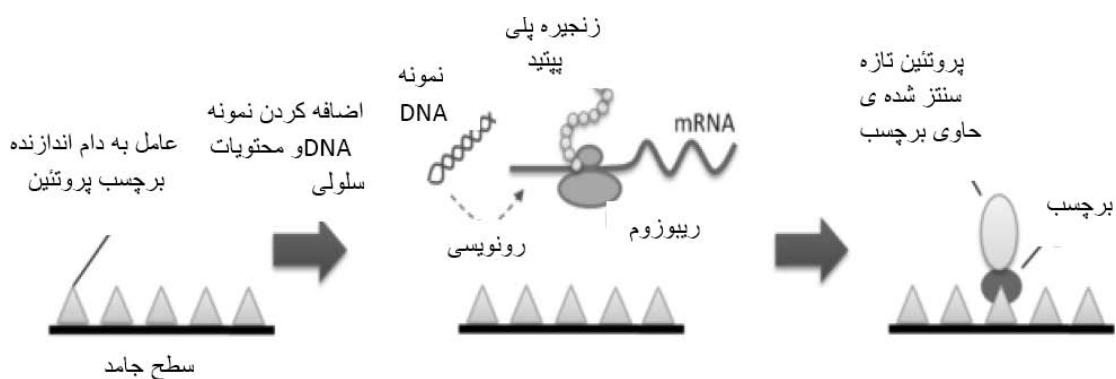
پروتئین‌های معمول میزان زیادی اسید آمینه لایزین بر روی سطح خود دارند؛ در نتیجه می‌توان انتظار داشت که میزان بیشتری α -آمین فعال در N-ترمینالشان داشته باشند. از این رو، پروتئین‌ها می‌توانند در جهت یابی‌های متفاوت به اسلاید متصل شوند (۱۷).

انواع آرایه پروتئینی

۱) Functional array: چیپ‌هایی هستند که در مقیاس وسیع، تحلیل پروتئینی را انجام می‌دهند. این چیپ‌ها از تعداد زیادی پروتئین‌های خالص شده که بر روی سطح جامد ثابت شده‌اند ساخته شده‌اند و در مورد سنجش طیف وسیعی از واکنش‌های بیوشیمیایی کاربرد دارد: فعل و انفعالات پروتئین-پروتئین، پروتئین-DNA، پروتئین-مولکول‌های کوچک و همچنین بررسی فعالیت آنزیمی، شناسایی آنتی بادی‌ها و تعیین خصوصیات آن‌ها.



شکل ۴: مراحل مختلف روش NAPA به صورت شماتیک (۱۸)



شکل ۵: مراحل مختلف روش PISA به صورت شماتیک (۱۸)

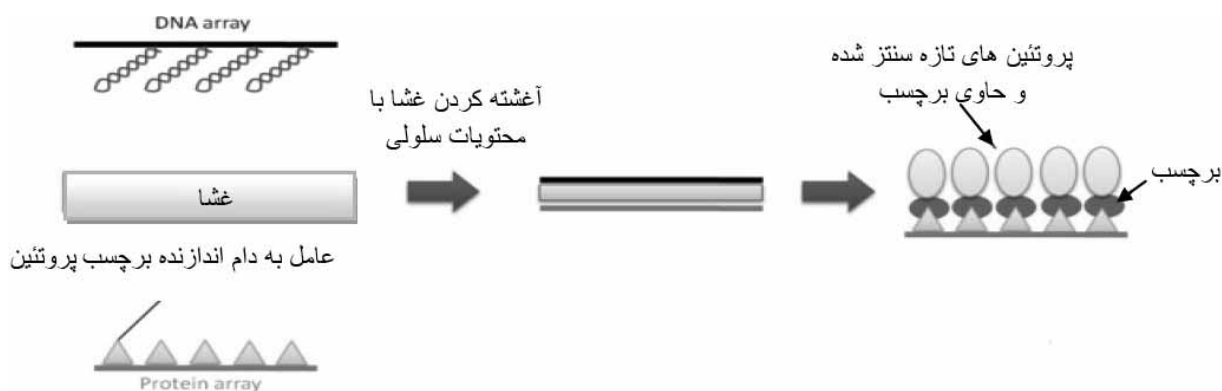
- 15. Protein scaffold
- 16. In situ
- 17. Cell free
- 18. Tag

بر روی سطح جامد ثابت نشده اند. پروتئین‌ها در حین ساخته شدن به سطح آری متصل میگردند که این اتصال به واسطه شناخت یک توالی مخصوص و برچسب میباشد. در این روش رونویسی و ترجمه همانند روش قبل همزمان صورت میگیرد (۲۰).

