Genetic linkage analysis of the DFNB63 locus in families with autosomal recessive nonsyndromic hearing loss from...
بررسی پیوستگی زننیک لوکوس DFNB63 در خانواده‌های دچار ناشنوایی غیرسندرمی اتوزوم مغلوب در استان‌های همدان و کهگیلویه و بویراحمد

برایا علی‌پور، دکتر محمد امین طباطبایی فر، دکتر سهیه رئیسی، جهانگیر فتاحی، اعظم پوراحمدیان

دکتر مرتضی هاشم‌زاده قاجاریٴ

مفهوم

نتایج و گسترش

ارجاع
در این جمعیت ایجاد کنند (9-08). در این مطالعه، برای ترکیب لوکوس DFNB63 و DFNB1 و پیوستگی شناسایی، از روش بررسی پیوستگی زنتیکی بهره گرفته شد. اساس بررسی پیوستگی زنتیکی، نقشه انت‌ویگوستی است که اولین بار توسط Lander و Botstein در مطالعه برای مطالعه زنتیکی بیماری‌های اتوژوم مغلوب می‌باشد (10).

DFNB63 در دارایی LRTOMT زن واقع در لوکوس LRTOMT 10 اکرون می‌باشد که آگون‌های D, 5 و 8 و دارای دو اشکال مختلف، این دار با دو نوع روتوشی انت‌ویگوستی شده است. در این مقاله، در این دار که تکرارهای کنر از لوکوس پیوستگی با عملکرد LRTOMT1 با کنر LRTOMT1 نام دارد. در این دار با دو نوع کنر، در جمعیت ایران و وجود 23/8 درصد، مطالعه این گروه‌های مختلف در این جمعیت با ترتیب متنوع در گروه خوشه‌ای DFNB63 می‌باشد.

Kalay و همکاران با آلاینگ پیوستگی زنوم به ترتیب با بررسی پیمان دارایی‌های DFNB63 را به شناسایی DFNB63 دخیل در بازخوانده‌های اتوژوم مغلوب مغلوب اتوژوم باشد. بیشتر مطالعات ایران بر روی ناشناخته مغلوب اتوژوم (DFNB63) بر روی لوکوس خصوصی به نام 1 (GJB2) تشکیل می‌شود. مهم ترین دلیل ناشناخته‌ای است. مطالعه بقیه لوکوس‌ها در جمعیت‌های بیماری‌های اتوژوم مغلوب مغلوب اتوژوم مربوط به ناشناخته مغلوب اتوژوم، می‌تواند بیشتر در مورد بیماری‌های خاصی، مانند لوکوس‌ها در ناشناخته مغلوب اتوژوم مغلوب اتوژوم.
نقش لوکوس DFNB63 در ناشنوایی غیرسدرمی اتوزوم مغلوب

روش‌ها

نمونه‌گیری و استخراج DNA: در این مطالعه، توصیفی-آزمایشگاهی عصب شده در دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، مورد استفاده قرار گرفتند. این نمونه‌ها از استان‌های همدان و یاسوج، از میان مراجعه کننده‌اند. یک مراحل بر اساس متعادلی بلافاصله توسط پرینتیک بیشتر گوش، حلل سیستم و مشاوره فیزیکی، جزء موارد غیرسدرمی اتوزوم‌های ناشنوایی بودند. این نمونه‌ها دارای جداول ۲ فرد ناشنوای بودند.

امکان‌ها: در این مطالعه، برای پرینتیک فیزیکی، تحقیق و مشاوره فیزیکی، جزء موارد غیرسدرمی اتوزوم‌های ناشنوایی مورد پژوهش قرار گرفتند. این نمونه‌ها دارای جداول ۲ فرد ناشنوای بودند.

بررسی پوئستیکی زنیکی: نشانگرهای STR بررسی پوئستیکی زنیکی: نشانگرهای STR (Short tandem repeats) مناسب در پایگاه‌های Genome browser NCBI و نیز برای افرادی که از طریق پایگاه‌های داده‌های محقق NCBI Map viewer انجام نشود. موارد انتخاب نشانگرهای فلسفه از زن در جدول PCR جندشکل آنها دامنه و طول محصول دوقلو و نیز هتروژیکوی

بودون پدر و مادر برای یک نشانگر معین بود. همه نشانگرها دارای واحدهای تکراری در نوکلوتویدی بودند. مشخصات و اطلاعات مربوط به هر نشانگر جهت تکثیر، در جداول ۱۳۰ آمده است.

جدول ۱. نشانگرهای مورد استفاده برای لوکوس DFNB63 و ویژگی‌های آنها

<table>
<thead>
<tr>
<th>نام نشانگر</th>
<th>(Reverse) F</th>
<th>(Forward) R</th>
<th>(Forward) F</th>
<th>(Forward) F</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>D11S4184</td>
<td>GCTGATGACGAGAGGTTAG</td>
<td>CCCAGCCTTACATATTCC</td>
<td>D11S4184</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>D11S4132</td>
<td>ACTCCAGCTTGTTGAAAA</td>
<td>GTGCAAGTGGCTTCTGTC</td>
<td>D11S4132</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>D11S4140</td>
<td>TTATGGGGTGAGGACAGCAG</td>
<td>TGCAACAAGGTTCCACACT</td>
<td>D11S4140</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>D11S4139</td>
<td>CTTATGGGGTGAGGACAGCAG</td>
<td>TGCAACAAGGTTCCACACT</td>
<td>D11S4139</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>D11S4162</td>
<td>GTGAAGCAGAGGAAATGTCAG</td>
<td>TTGTCTAGCAGCTCTACT</td>
<td>D11S4162</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>D11S4184</td>
<td>GAGAGCAACACTATTGCCCC</td>
<td>GTTCTCCAGAGAGACACGAC</td>
<td>D11S4162</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>D11S4184</td>
<td>GAGAGCAACACTATTGCCCC</td>
<td>GTTCTCCAGAGAGACACGAC</td>
<td>D11S4162</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>D11S4184</td>
<td>GAGAGCAACACTATTGCCCC</td>
<td>GTTCTCCAGAGAGACACGAC</td>
<td>D11S4162</td>
<td></td>
</tr>
</tbody>
</table>

روش‌ها

نمونه‌گیری و استخراج DNA: در این مطالعه، توصیفی-آزمایشگاهی عصب شده در دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، مورد استفاده قرار گرفتند. این نمونه‌ها از استان‌های همدان و یاسوج، از میان مراجعه کننده‌اند. یک مراحل بر اساس متعادلی بلافاصله توسط پرینتیک بیشتر گوش، حلل سیستم و مشاوره فیزیکی، جزء موارد غیرسدرمی اتوزوم‌های ناشنوایی مورد پژوهش قرار گرفتند. این نمونه‌ها دارای جداول ۲ فرد ناشنوای بودند.

امکان‌ها: در این مطالعه، برای پرینتیک فیزیکی، تحقیق و مشاوره فیزیکی، جزء موارد غیرسدرمی اتوزوم‌های ناشنوایی مورد پژوهش قرار گرفتند. این نمونه‌ها دارای جداول ۲ فرد ناشنوای بودند.

بررسی پوئستیکی زنیکی: نشانگرهای STR بررسی پوئستیکی زنیکی: نشانگرهای STR (Short tandem repeats) مناسب در پایگاه‌های Genome browser NCBI و نیز برای افرادی که از طریق پایگاه‌های داده‌های محقق NCBI Map viewer انجام نشود. موارد انتخاب نشانگرهای فلسفه از زن در جدول PCR جندشکل آنها دامنه و طول محصول دوقلو و نیز هتروژیکوی

بودون پدر و مادر برای یک نشانگر معین بود. همه نشانگرها دارای واحدهای تکراری در نوکلوتویدی بودند. مشخصات و اطلاعات مربوط به هر نشانگر جهت تکثیر، در جداول ۱۳۰ آمده است.

جدول ۱. نشانگرهای مورد استفاده برای لوکوس DFNB63 و ویژگی‌های آنها
جدول 2. بررسی دمای PCR

| دما (درجه سانتی گراد) | زمان | PCR برای
<table>
<thead>
<tr>
<th></th>
<th></th>
<th></th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td></td>
<td></td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>95</td>
<td>1 دقیقه</td>
<td>1</td>
</tr>
<tr>
<td>95</td>
<td>2 دقیقه</td>
<td>2</td>
</tr>
<tr>
<td>72</td>
<td>8 دقیقه</td>
<td>3</td>
</tr>
<tr>
<td>72</td>
<td>27 دقیقه</td>
<td>4</td>
</tr>
</tbody>
</table>

جدول 3. مقادیر لازم برای LRTOMT (PCR)

<table>
<thead>
<tr>
<th>مواد</th>
<th>غلظت (µM)</th>
<th>حجم (µl)</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>dH2O</td>
<td>17/18</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>PCR buffer</td>
<td>2/3/5/10</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>dNTP</td>
<td>0.1/0.5/1</td>
<td></td>
</tr>
<tr>
<td>MgCl2</td>
<td>0.5/1/2</td>
<td>0.1/0.5/1</td>
</tr>
<tr>
<td>Primer (F)</td>
<td>0.1/0.5/1</td>
<td>0.1/0.5/1</td>
</tr>
<tr>
<td>Primer (R)</td>
<td>0.1/0.5/1</td>
<td>0.1/0.5/1</td>
</tr>
<tr>
<td>Taq-DNA Polymerase</td>
<td>0.5/1</td>
<td>0.1/0.5/1</td>
</tr>
<tr>
<td>DNA</td>
<td>0.5/1</td>
<td>0.1/0.5/1</td>
</tr>
</tbody>
</table>

dH2O: Distilled water; PCR buffer: polymerase chain reaction buffer; dNTP: Deoxynucleotide triphosphate

"S-Link" به پیوستگی و S-Link رشد، از دمای حداکثر 29/0 در تیم افتار S-link LOD score (Logarithm of the odds score) و نسبت به LOD score (Logarithm of the odds score) رشد "Super link" و "Fast S-link" آزمایشگاهی (مجمعیت S-link نشانگر مخاطرب Operator) از نظر تیم افتار Super link و "Fast S-link" آزمایشگاهی (مجمعیت S-link نشانگر مخاطرب Operator) از نظر تیم افتار 29/0/12/0 در سیستم گریت. این صورت گرفته و باید تأیید یک بیانی S-Link استفاده می‌شود (15).

در صورت که برای هر کیفیت حداکثر مورد مطلوب، نشانگری با معنی (Uninformative) برند باشد نشانگری موجود در منطقه‌ی زنی مربوط استفاده می‌گردد.

"STR" استفاده از برای بررسی اختصاصی تکثیر گردید و به کمک زل بی، آسیب‌های لازم جهت تکثیر این گروه‌ها را نشان می‌دهد.

 Liebe Universitäten und Hocktanen,

Polymerase chain reaction (PCR) najdien. 1) 2

PCR: Polymerase chain reaction

DFNB63

www.mui.ac.ir
جدول 1. اطلاعات برخوردهای از گونه‌های زن (bp) PCR

<table>
<thead>
<tr>
<th>دما (درجه سانتی‌گراد)</th>
<th>بازده PCR</th>
<th>(F)</th>
<th>(R)</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>5</td>
<td>281</td>
<td>AGTATGGCTTGAGGGTTG</td>
<td>CAAGGAATGGAGGACTTGA</td>
</tr>
<tr>
<td>7</td>
<td>370</td>
<td>TTAGGTTCTGAGGGGTAGG</td>
<td>GAGGGAATGGTCCAGGACA</td>
</tr>
<tr>
<td>8</td>
<td>553</td>
<td>AGTACACAGGGTTGAATC</td>
<td>AATTCTCAGTTAAGCAG</td>
</tr>
<tr>
<td>9</td>
<td>596</td>
<td>GAGCTGCAATGGTGAGGGTGA</td>
<td>GGAGAAGGAAGCACCTCAG</td>
</tr>
<tr>
<td>10</td>
<td>784</td>
<td>GAAATCACAATACTGATC</td>
<td>TGATAGAATGGAGGACCTGAG</td>
</tr>
</tbody>
</table>

PCR: Polymerase chain reaction

جدول 2. مقادیر مواد لازم مورد استفاده در واکنش PCR

<table>
<thead>
<tr>
<th>ماده</th>
<th>حجم (µl)</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>dH2O</td>
<td>18/90</td>
</tr>
<tr>
<td>PCR buffer</td>
<td>2/50</td>
</tr>
<tr>
<td>MgCl2</td>
<td>100/00</td>
</tr>
<tr>
<td>dNTP</td>
<td>40/20</td>
</tr>
<tr>
<td>F primer</td>
<td>10/15</td>
</tr>
<tr>
<td>R primer</td>
<td>10/15</td>
</tr>
<tr>
<td>DNA</td>
<td>15/00</td>
</tr>
<tr>
<td>Taq DNA polymerase</td>
<td>1/00</td>
</tr>
</tbody>
</table>

dH2O: Distilled water; PCR buffer: polymerase chain reaction buffer; dNTP: Deoxynucleotide triphosphate

بحث

توارث انژومی مغولی مورد تایید بود. ارزش این خانواده‌ها با استفاده از S-Link Nsex5 یا Fast S-Link Linkage برای ارزیابی S-Link نسبت به عدم نسبت به 10 برابر است. این گونه خانواده‌ها را به طور معنی‌دار نیاز دارند.

S-Link محاسبه‌ای به این منظور انجام شد که خانواده‌ها با اعمال پیوستگی بیشتر، وارد مطالعه شوند. در 30 خانواده مورد مطالعه، بعد از بررسی الگوی مشترک‌ها و با تکرار حداکثر دو بار الکتروفورز بر روی زل پلی آکریل ایمید (پلی خانواده‌های دارای الکتره) پیوستگی در خانواده‌ها در S-Link بالتر (پیوستگی برای نشان‌گرها در خانواده‌ها 20 دیده شد. البته نشان‌گرها مورد نظر به صورت نیمه معنی‌دار پیوستگی را تایید نکردند و یکی از نشان‌گرها پیوستگی را رد نمود (شکل 1). در کل، پیوستگی به لوكوس DFNB63 با S-Link تقریباً 2 با رسم هالوتایپ تایید شد (شکل 2).

یافته‌ها

افراد مورد مطالعه در جمعیت مورد بررسی، ناشناوایی دوطرفه حسی- عصبی شدید تا عامی شاشند. در 50 درصد خانواده‌های مورد بررسی، سه نسل ازدواج خورشاندی دیده شد و با توجه به داده‌های مربوط به شجره‌نامه، غیرسنتدرمی بودن ناشناوایی و الگوی
جدول ۶ برنامه‌داری مهم‌ترین موردهای آزمایش در واکنش الگونه‌ی زن (Polymerase chain reaction) PCR

<table>
<thead>
<tr>
<th>مرحله</th>
<th>زمان (دما درجه سانتی‌گراد)</th>
<th>تعداد چرخه</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>۱</td>
<td>۹۵</td>
<td>۲</td>
</tr>
<tr>
<td>۲</td>
<td>۲۲</td>
<td>۳</td>
</tr>
<tr>
<td>۳</td>
<td>۷۷</td>
<td>۵۵</td>
</tr>
</tbody>
</table>

دماهای اتصال در الگونه‌های مختلف متغیر است.

![PCR Image]

شکل ۱. تعیین زننده‌ی نشانگر (DFNB63) روی زل پلی‌آکریل آمید. همان‌طور که در زل مشاهده می‌شود، افراد بیمار الگوی هموزیگوت را در باندهای مربوط به نشانگر نشان دادند.

![Family F20 Image]

شکل ۲. هالوتایپ مربوط به پیوستگی پکی از خانواده‌های مورد بررسی (خانواده‌های شماره‌ی ۲۰). در صورت وجود پیوستگی الگوی هیپولیپیدی بیماران باعث می‌شود آن‌ها بیماران هایلیپیدی بیماران دارند. پیوستگی به لوسکس DFNB63 تایید می‌شود. نشانگر زننده‌ی نشانگر ها بر اساس مارک‌فیلد می‌باشد.
بحث

در این مطالعه نمونه‌ها از نظر جنسیت به سه گروه تقسیم شدند: 

1. نوزادانی که دارای بررسی مغزی مثبت به لینورتیومت (LRTOMT)
2. نوزادانی که دارای بررسی مغزی منفی به LRTOMT
3. نوزادانی که دارای بررسی مغزی منفی به LRTOMT و دارای بررسی مغزی منفی به جمهوری اسلامی

نمونه‌ها از نظر جنسیت به سه گروه تقسیم شدند: 

1. نوزادانی که دارای بررسی مغزی مثبت به لینورتیومت و دارای بررسی مغزی منفی به جمهوری اسلامی
2. نوزادانی که دارای بررسی مغزی منفی به LRTOMT و دارای بررسی مغزی منفی به جمهوری اسلامی
3. نوزادانی که دارای بررسی مغزی منفی به LRTOMT و دارای بررسی مغزی منفی به جمهوری اسلامی

نمونه‌ها از نظر جنسیت به سه گروه تقسیم شدند: 

1. نوزادانی که دارای بررسی مغزی مثبت به لینورتیومت و دارای بررسی مغزی منفی به جمهوری اسلامی
2. نوزادانی که دارای بررسی مغزی منفی به LRTOMT و دارای بررسی مغزی منفی به جمهوری اسلامی
3. نوزادانی که دارای بررسی مغزی منفی به LRTOMT و دارای بررسی مغزی منفی به جمهوری اسلامی

نمونه‌ها از نظر جنسیت به سه گروه تقسیم شدند: 

1. نوزادانی که دارای بررسی مغزی مثبت به لینورتیومت و دارای بررسی مغزی منفی به جمهوری اسلامی
2. نوزادانی که دارای بررسی مغزی منفی به LRTOMT و دارای بررسی مغزی منفی به جمهوری اسلامی
3. نوزادانی که دارای بررسی مغزی منفی به LRTOMT و دارای بررسی مغزی منفی به جمهوری اسلامی
شک همکار، با بررسی Vanwesemael در مطالعه‌ای خانواده‌ای ایرانی با پنل اندوزی خویش‌اندی و با آنالیز linkages لینکاژ DFNB63 مشاهده شد که به همراه بیش از گزارش شده، این جهش مشخص جهش گزارش شده در زن LRTOMT2 در این مطالعه دیگر با توجه به فاکتور کل جهش‌های این زن در ایران نسبت به بقیه کشور، مطالعه‌ای این زن در استان‌های مختلف کشورمان حائز اهمیت است. 

نقطه زد و همکاران با بررسی ١٥٧ دانش آموز ناشنو ای که به صورت تصادفی متتا بودند در چهار استان آذربایجان شرقی، گیلان، لرستان و کردستان، جهشی و دیگر خانواده‌ای در این لوسکس پیدا نکردن. این مطالعه، نشان می‌دهد که اختلاف جهش در جمعیت‌ها که به صورت خانوادگی مبتلا هستند، بیشتر است (١٧). در مطالعه‌ای حاضر، به منظور بررسی دقیق‌تری جهش‌های این زن در جمعیت‌هایی که به صورت خانوادگی مبتلا هستند، دیگر در نشان‌يلار که شیوع بیشتری دارند. برای تعيين نقطه دقیق‌تر این لوسکس، باید مطالعات را به مناطق دیگر و خانواده‌های بیشتر بسط داد تا بتون نقطه این لوسکس را به طور دقیق‌تر بررسی نمود.

دفنه لوسکس ۶۳ در ناشنوای غیرستانداری اتوروز مولیوبDFNB63

 eing مشاهده‌ای اسپید آمینه ۱۰۶ از تریتوتان به آرژینین (W105R) می‌شود و پیشینی می‌گردد که LRTOMT2 در افراد مبتلا خانواده‌ای پاکستانی نیز یک انتقال A328G> Gه می‌یابد و در اکثر ۸٪ از الینه LRTOMT که باعث جانشینی اسپید آمینه ۱۱۰ از گلوتامین به این رازDFNB63 (E110K) می‌گردد و پیشینی می‌شود که دمین LRTOMT2 را در COMT در مطالعه‌ای طبیعت‌یافته و همکاران، با بررسی خانواده‌ای ایرانی با پنل اندوزی خویش‌اندی و با آنالیز linkages لینکاژ DFNB63 مشاهده شد که به همراه بیش از گزارش شده، این جهش مشخص جهش گزارش شده در زن LRTOMT2 در این مطالعه دیگر با توجه به فاکتور کل جهش‌های این زن در ایران نسبت به بقیه کشور، مطالعه‌ای این زن در استان‌های مختلف کشورمان حائز اهمیت است. 

نقطه زد و همکاران با بررسی ١٥٧ دانش آموز ناشنو ای که به صورت تصادفی متتا بودند در چهار استان آذربایجان شرقی، گیلان، لرستان و کردستان، جهشی و دیگر خانواده‌ای در این لوسکس پیدا نکردن. این مطالعه، نشان می‌دهد که اختلاف جهش در جمعیت‌ها که به صورت خانوادگی مبتلا هستند، بیشتر است (١٧). در مطالعه‌ای حاضر، به منظور بررسی دقیق‌تری جهش‌های این زن در جمعیت‌هایی که به صورت خانوادگی مبتلا هستند، دیگر در نشان‌يلار که شیوع بیشتری دارند. برای تعيين نقطه دقیق‌تر این لوسکس، باید مطالعات را به مناطق دیگر و خانواده‌های بیشتر بسط داد تا بتون نقطه این لوسکس را به طور دقیق‌تر بررسی نمود.
منابع پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد جهت تأمین هریمه (با شماره ۱۶۰۰) و همیا کارکنان محترم مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی که در این مطالعه ما را بهار کردن، سیاست‌گذاری می‌گردند.

References


www.mui.ac.ir
Genetic Linkage Analysis of the DFNB63 Locus in Families with Autosomal Recessive Nonsyndromic Hearing Loss from Hamadan and Kohgiluyeh and Boyer-Ahmad Provinces, Iran

Parya Alipour MSc1, Mohammad Amin Tabatabaiefar PhD2, Somayeh Reiisi PhD3, Najmeh Fattahi MSc1, Azam Pourahmadian MSc1, Mortaza Hashemzadeh-Chaleshtori PhD4

Abstract

Background: Hearing loss is a sensorineural impairment and is one of the most widespread congenital impairments with a prevalence of one in thousand among children. Studies have shown that 50 percent of congenital hearing loss have genetic causes and the remaining 50 percent are due to environment and unknown reasons; in addition, it is noted that this impairment is very heterogeneous. Almost 70 percent of cases are nonsyndromic with hearing loss presenting as the only impairment. About 80 percent of this type of hearing loss is inherited in recessive manner (ARNSHL). In this study, we determined the role of DFNB63 locus in a series of families in two western provinces of Iran.

Methods: In this descriptive-laboratory study, to determine the prevalence of DFNB63 mutations in western provinces of Iran, we studied 150 individuals from 30 families in Hamadan and Kohgiluyeh and Boyer-Ahmad provinces. The selected families in this study were consanguineous, had at least 2 patients, and were negative for GJB2 mutations. Linkage analysis was performed using six appropriate short tandem repeats (STR) markers.

Findings: With linkage analysis of selected families, no family was shown to be linked to the DFNB63 locus. It was shown that the LRTOMT mutations played no role in causing hearing loss in the studied families.

Conclusion: The present study suggests that LRTOMT mutations may not be clinically important in causing autosomal recessive nonsyndromic hearing loss in the investigated provinces.

Keywords: DFNB63, LRTOMT gene, Autosomal recessive nonsyndromic hearing loss, Genetic linkage analysis, Iran