بررسی پلی‌مورفیسم تکرارهای T در افراد سالم و بیماران فیبروز کیستی در استان مازندران

هاله اخوان نیاکی[1*]، رضا طبری‌پور[2]
محمد رضا اسمعیلی دوکی[3]
ماندانا عزیزی[4]، جواد توکلی بزاز[5]
باقر لاریجانی[6]

۱- مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و ملکولی، دانشگاه علوم پزشکی بابل
۲- دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران
۳- مرکز تحقیقات بیماری‌های غیر واگیر اطفال، دانشگاه علوم پزشکی بابل
۴- آزمایشگاه ژنتیک، بیمارستان کودکان امیرکلا
۵- گروه ژنتیک دانشگاه علوم پزشکی تهران
۶- مرکز تحقیقات غدد درون ریز دانشگاه علوم پزشکی تهران

[*] نویسنده مسئول: بابل، خیابان گنج افروز، دانشگاه علوم پزشکی بابل، مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و ملکولی
تلفن: ۰۱۱۱-۲۲۳۴۶۵۰
email: halehakhavan@yahoo.com

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۸/۰۸/۰۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۸/۱۱/۰۳

چکیده

زمینه و هدف: فیبروز کیستی یک بیماری اتوزومال مغلوب شایع در میان سفیدپوستان است و منجر به اختلال در عملکرد غدد برون‌ریز می‌شود که ناشی از جهش در ژن پروتیین تنظیم‌کننده کانال عبور غشایی فیبروز کیستی (CFTR) است. علایم فنوتیپی در این بیماری بسیار متنوع و نتیجه طیف وسیع جهش‌ها در ژن CFTR است. این تحقیق به بررسی پلی‌مورفیسم تکرارهای پلی تیمین (T_9 , T_7 , T_5) در اینترون هشت ژن CFTR در افراد سالم و مبتلا در استان مازندران پرداخته است. ***روش بررسی:*** ۴۰ کودک مبتلا به فیبروز کیستی و ۴۰ فرد سالم ساکن استان مازندران برای پلی‌مورفیسم پلی تیمین در اینترون هشت ژن CFTR با استفاده از روش Reverse dot blot بررسی شدند. ***یافته‌ها:*** تکرار T_7 در افراد سالم و مبتلا شایع‌ترین و فراوانی آللی آن حدود ۷۵٪ است. فراوانی آللی تکرارهای T_9 و T_5 به‌ترتیب حدود ۲۰٪ و ۵٪ می‌باشد. ژنوتیپ‌های T_7/T_7 در هر دو گروه شایع‌ترین و به‌ترتیب از فراوانی ۷۲/۵٪ و ۶۰٪ در افراد سالم و بیمار برخوردارند. ژنوتیپ‌های T_5/T_9 و T_5/T_5 در این مطالعه مشاهده نشدند. ۲۲/۵٪ افراد سالم و ۳۰٪ افراد بیمار ژنوتیپ هتروزیگوت داشتند. ***نتیجه‌گیری:*** با توجه به فراوانی آلل‌های T_5، T_7، T_9 و وجود ۲۲/۵ الی ۳۰ درصد ژنوتیپ هتروزیگوت در افراد بررسی شده، پلی‌مورفیسم تکرارهای T در اینترون هشت می‌تواند به‌عنوان مارکر برای ردیابی آلل‌های سالم و جهش‌یافته در تشخیص پیش از تولد یا شناسایی ناقلین با سابقه بیماری در خانواده استفاده شود.

کلمات کلیدی: پلی مورفیسم، فیبروز کیستی، Reverse Dot Blot، CFTR.

مقدمه

فیبروز کیستی Cystic Fibrosis (CF) شایع‌ترین اختلال اتوزومال مغلوب در سفیدپوستان است که به‌دلیل جهش در ژن پروتیین تنظیم‌کننده عبور غشایی فیبروز کیستی (CFTR) که یک کانال کلر را کد می‌کند، ایجاد می‌شود.[1-3] این ژن بر روی لوکوس واحدی در بازوی بلند کروموزوم هفت قرار دارد، که اندازه آن تقریباً ۲۳۰Kb است و از ۲۷ اگزون تشکیل شده است و پروتیینی با ۱۴۸۰ اسید آمینه را کد می‌کند.[4و5] پروتیین CFTR در انواع متعددی از سلول‌ها نظیر سلول‌های اپی تلیال ریه‌ها، غدد تولید کننده موکوس، پانکراس، کبد، غدد عرق و دستگاه تناسلی یافت می‌شود. اگرچه CFTR عمدتاً به‌عنوان کانال کلرید عمل می‌کند، اما نقش‌های تنظیمی متعددی دارد که به‌برخی از آن‌ها نظیر ممانعت از عمل انتقال سدیم از طریق کانال‌های سدیمی سلول‌های اپی تلیال، تنظیم کانال‌های ATP،[6و7] تنظیم انتقال وزیکول‌های درون سلولی و ممانعت از فعالیت کانال‌های کلرید وابسته به کلسیم را می‌توان اشاره کرد.[8-10] تشخیص بیماری CF به‌طور معمول با استفاده از علایم بالینی و غلظت بالای کلرید عرق انجام می‌شود. اختلال در سطوح اپی تلیال به‌عنوان عارضه غالب این بیماری است،[11] که در نتیجه آن انتقال الکترولیت‌ها، آب و دیگر محلول‌ها از خلال غشای سلول دچار نقص شده و منجر به ایجاد علایم بالینی متعددی می‌شود که از میان آن‌ها می‌توان به عفونت‌های مزمن ریوی، نارسایی اگزوکرین پانکراس، ناباروری در مردان و افزایش غلظت کلرید در عرق اشاره کرد. بیش از ۱۸۰۰ جهش یا پلی‌مورفیسم در ژن CFTR شناسایی شد (CF Genetic Analysis Consortium http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/). مطالعات فراوانی این جهش‌ها تفاوت‌های زیادی را بر اساس منشا نژادی و جغرافیایی بیماران نشان می‌دهد. شایع‌ترین جهش ΔF508 است که

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-19]

حدود ۷۰٪ از جهش‌ها را در جمعیت سفیدپوست تشکیل می‌دهد اما فراوانی آن در جمعیت‌های عربی،[۱۳و۱۲] هندی،[۱۴] ایرانی[۱۵] و ترکی[۱۶] بین ۴۴٪ تا ۱۳٪ متغیر است. یکی از پلی‌مورفیسم‌هایی که در ژن CFTR وجود دارد، پلی‌مورفیسم poly T است. بررسی‌های ملکولی نشان داده که یک لوکوس پلی مورفیک polyT در انتهای ´۳ اینترون هشت ژن CFTR است که در پردازش صحیح اگزون ۹ نقش مهمی دارد.[۱۷] سه آلل در این لوکوس گزارش شده که شامل تکرارهای T_9 , T_7 , T_5 می‌باشد. بررسی‌ها نشان داده که در افراد بیمار تکرارهای T_5 در پردازش نادرست اگزون ۹ دخالت دارد.[۱۷] با توجه به این‌که تکرارهای T_5 نه تنها در افراد بیمار، بلکه در افراد سالم نیز وجود دارد می‌توان گفت که این جهش نفوذ ناقص دارد و احتمالاً وجود جهش یا پلی‌مورفیسم‌های دیگر به‌طور همزمان می‌توانند به‌همراه تکرارهای T در پردازش اگزون ۹ دخالت داشته باشند.[۱۷] مطالعات مربوط به این پلی‌مورفیسم عمدتاً در مردان نازای مبتلا به CF انجام شده است.[۲۰-۱۸] این تحقیق به بررسی پلی‌مورفیسم تکرارهای تیمین (T_9 , T_7 , T_5) در اینترون هشت ژن CFTR در افراد سالم و کودکان مبتلا به CF در استان مازندران با استفاده از روش Reverse Dot Blot پرداخته است.

روش بررسی

در این مطالعه توصیفی- تحلیلی، ۴۰ فرد سالم و ۴۰ کودک یک‌ماهه تا ۱۲ ساله اهل‌مازندران که براساس علایم بالینی‌و یا تست عرق مبتلا به فیبروز کیستی تشخیص داده شده و در سال‌های ۱۳۸۶ و ۱۳۸۷ به آزمایشگاه ژنتیک بیمارستان کودکان امیرکلا وابسته به دانشگاه علوم پزشکی بابل ارجاع شده‌بودند، پس‌از اخذ موافقت‌کتبی، بررسی شدند.

استخراج DNA: بعد از جمع‌آوری نمونه خون محیطی افراد سالم و مبتلا، DNA به‌روش Alkalin Lysis استخراج گردید.[۲۱]

تکثیر DNA به‌روش PCR: توالی مربوطه که در انتهای اینترون هشت قرار دارد با استفاده از پرایمرهای اختصاصی به‌کمک ترموسایکلر techgene (کمپانی techne انگلستان) تکثیر شد. تکثیر قطعه مورد نظر در حجم ۵۰µl با حضور dNTPs ۲۰۰µM، Mgcl2 ۱/۵mM، ۲۰۰nM از هر یک از پرایمرهای بیوتینیله، ۱/۵ واحد Taq DNA Polymerase انجام شد. توالی پرایمرها در جدول ۱ آمده است. شرایط تکثیر DNA در ترموسایکلر 94^{oC} سه دقیقه، سپس ۳۰ بار در 94^{oC} یک دقیقه، 58^{oC} یک دقیقه، 72^{oC}، ۴۵ ثانیه و نهایتاً 72^{oC} پنج دقیقه بود.

تعیین نوع تکرارهای تیمین با استفاده از Reverse Dot Blot: روش Reverse Dot Blot (RDB) از روش‌های مهم، سریع، دقیق و غیر رادیواکتیو است که در تعیین جهش‌های شناخته شده در انسان به‌کار می‌رود. اصول و جزییات این روش توسط Chehab توصیف شده است.[۲۲] در این روش محصولات PCR بیوتینیله جهت دورگه‌گیری (Hybridization) با پروب‌های مخصوص توالی‌هایی با تکرارهای T_9 , T_7 , T_5 که بر روی نوارهای Biodyne C قرار داده شده‌اند، مورد استفاده قرار می‌گیرد (توالی پروب‌ها در جدول ۱). پس از دو رگه‌گیری، آنزیم پراکسیداز متصل شده به استرپتاویدین را به واکنش اضافه کرده و در صورتی که اسید نوکلئیک با پروب مربوطه هیبرید شده باشد، واکنش شیمیایی رنگ‌زا در حضور تترامتیل بنزیدین و آب اکسیژنه اجازه رویت لکه‌های آبی‌رنگ و در نتیجه تشخیص چگونگی دورگه‌گیری محصول PCR با هر یک از پروب‌ها را خواهد داد.

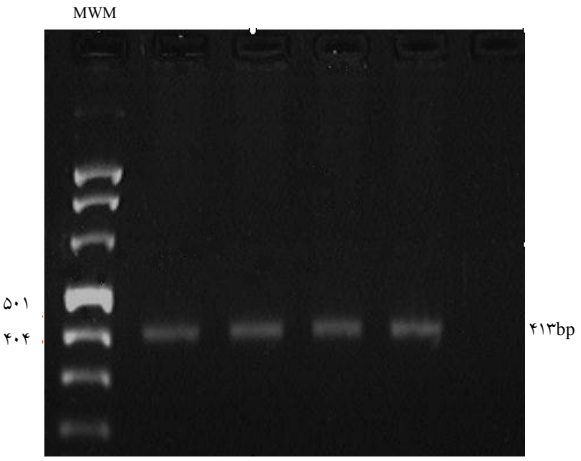
یافته‌ها

در این مطالعه ۴۰ فرد بیمار (۸۰ آلل) و ۴۰ فرد سالم (۸۰ آلل) برای پلی‌مورفیسم تکرارهای تیمین در اینترون هشت ژن CFTR بررسی شدند و ژنوتیپ افراد سالم و بیمار برای توالی‌های تکرارهای تیمین پس از انجام واکنش PCR و Reverse Dot Blot مشخص شد. شکل ۱ نتیجه واکنش PCR و شکل ۲ نتیجه واکنش RDB را نشان می‌دهد. جدول ۲ فراوانی هر یک از آلل‌ها را در افراد سالم و افراد مبتلا به CF نشان می‌دهد. تکرارهای T_7 بیشترین فراوانی را نشان می‌دهد و به‌ترتیب ۸۳/۷۵٪ و ۷۵٪ آلل‌های افراد سالم و بیمار را شامل می‌شود. تکرارهای T_5 کمترین فراوانی را دارد و به‌ترتیب ۶/۲۵٪ و ۵٪ آلل‌های افراد سالم و بیمار را شامل می‌شود. جدول ۳ فراوانی ژنوتیپ‌های مختلف را نشان می‌دهد. ژنوتیپ هموزیگوت T_7/T_7 در هر دو گروه شایع‌ترین ژنوتیپ است و به‌ترتیب ۷۲/۵٪ و ۶۰٪ افراد سالم و بیمار را تشکیل می‌دهد. در افراد سالم ۲۲/۵٪ ژنوتیپ‌ها هتروزیگوت (T_7/T_5 یا T_7/T_9) و در افراد بیمار ۳۰٪ ژنوتیپ‌ها هتروزیگوت (T_7/T_5

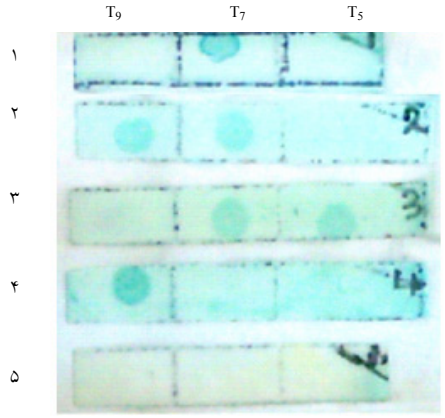
جدول-۱: توالی نوکلئوتیدی پرایمرها و پروب‌های مورد استفاده

5′- CATAAAACAAGCATCTATTGAAAAT -3′	Forward	**Primers**
5′- CACTACACCCATACATTCTCCT -3′	Reverse	
5′- GTGTGTGTTTTTAACAGG -3′	IVS8-5T	
5′- TGTGTGTTTTTTTAACAGG -3′	IVS8-7T	**Probes**
5′- TGTGTGTTTTTTTTTAACAG -3′	IVS8-9T	

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-19]



شکل-۱: نتیجه واکنش PCR



شکل-۲: نتیجه واکنش Reverse Dot Blot: ردیف‌های ۱، ۲، ۳ و ۴ نتیجه واکنش Reverse Dot Blot را به‌ترتیب برای افرادی با ژنوتیپ T_7/T_7، T_7/T_9، T_7/T_5 و T_9/T_9 نشان می‌دهد. ردیف ۵ نشان‌دهنده کنترل منفی (بدون محصول PCR) است.

یا T_7/T_9) بودند. سایر ژنوتیپ‌ها مانند T_5/T_9 و T_5/T_5 در جمعیت مورد مطالعه یافت نشدند. قطعه DNA به طول ۴۱۳ جفت باز حاوی تکرارهای تیمین در اینترون هشت ژن CFTR بااستفاده از پرایمرهای اختصاصی تکثیر شد. اندازه‌قطعه توسط نشان‌گر ملکولی از شرکت Roche در ستون چپ تایید شده است.

بحث

۴۰ فرد سالم و ۴۰ فرد مبتلا به بیماری سیستیک فایبروزیس ساکن استان مازندران برای پلی‌مورفیسم تکرارهای تیمین که در اینترون هشت ژن CFTR قرار دارد با استفاده از روش Reverse Dot Blot بررسی شدند. سه آلل در این لوکوس با تکرارهای تیمین ۵، ۷ و ۹

جدول-۲: فراوانی آلل‌های T_5 و T_7 و T_9 در افراد سالم و بیمار

نوع آللی	فراوانی آلل‌ها در افراد سالم (درصد)	فراوانی آلل‌ها در افراد بیمار (درصد)
T_7	۸۳/۷۵	۷۵
T_9	۱۰	۲۰
T_5	۶/۲۵	۵

جدول-۳: فراوانی ژنوتیپ‌های مختلف در افراد سالم و بیمار

ژنوتیپ	T_7/T_7	T_7/T_9	T_7/T_5	T_9/T_9
افراد سالم	٪۷۲/۵	٪۱۰	٪۱۲/۵	٪۵
افراد بیمار	٪۶۰	٪۲۰	٪۱۰	٪۱۰

(T_9, T_7 , T_5) وجود دارد که تعداد تکرارها بر پردازش اگزون ۹ mRNA ژن CFTR تاثیر می‌گذارد. در این بررسی مشخص شده که آلل T_7 بیشترین فراوانی را در افراد سالم و بیمار (به‌ترتیب ۸۳/۷۵ و ٪۷۵) دارد و آلل T_5 کمترین فراوانی را در افراد سالم و بیمار (به‌ترتیب ۶/۲۵٪ و ٪۵) نشان می‌دهد. همچنین چهار ژنوتیپ T_7/T_5، T_7/T_7، T_7/T_9 و T_9/T_9 با فراوانی‌های متفاوت در افراد سالم و بیمار یافت شد که از این میان ژنوتیپ هموزیگوت T_7/T_7 بیشترین فراوانی را در افراد سالم و بیمار (به‌ترتیب ٪۷۲/۵ و ٪۶۰) نشان داده است. فراوانی ژنوتیپ هموزیگوت T_9/T_9 نیز در افراد سالم و بیمار به‌ترتیب ٪۵ و ٪۱۰ بوده است. در حدود ٪۳۰-٪۲۰ موارد، ژنوتیپ به‌صورت هتروزیگوت بوده است. از آنجایی‌که ژن CFTR، ژن بزرگی است و در حدود ۲۳۰kb طول دارد و حاوی ۲۷ اگزون می‌باشد، جهش‌های متعددی می‌تواند در آن رخ دهد که بسیاری از آن‌ها منجر به ایجاد بیماری می‌شود. یکی از روش‌های معمول برای شناسایی حاملین احتمالی که سابقه بیماری در خانواده‌های آن‌ها وجود دارد، بررسی جهش‌های معمول در ژن CFTR است. مهم‌ترین و شایع‌ترین جهش ΔF508 است که حدود ٪۷۰ از جهش‌ها را در جمعیت سفیدپوستان تشکیل می‌دهد اما شیوع آن از شمال غربی تا جنوب شرقی اروپا کاهش می‌یابد و در ایران نیز این کاهش فراوانی مشاهده می‌شود.[۲۳] حدود ٪۲۱-۱۶ جهش‌ها مربوط به این آلل هستند[۱۹و۲۱و۲۴] و در معدود مطالعات انجام شده در ایران که در برخی موارد با تعیین توالی بخش مهمی از ژن CFTR نیز همراه بوده است، بالاترین میزان شناسایی جهش‌ها ٪۸۱/۹ بوده است[۲۳] و بسیاری از جهش‌ها تنها یک‌بار گزارش شده‌اند. به‌همین دلیل غالباً تشخیص ملکولی بیماری در افراد

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-19]

دارای علایم بالینی فیبروز کیستی یا افراد ناقل احتمالی با استفاده از روش‌های معمول تعیین جهش دشوار و نیازمند زمان زیادی است و استفاده از فرآیند تعیین توالی نیز به‌دلیل گستردگی ژن مقرون به‌صرفه نمی‌باشد. به‌منظور دسترسی به روش‌های مناسب تشخیص پیش از تولد بیماری CF در خانواده‌های با سابقه ابتلا، از پلی‌مورفیسم تکرارهای تیمین در اینترون هشت به‌عنوان یک مارکر ملکولی در ارزیابی امکان ردیابی آلل سالم و جهش‌یافته در افراد با سابقه بیماری در خانواده، استفاده گردید. مطالعات مربوط به این پلی‌مورفیسم عمدتاً در مردان نازای مبتلا به CF انجام شده و در این مطالعات نیز آلل T_7 بیشترین فراوانی را داشت.[۱۸-۲۰] نتایج مطالعات حاضر نشان می‌دهد که حدود ۳۰-۲۰٪ افراد دارای ژنوتیپ هتروزیگوت می‌باشند. در نتیجه می‌توان از تکرارهای T در ردیابی آلل سالم و جهش‌یافته در تشخیص‌های قبل از تولد استفاده کرد. به‌کارگیری این مارکر به‌همراه بررسی دیگر پلی‌مورفیسم‌ها در ایران می‌تواند باعث افزایش احتمال ردیابی آلل سالم و جهش‌یافته در افرادی با سابقه بیماری در خانواده برای انجام تشخیص‌های قبل از تولد فیبروز کیستی شود.

References

1. Rommens JM, Iannuzzi MC, Kerem BS, Drumm ML, Melmer G, Dean M, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: chromosome walking and jumping. *Science* 1989; 245(4922):1059-65.
2. Riordan JR, Rommens JM, Kerem B, Alon N, Rozmahel R, Grzelczak Z, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. *Science* 1989;245(4922):1066-73.
3. Kerem B, Rommens JM, Buchanan JA, Markiewicz D, Cox TK, Chakravarti A, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: genetic analysis. *Science* 1989;245(4922):1073-80.
4. McCarthy VA, Harris A. The CFTR gene and regulation of its expression. *Pediatr Pulmonol* 2005;40(1):1-8.
5. Zielenski J, Rozmahel R, Bozon D, Kerem B, Grzelczak Z, Riordan JR, et al. Genomic DNA sequence of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) gene. *Genomics* 1991;10(1):214-28.
6. Reisin IL, Prat AG, Abraham EH, Amara JF, Gregory RJ, Ausiello DA, et al. The cystic fibrosis transmembrane conductance regulator is a dual ATP and chloride channel. *J Biol Chem* 1994;269(32):20584-91.
7. Schwiebert EM, Egan ME, Hwang TH, Fulmer SB, Allen SS, Cutting GR, et al. CFTR regulates outwardly rectifying chloride channels through an autocrine mechanism involving ATP. *Cell* 1995;81(7):1063-73.
8. Stutts MJ, Canessa CM, Olsen JC, Hamrick M, Cohn JA, Rossier BC, et al. CFTR as a cAMP-dependent regulator of sodium channels. *Science* 1995;269(5225):847-50.
9. Vankeerberghen A, Cuppens H, Cassiman JJ. The cystic fibrosis transmembrane conductance regulator: an intriguing protein with pleiotropic functions. *J Cyst Fibros* 2002;1(1):13-29.
10. Mehta A. CFTR: more than just a chloride channel. *Pediatr Pulmonol* 2005;39(4):292-8.
11. Welsh MJ, Fick RB. Cystic fibrosis. *J Clin Invest* 1987;80(6):1523-6.
12. Kambouris M, Banjar H, Moggari I, Nazer H, Al-Hamed M, Meyer BF. Identification of novel mutations in Arabs with cystic fibrosis and their impact on the cystic fibrosis transmembrane regulator mutation detection rate in Arab populations. *Eur J Pediatr* 2000;159(5):303-9.
13. Eskandarani HA. Cystic fibrosis transmembrane regulator gene mutations in Bahrain. *J Trop Pediatr* 2002;48(6):348-50.
14. Ashavaid TF, Kondkar AA, Dherai AJ, Raghavan R, Udani SV, Udwadia ZF, et al. Application of multiplex ARMS and SSCP/HD analysis in molecular diagnosis of cystic fibrosis in Indian patients. *Mol Diagn* 2005;9(2):59-66.
15. Jalalirad M, Houshmand M, Mirfakhraie R, Goharbari MH, Mirzajani F. First study of CF mutations in the CFTR gene of Iranian patients: detection of DeltaF508, G542X, W1282X, A120T, R117H, and R347H mutations. *J Trop Pediatr* 2004;50(6):359-61.
16. Yilmaz E, Erdem H, Ozgüç M, Coşkun T, Ozçelik U, Göçmen A, et al. Study of 12 mutations in Turkish cystic fibrosis patients. *Hum Hered* 1995;45(3):175-7.
17. Niksic M, Romano M, Buratti E, Pagani F, Baralle FE. Functional analysis of cis-acting elements regulating the alternative splicing of human CFTR exon 9. *Hum Mol Genet* 1999;8(13):2339-49.
18. Radpour R, Gilani MA, Gourabi H, Dizaj AV, Mollamohamadi S. Molecular analysis of the IVS8-T splice variant 5T and M470V exon 10 missense polymorphism in Iranian males with congenital bilateral absence of the vas deferens. *Mol Hum Reprod* 2006;12(7):469-73.
19. Ravnik-Glavac M, Dean M, Glavac D. Study of mutant and polyvariant mutant CFTR genes in patients with congenital absence of the vas deferens. *Pflugers Arch* 2000;439(3 Suppl):R53-5.
20. Radpour R, Gourabi H, Gilani MA, Dizaj AV. Molecular study of (TG)m(T)n polymorphisms in Iranian males with congenital bilateral absence of the vas deferens. *J Androl* 2007;28(4):541-7.
21. Akhavan Niaki H, Esmaeili Dooki MR, Ghabeli Juibary A. Common CFTR gene mutation in cystic fibrosis patients in Mazandaran province, Iran. *J Gorgan Uni Med Sci* 2008;10:38-44.
22. Chehab FF, Wall J. Detection of multiple cystic fibrosis mutations by reverse dot blot hybridization: a technology for carrier screening. *Hum Genet* 1992;89(2):163-8.
23. Alibakhshi R, Kianishirazi R, Cassiman JJ, Zamani M, Cuppens H. Analysis of the CFTR gene in Iranian cystic fibrosis patients: identification of eight novel mutations. *J Cyst Fibros* 2008;7(2):102-9.
24. Elahi E, Khodadad A, Kupershmidt I, Ghasemi F, Alinasab B, Naghizadeh R, et al. A haplotype framework for cystic fibrosis mutations in Iran. *J Mol Diagn* 2006;8(1):119-27.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-19]

Tehran University Medical Journal; Vol. 68, No. 1, Apr 2010: 19-23

Poly T polymorphism consideration in normal individuals and cystic fibrosis patients in Mazandaran province, Iran

Haleh Akhavan Niaki Ph.D.[1*]
Reza Tabaripour M.S.[2]
Mohammad Reza Esmaeeli Douki M.D.[3]
Mandana Azizi B.S.[4]
Javad Tavakoli Bazzaz Ph.D.[5]
Bagher Larijani M.D.[6]

1- Cellular and Molecular Biology Research Center, Babol University of Medical Sciences
2- Islamic Azad University, Science and Research Branch, Cellular and Molecular Biology Department, Tehran
3- Non-Contagious Research Center for Children, Babol University Of Medical Sciences
4- Genetic Laboratory Of Amirkola Children Hospital
5- Department of Genetic, Tehran University Of Medical Sciences
6- Endocrine Research Center, Tehran University Of Medical Sciences

[*] Corresponding author: Ganj Afrooz Ave., Babol University Of Medical Sciences, Cellular and Molecular Research Center, Babol, Iran
Tel: +98-111-2234650
email: halehakhavan@yahoo.com

Received: October 24, 2009 Accepted: January 23, 2010

Abstract

Background: Cystic fibrosis is a monogenic recessive disorder founds predominantly in caucasian population causes exocrine glands function defect. This disease arises from mutations in the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) gene. Because of heterogeneity of the mutations in CFTR gene, phenotypic symptoms in this disease are very variable. In this study we consider poly T polymorphism (T_5, T_7, T_9) in the intron 8 of CFTR gene in normal individuals and cystic fibrosis patients in mazandaran province.

Methods: Forty cases of cystic fibrosis patients and 40 normal individuals were screened for poly T polymorphism in intron 8 of CFTR gene using Reverse Dot Blot method.

Results: T_7 allele is the most prevalent in normal individuals and CF patients and it's abundance is approximately 75%. T_9 and T_5 represent approximately 20% and 5% of normal or mutant alleles respectively. T_7/T_7 genotypes in normal individuals and CF patients are the most prevalent with 72.5% and 60% prevalence rate, respectively. T_5/T_9 and T_5/T_5 genotypes were not found. 22.5% of normal individuals and 30% of CF patients had heterozygote genotypes.

Conclusion: The abundance of T_5, T_7, T_9 alleles and the presence of 22.5-30% heterozygote genotypes in normal individuals and CF patients indicates that poly T polymorphism in intron 8 of CFTR gene can be used as a marker for detection of normal and mutant alleles in prenatal diagnosis or can be used in carrier assessment in families with previous history of the disease.

Keywords: Polymorphism, cystic fibrosis, reverse dot blot, CFTR.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-19]