(۳) DAPA^{۲۴}

این روش نسبت به سایر تکنیک‌های مذکور پیشرفته تر میباشد. در این جا دو آرایه جداگانه داریم: (۱) آرایه DNA که بر روی سطح آن الگوهای DNA قرار گرفته اند. (۲) آرایه پروتئینی که بر روی سطح آن عوامل به دام اندازنده برچسب پروتئین وجود دارند. این دو آرایه توسط یک غشای نفوذپذیر که حاوی محتویات سلولی میباشد از هم جدا شده اند. پروتئین‌های برچسب دار از روی DNA ترجمه شده و سپس از فضای بین دو غشا عبور می کنند و با کمک عوامل روی سطح آرایه پروتئینی، بر روی آن ثابت می شوند (۲۱).

روش‌های درجا مزایای بیشتری نسبت به روش‌های سنتی تر آرایه پروتئینی دارند. برخی از این مزایا عبارتند از تبدیل سریع اطلاعات ژنتیکی به پروتئینی، بدست آوردن پروتئین‌هایی که بیان آن‌ها در میزبان‌های زنده کاری دشوار است و علاوه براین، برخلاف پروتئین‌ها، مولکول‌های DNA از ثبات بیشتری برخوردارند؛ در نتیجه نگهداری طولانی مدت این نوع ریز آرایه‌ها امکان پذیر است.



شکل ۶: مراحل مختلف روش DAPA به صورت شماتیک (۱۸)

C و یا N ترمینال قرار گرفته است، به عوامل روی سطح متصل میشوند. برچسب‌هایی که در این روش‌ها استفاده می‌شوند عبارتند از پلی هیستیدین و گلوکوتایون-S- ترانسفراز^{۱۹}. در این راستا روش‌های مختلفی ارائه شده است که به طور کلی در سه گروه قابل جمع بندی می‌باشند (۱۷).

(۱) روش NAPPA^{۲۰}: در این روش قطعات DNA بر روی سطح جامد با استفاده از معرف‌های تمایلی مانند بیوتین^{۲۱} و آویدین^{۲۲} بر روی سطح اسلاید ثابت میشوند. رشته DNA به بیوتین متصل بوده و بر روی سطح جامد، آویدین قرار گرفته است. سپس محلول سلولی حاوی ریبوزوم، آنزیم‌های رونویسی و آنزیم‌های ترجمه به این مجموعه اضافه میشوند. این محلول سلولی می‌تواند به عنوان مثال شبکه آندوپلاسمی خروگوش باشد. در نهایت زنجیره پلی پپتیدی حاوی برچسب گلوکوتایون ترانسفراز ساخته شده و به آنتی بادی ضد گلوکوتایون ترانسفراز روی سطح متصل میشود. بواسطه این روش، آرایه DNA به آرایه پروتئینی تغییر می‌یابد.

از این تکنیک برای مطالعه پروتئین‌های چرخه سلولی استفاده می‌شود (۱۸).

(۲) PISA^{۲۳}

در این روش پروتئین‌ها مستقیماً از DNA آرایه ساخته می‌شوند که

19. Glutathione s-Transferase (GST).

20. Nucleic acid programmable protein array

21. Biotin

22. Avidin

23. Protein In Situ Array

24. DNA Array to Protein Array

جمع بندی

در این مقاله تلاش بر این بود که به صورت اجمالی اما موثر تکنولوژی آرایه و به خصوص آرایه پروتئینی معرفی گردد. این فناوری روشی کم هزینه، موثر و پر بازده می باشد و می تواند در یافتن راه حل های درمانی بسیاری از بیماری های مهم مانند سرطان و مالتیپل اسکلروزیس پیشتاز باشد. آرایه روشی نوین می باشد که در حال تحولات و پیشرفت های روزانه بوده و می تواند نقص های موجود در روش های قدیمی را پوشش دهد. از مزایای بی رقیب این فناوری، امکان بررسی هزاران فعل و انفعال به صورت همزمان می باشد. با توجه به مزایای بسیار زیاد این روش در حوزه های پروتئومیکس و ژنومیکس میتوان چشم انداز قابل توجهی را برای این تکنولوژی قائل شد.

کاربردهای آرایه پروتئینی

(۱) موارد تشخیصی: شناسایی آنتی بادی و آنتی ژن در نمونه های خونی، پیدا کردن مارکرهای جدید برای انواع بیماری ها، بررسی غذا و محیط، بیماری های خودایمنی، آلرژی و سرطان. به عنوان مثال، با کمک این روش میتوان در مورد بیماری سرطان مطالعات موثری از قبیل شناسایی پاسخ آنتی بادی های ضد تومور، کشف معرف های زیستی برای تومورهای مخصوص، بررسی پاسخ های میزبان و تعیین کمیت بیان آنتی ژن های تومور را انجام داد.

(۲) پروتئومیکس: بررسی بیان پروتئوم

(۳) آنالیز عملکردی پروتئین ها: انفعالات پروتئین-پروتئین، خصوصیات گیرنده های متصل شونده به لیگاند، فعالیت آنزیم ها

(۴) طبقه بندی آنتی بادی ها: بررسی اختصاصی بودن و هم پوشانی عملکردی آنتی بادی ها و نقشه ایی توپوی آن ها (۹).

References

1. Oligonucleotide hybridizations on glass supports: a novel linker for oligonucleotide synthesis and hybridization properties of oligonucleotides synthesised in situ. Nucleic Acids Res. (Maskos U, Southern EM.) 20 (7): 1679-84. 11 Apr 1992
2. arrayer constructed following directions on P. Brown's Webpage (<http://cmgm.stanford.edu/pbrown/>).
3. http://en.wikipedia.org/wiki/File:NA_hybrid.svg
4. Source: Molecular Biology of the Cell (© Garland Science 2008) Figure 8-62
5. Adomas A, Heller G, Olson A, Osborne J, Karlsson M, Nahalkova J, Van Zyl L, Sederoff R, Stenlid J, Finlay R, Asiegbu FO (2008). "Comparative analysis of transcript abundance in Pinus sylvestris after challenge with a saprotrophic, pathogenic or mutualistic fungus". Tree Physiol. 28 (6): 885-897. PMID 18381269
6. Pollack JR, Perou CM, Alizadeh AA, Eisen MB, Pergamenschikov A, Williams CF, Jeffrey SS, Botstein D, Brown PO (1999). "Genome-wide analysis of DNA copy-number changes using cDNA microarrays". Nat Genet 23 (1): 41-46. doi:10.1038/14385. PMID 10471496.
7. Moran G, Stokes C, Thewes S, Hube B, Coleman DC, Sullivan D (2004). "Comparative genomics using Candida albicans DNA microarrays reveals absence and divergence of virulence-associated genes in Candida dubliniensis". Microbiology 150 (Pt 10): 3363-3382. doi:10.1099/mic.0.27221-0. PMID 15470115.
8. Hacia JG, Fan JB, Ryder O, Jin L, Edgemon K, Ghandour G, Mayer RA, Sun B, Hsie L, Robbins CM, Brody LC, Wang D, Lander ES, Lipshutz R, Fodor SP, Collins FS (1999). "Determination of ancestral alleles for human single-nucleotide polymorphisms using high-density oligonucleotide arrays". Nat Genet 22 (2): 164-167. doi:10.1038/9674. PMID 10369258.
9. Philipp Angenendt, c, Jörn Glöckler, Derek Murphy, Hans Lehrach and Dolores J. Cahill Volume 309, Issue 2, 15 October 2002, Pages 253-260
10. Aldehyde slides were purchased from TeleChem International (Cupertino, CA) under the trade name SuperAldehyde Substrates
11. Imaging of protein arrays and gradients using soft lithography and biochip technology. Ranta tantra. jonathan cooper. october 2011
12. Adomas A, Heller G, Olson A, Osborne J, Karlsson M, Nahalkova J, Van Zyl L, Sederoff R, Stenlid J, Finlay R, Asiegbu FO (2008). "Comparative analysis of transcript abundance in Pinus sylvestris after challenge with a saprotrophic, pathogenic or mutualistic fungus". Tree Physiol. 28 (6): 885-897. PMID 18381269.
13. <http://www.imagesco.com/articles/piezo/piezo03.html>

14. H.zhu.M.synder.protein arrays and microarrats.cam. opin.chem.biol.5(2001)40-45
15. He, M., O. Stoevesandt, et al. (2008). "In situ synthesis of protein arrays." *Curr Opin Biotechnol* 19(1): 4-9
16. Aldehyde slides were purchased from TeleChem International(Cupertino, CA) under the trade nameSuperAldehyde Substrates
17. Ramachandran, N., E. Hainsworth, et al. (2004). "Self-assembling protein microarrays." *Science* 305(5680): 86-90
18. He, M. and M. J. Taussig (2001). "Single step generation of protein arrays from DNA by cell-free expression and in situ immobilisation (PISA method)." *Nucleic Acids Res* 29(15): E73-3
19. http://www.thefullwiki.org/Cell-free_protein_array
20. He, M., O. Stoevesandt, et al. (2008). "Printing protein arrays from DNA arrays." *Nat Methods* 5(2): 175-7
21. L. Kreplak et al. Atomic Force Microscopy of Mammalian Urothelial Surface. *Journal of molecular biology*. Volume 374, Issue 2, 23 November 2007, Pages 365-373

آدرس نویسندگان مقاله

Review of Nevroid Basal Cell Carcinoma Syndrome (Basal Cell Nevus Syndrome, Gorlin Goltz Syndrome) and Report of a Case

که در شماره چهارم سال هشتم صفحه ۲۲۴۵-۲۲۴۰ چاپ شد در موقع چاپ از قلم افتاده بود. بدین وسیله ضمن عذرخواهی از نویسندگان محترم این مقاله، بدین وسیله تصحیح می گردد
 نویسنده اول: سرکار خانم دکتر مرجان شکیبیا، بیمارستان مفید، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
 نویسنده مسئول: سرکار خانم دکتر مریم رزاقی آذر، پژوهشکده علوم غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی