ارتباط ناشنوایی غیرسندرمی اتوزومی مغلوب با جهش‌های ژن DFNB59 (پژواکین)

مقاله پژوهشی

مرضیه ابوالحسنی[1]، عفت فرخی[2]، محسن نوربخش[3]، مریم طاهرزاده[2]
فاطمه آزادگان[1]، اعظم عسگری[4]، مرتضی هاشم‌زاده[5]

۱. کارشناس ژنتیک، مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهرکرد
۲. کارشناس ارشد بیوشیمی، مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهرکرد
۳. دانشجوی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهرکرد
۴. کارشناس ارشد فیزیولوژی جانوری، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهرکرد
۵. استاد ژنتیک انسانی، مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهرکرد

تاریخ دریافت مقاله: ۸۸/۱۱/۷
تاریخ پذیرش مقاله: ۸۹/۴/۲۶

چکیده

زمینه و هدف: ناشنوایی شایعترین اختلالی می‌باشد که میلیون‌ها نفر را در سراسر جهان با فراوانی حدود یک در هزار تولد جدید، تحت تاثیر قرار داده‌است. اخیرا مشخص شده است که یک ژن جدید به نام DFNB59 که پروتئین پژواکین را کد می‌کند، در ایجاد ناشنوایی عصبی نقش دارد. هدف این مطالعه تعیین فراوانی جهش‌ها در ژن DFNB59 در ۹۳ دانش‌آموز ناشنوا در استان سیستان و بلوچستان می‌باشد.

مواد و روش کار: در این مطالعه‌ی توصیفی آزمایشگاهی۹۳ دانش‌آموز مبتلا به ناشنوایی غیرسندرمی از استان سیستان و بلوچستان، شامل ۵۳ پسر و ۴۰ دختر در محدوده‌ی سنی ۲۵-۷ سال به‌روش تصادفی آسان انتخاب واز هر یک پنج میلی‌لیتر خون گرفته شد؛ DNA خون به‌روش استاندارد فنل‌کلروفرم استخراج گردید. فراوانی جهش‌ها را در ژن DFNB59، در نواحی رمزگذارآن (اگزون ۷-۲)، به روش PCR-SSCP/HA مورد بررسی قراردادیم.

یافته‌ها: در نمونه‌های مورد مطالعه هیچ‌گونه جهش بیماری‌زا تشخیص داده نشد، اگرچه یک نوع چند شکلی 793 C>G در سه نمونه از ۹۳ دانش‌آموز مورد مطالعه (٪۳/۲) شناسایی گردید.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه هیچ‌گونه ارتباطی بین جهش‌های ژن DFNB59 و ناشنوایی در استان سیستان و بلوچستان نشان نداد. [م ت ع پ ز، ۱۲(۳):۲۳-۱۹]

کلیدواژه‌ها: واکنش زنجیره‌ای پلیمراز، چند شکلی فضایی تک رشته، آنالیز هترودوپلکس، پژواکین، ناشنوایی

مقدمه

ناشنوایی اختلالی بسیار هتروژن است، که در نتیجه‌ی عوامل ژنتیکی و محیطی یا هر دو ایجاد می‌شود. فراوانی آن حدود یک در هزار تولد جدید می‌باشد.[1] تقریبا نیمی از موارد آن ارثی می‌باشد که به دو فرم سندرمیک (٪۳۰) و غیرسندرمیک (٪۷۰) در جمعیت‌ها مشاهده می‌گردند.[2،3] حدود ۸۰ درصد از موارد غیرسندرمیک وراثت اتوزومال مغلوب دارند.[4] ۶۷ جایگاه ژنی درایجاد ناشنوایی غیرسندرمیک اتوزومال مغلوب نقش دارند که در ۲۶ جایگاه ژنی، ژن مربوط به ناشنوایی شناسایی شده است.[5] در حالی‌که اغلب ژن‌های درگیر در ناشنوایی‌ها منجر به عملکرد نادرست حلزون گوش می‌شوند، تنها دو دسته ژن درنارسایی نوروپاتی نقش دارند.[5-7] یکی از آن‌ها کانکسین 26 (GJB2) می‌باشد که جهش‌های این ژن در ایران، نسبت به ژن DFNB59 نقش بیشتری در ایجاد ناشنوایی دارد.[8] ژن DFNB59 روی بازوی بلند کروموزوم شماره دو (2q31.2) قرار دارد و ۹/۸ kb از ژنوم را به خود اختصاص داده و شامل هفت اگزون می‌باشد، اگزون شماره یک غیررمزگذار (non-coding) است وپروتئینی به نام پژواکین (پلی‌پپتیدی شامل ۳۵۲ آمینواسید) راکد می‌کند.[5] دلمقانی و همکارانش برای اولین‌بار توالی کامل ژن پژواکین را در جایگاه ژنی DFNB59 شناسایی کردند. آن‌ها توالی کامل ژن را از کتابخانه cDNA مربوط به بافت بیضه انسانی جدا کردند و جهش‌های این ژن را به‌عنوان عامل ناشنوایی عصبی در چهار خانواده ایرانی گزارش نمودند.[5] سایر پژوهشگران نیز در مطالعات جداگانه‌ای جهش‌های توالی این ژن را مورد بررسی قرار دادند.[8-11] به علت نحوه‌ی انتقال بیماری به‌صورت اتوزومال مغلوب، انتظار می‌رود که بروز این بیماری در جمعیت‌های با میزان بالاتر ازدواج فامیلی، بیشتر باشد. ۱۷۰۲۶ دانش‌آموز مبتلا به اختلالات شنوایی در مدارس استثنایی کشور مشغول به تحصیل هستند.[12] با توجه به درصد بالای ازدواج فامیلی در استان سیستان و بلوچستان و به منظور ارزیابی میزان تاثیر ژن پژواکین در ناشنوایی‌های پیش‌زبانی، وجود جهش در این ژن را در مبتلایان به ناشنوایی فامیلی در استان سیستان و بلوچستان مورد مطالعه قرار دادیم.

روش کار

این مطالعه‌ی توصیفی آزمایشگاهی در بهار و تابستان سال ۸۸ و در مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی شهرکرد انجام شد و پس از کسب رضایت‌نامه کتبی آگاهانه از والدین دانش‌آموزان ۹۳ دانش‌آموز مبتلا به ناشنوایی غیرسندرمی از سراسر استان سیستان و بلوچستان، شامل ۵۳ پسر و ۴۰ دختر در محدوده‌ی سنی ۲۵-۷ سال انتخاب شدند. این دانش‌آموزان دارای سابقه ازدواج فامیلی در خانواده بوده و از نظر جهش‌های ژن

آدرس نویسنده مسئول: شهرکرد، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشکده پزشکی
email: mcjalesh@yahoo.com

Archive
www.SID.ir

GJB2 منفی گزارش شده بودند. بیماران ناشنوای اتوزومال مغلوب غیر سندرمی واجد شرایط ورود به مطالعه بودند. لازم به ذکر است که وجود جهش‌های ژن کانکسین 26 (GJB2) در نمونه‌ها معیار خروج از مطالعه تلقی شد.[۱۳]

نمونه‌گیری به روش در دسترس و غیرتصادفی (از دانش آموزان ناشنوای استان سیستان و بلوچستان) انجام و اطلاعات بالینی و دموگرافیک به‌وسیله پرسشنامه گردآوری شد. جهت کلیه‌ی بیماران اودیومتری انجام و ۵ میلی‌لیتر خون محیطی در لوله‌های محتوی EDTA نیم‌مولار اخذ گردید و به مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد انتقال داده شد. بررسی ژن DFNB59 از اوایل سال ۸۸ آغاز گردید. DNA خون بیماران به‌روش استاندارد فنل-کلروفرم[۱۴] استخراج و جذب آن‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر Unico 2100 ساخت کشور آمریکا، اندازه‌گیری شد. حدود ۱۰۰ نانوگرم DNA برای هر واکنش PCR درنظر گرفته شد. توالی ژن DFNB59 ازطریق سایت UCSC وآدرس http//:genom.ucsc.edu/ مورد بررسی قرارگرفت و با استفاده از نرم افزار Primer3، برای اگزون‌های دو تا هفت این ژن پرایمر طراحی گردید. با توجه به طول اگزون شماره هفت، این اگزون به دو قسمت تقسیم و دو جفت پرایمر 7A و 7B برای آن طراحی شد. قابل ذکر است که محصولات RCR با طول بیشتر از ۳۵۰ bp برای روش RCR-SSCP/HA کارایی ندارند.[۱۵] در اگزون‌های سه تا پنج که نمونه‌ی کنترل مثبت جهت مقایسه در دسترس نبود، با استفاده از روش site directed mutagenesis، پرایمرهای موتانت طراحی شد و به عنوان کنترل مثبت در آزمایشات استفاده شد. دمای چسبیدن پرایمر در اگزون‌های ۴-۲ به‌صورت Touch down تنظیم گردید به‌طوری که در هر سیکل دما یک درجه کاهش یافت (جدول ۱).

واکنش PCR برای هر اگزون به‌طور اختصاصی و به‌منظور افزایش قطعه‌ی مورد نظر، در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر انجام شد. به این منظور به یک میکرولیتر از DNA رقیق شده‌ی بیمار، ترکیبات مورد نیاز برای انجام واکنش شامل ۱۷/۷ میکرولیتر آب مقطر استریل، ۲/۵ میکرولیتر بافر PCR، ۲۳ میکرولیتر کلریدمنیزیم (با غلظت ۵۰ میلی‌مول)، ۰/۵ میکرولیتر dNTP (با غلظت ۱۰ میلی‌مول)، ۰/۲ میکرولیتر پرایمر R، ۰/۲ میکرولیتر پرایمر F (غلظت پرایمرها ppm ۱۰)، ۰/۱میکرولیتر آنزیم Taq پلیمراز (غلظت u/µ ۵) افزوده شد. این واکنش در دستگاه ترموسایکلر ASTEC PC818 ساخت کشور ژاپن صورت پذیرفت. در مرحله‌ی Single Strand Conformational Polymorphism (SSCP)، ۸ میکرولیتر از محصولات PCR به میکروتیوب‌های حاوی ۶ میکرولیتر بافر دناتوره اضافه شد[۱۶] و به مدت ده دقیقه در آب جوش قرار گرفتند و سپس بلافاصله، نمونه‌ها به ظرف حاوی یخ منتقل گردیدند و به مدت حداقل پنج دقیقه روی یخ نگهداری شدند. هم‌چنین به‌طور هم‌زمان دو میکرولیتر از هر محصول PCR با سه میکرولیتر از EDTA نیم مولار مخلوط و در دستگاه ترموسایکلر به حرارت $96^{o}C$ رسانده شد و سپس طی ۳۰ سیکل متوالی ۳۰ ثانیه‌ای حرارت کاهش یافته و به $36^{o}C$ رسانده شد تا درصورت وجود اختلال آللی، هترودوپلکس‌ها تشکیل شوند. سپس محصول هترودوپلکس هر میکروتیوب با محصول SSCP هم شماره‌ی آن مخلوط و روی ژل پلی‌اکریل‌آمید الکتروفورز شدند. شرایط الکتروفورز SSCP/HA (شامل درصد ژل، ولتاژ، دما و زمان) که به‌طور تجربی به‌دست آمد (جدول ۲). در پایان جهت اطمینان از نتایج به‌دست آمده، نمونه‌هایی که الگوی متفاوتی از باند را نشان داده بودند، توسط سیستم ABI (capillary system) XL ۳۷۳۰ تعیین توالی گردیدند.

جدول ۱: توالی پرایمرها، طول قطعه و دمای چسبیدن پرایمر

اگزون	توالی پرایمر	دمای چسبیدن	طول قطعه
2	: 5’ ATG GAT TTA TCT GGG GGT TGC 3'2F : 5’ ACA GAT GAA TGA GTT GGC ACT CC 3'2R	۵۳-۶۰°C	۲۹۶bp
3	: 5’ ACT GAG TTT CTT CTT ATA AAG G 3'3F : 5’ TTA GGA TTA TTA TAC TGA CCG 3'3R F3M**:5’ ACT GAG TTT CTT CTT AG*A AAG 3G	۵۵-۶۰°C	۲۳۶bp
4	: 5’ TAC TAT TAG GTG AAC TAT GAA TG 3'4F : 5’ AGT TAG TAA GAG AAC CCA AC 3’4R F4M **:5’ TAC TAT TAG GTG AAC TAC* GAA TG 3	۵۴-۶۲°C	۲۸۲bp
5	: 5’ AGC TAT CCT TAC ATG TTA TGA TCC 3'5F : 5’ TCA TGC AGA CCC TTA ACT CAC 3'5 R F5M**:5 ’ AGC TAT CCT TAC ATG TTA G*GA TCC 3	۵۸°C	۱۹۲bp
6	F: 5’TTC ATC ACC CCA TCA AAC AA 3'6R R :5’TCA TGT GTT AAG CCA GGA AA3’ 6R	۵۳°C	۲۳۱bp
7A	AF:5'CAC ATT TCT TTT CTG TTT TT 3'7R AR:5'GAA GTT CCC CAT TCC ACA GA3'7R	۵۳°C	۲۱۵bp
7B	BF:5'GAA GGG ACC CAT ATC CGA GT37R BR:5'GTG GCA CAA CTG ACA CTA AA3'7R	۵۸°	۲۳۸bp

F: پرایمر Forward، R: پرایمر Reverse، Fm: پرایمر جهش یافته ی Forward، * نوکلئوتید جهش یافته در پرایمر Forward .

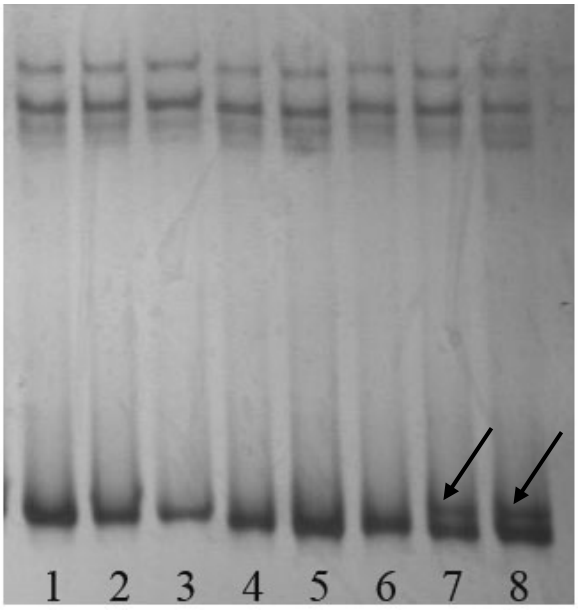
Archive of SID
www.SID.ir

جدول۲: برنامه تنظیم شده الکتروفورز محصولات SSCP و HA اگزون‌های ژن پژواکین

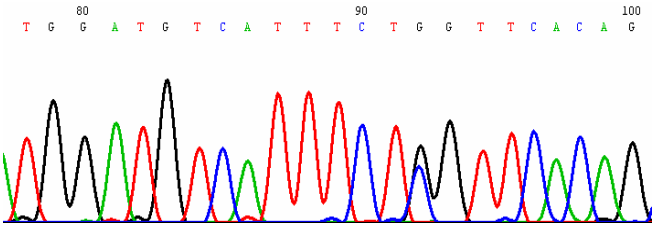
اگزون	ولتاژ	دما	زمان	درصد ژل
۲	۲۸۰	۴	۵h	۶٪
۳	۲۰۰	۱۰	۵h	۶٪
۴	۲۰۰	۱۰	vh	۶٪
۵	۲۰۰	۲۰	۵h	۶٪
۶	۱۰۰	۴	۱۵h	۸٪
7A	۲۰۰	۴	۶h	۸٪
7B	۲۸۰	۲۰	۵h	۸٪

یافته‌ها

در این مطالعه ۵۳ دانش‌آموز پسر و ۴۰ دانش‌آموز دختر ناشنوا از استان سیستان و بلوچستان با میانگین سنی ۱۳/۲۸±۰/۴۸ مورد مطالعه قرار گرفتند. نتایج حاصل از PCR-SSCP/HA در اگزون 7A نشان دهنده‌ی سه مورد الگوی باند متفاوت از ۹۳ مورد نمونه‌ی مورد مطالعه بود (تصویر ۱). این نتایج با روش Direct Sequencing مورد تایید قرار گرفت. همه دارای واریانت آللی missense C>G۷۹۳ بودند که این واریانت ژنی بیماری‌زا نبوده و یک چند شکلی (پلی‌مورفیسم) محسوب می‌شود (تصویر ۲). لازم به ذکر است که در سایر اگزون‌ها تفاوتی در باند حاصل از PCR-SSCP/HA مشاهده نگردید.



تصویر ۱: ژل پلی اکریل آمید PCR-SSCP/HA اگزون 7A ژن پژواکین/ شماره های ۸-۱ نمونه‌های بیماران. نمونه‌های شماره ۷و۸ باند متفاوت نشان داده است.



تصویر ۲: نتایج تعیین توالی مربوط به اگزون 7A ژن پژواکین که پلی-مورفیسم 793C>G را نشان می دهد.

بحث

نتایج این مطالعه نشان دهنده‌ی سه مورد واریانت آللی ۷۹۳C>G در اگزون شماره هفت این ژن پژواکین است. درواقع این واریانت آللی که بیانگر پلی‌مورفیسم می‌باشد، نوعی جهش missense محسوب می‌شود.

مطالعات محدودی تاکنون در ایران و سایر نقاط دنیا بر روی این ژن انجام شده است بنابراین اطلاعات محدودی در رابطه با تاثیر ژن DFNB59 بر ناشنوایی غیرسندرومیک در دسترس می‌باشد. به‌طور کلی تاکنون در سراسر دنیا، نُه موتاسیون بیماری‌زا و سه نوع واریانت آللی مرتبط با پلی‌مورفیسم در توالی ژن DFNB59 شناسایی شده است.[۵-۱۱] مطالعات برروی ژن پژواکین برای اولین‌بار توسط دلمقانی و همکارانش در ایران انجام شد، که منجر به کشف دو جهش در چهار خانواده‌ی مبتلا به ناشنوایی اتوزومال مغلوب غیرسندرمیک گردید. جهش‌ها شامل یک مورد جهش T54I و سه مورد جهش R183W می‌باشند.[۵] Collin و همکارانش نیز در بررسی ۸۳ ناشنوا، تنها ۳ مورد موتاسیون 874G>A, 731T>G, CACT, 509-512 del را در این ژن گزارش نمودند.[۹] Yang و همکارانش در مطالعات خود، جهش ژن پژواکین را چهاردرصد گزارش نمودند.[۱۰] در مطالعه‌ای دیگر Ebermann و همکارانش، در خانواده‌ای بزرگ با اختلال‌شنوایی، یک مورد جهش ins T 113-114 در ژن DFNB59 یافتند.[۱۱] هاشم‌زاده و همکارانش ۳۰ خانواده‌ی خویشاوند ایرانی را که در هر خانواده حداقل پنج مورد ناشنوایی وجود داشت، مورد مطالعه قرار دادند و دو جهش بیماری‌زا را شناسایی نمودند که هر دو جهش از نوع تغییر قالب بودند (c.726 del T و c.988 del G). هم‌چنین سه نوع متفاوت جهش missense شامل 874G>A، 793C>G، 793C>T در خانواده‌های ایرانی شناسایی گردیده است[۸] که البته وجود واریانت آللی 874G>A در مطالعات Collin و همکارانش نیز به اثبات رسیده است.[۹] با توجه به نتیجه‌ی این مطالعه و ارتباط آن با نتایج حاصل از مطالعات هاشم‌زاده، می‌توان چنین نتیجه گرفت که پلی‌مورفیسم 793C>G در بین ایرانیان نسبتا شایع بوده و اقوام مختلف این جامعه، منبع خوبی برای بررسی پلی-مورفیسم می‌باشند. لازم به ذکر است که برای شناسایی جهش‌های ژنتیکی ناشناخته، استفاده از روش آزمایشگاهی آسان، موثر، قابل‌اعتماد و ارزان با قدرت تشخیص بالای جهش‌ها ضروری به نظر می‌رسد. تکنیک SSCP این خصوصیات را در بردارد.[۱۲] البته تاثیر پارامترهای محیطی مانند طول

Archive of SID

www.SID.ir

قطعه (بهترین طول bp ۳۵۰-۱۵۰)،[۱۴] دناتوراسیون کامل قطعات،[۱۸] ترکیب ژل[۱۹] سیستم بافری مناسب[۲۰] و دما در میزان دقت SSCP را نباید نادیده گرفت. دقت روش SSCP در شناسایی جهش حدود ۸۵ درصد برآورد شده است،[۲۱] به منظور افزایش هر چه بیشتر اطمینان در نتایج حاصله، از تکنیک‌های جانبی مانند هترودوپلکس، طراحی پرایمرهای موتانت و تعیین توالی استفاده گردید. در یک بررسی میزان ازدواج فامیلی در کشورهای آسیایی ۶۸ درصد گزارش شده است،[۲۲] از آن‌جا که به نظر می‌رسد میزان ازدواج‌های فامیلی در سیستان و بلوچستان مانند اکثر مناطق ایران بالا باشد، این جمعیت منبع بسیار با ارزشی جهت تحقیق بر روی بیماری‌های ژنتیکی با توارث اتوزومال مغلوب از جمله ناشنوایی می‌باشد. تحقیقات جهت تعیین نوع جهش‌ها و تاثیر هر یک از جهش‌ها در ایجاد ناشنوایی، مانند تعیین فراوانی جهش‌های ژن DFNB59 در کشور مقدمه‌ای راه‌گشا در جهت بالا بردن کیفیت مشاوره‌های ژنتیکی و یا مداخلات درمانی خواهد بود.

نتایج به‌دست آمده از این تحقیق در استان سیستان و بلوچستان در تایید نتایج سایر مطالعات، در دیگر نقاط ایران و جهان بوده است.[۱۱-۵۸] به نظر می‌رسد که این ژن نقش چندانی در ایجاد شنوایی بازی نمی‌کند، اما با این وجود لازم است مطالعات بیشتری از نظر میزان پراکندگی جهش‌های این ژن و پروموتور آن، هم‌چنین جایگاه‌های ژنی دیگر و ارتباطشان با ناشنوایی در سایر جوامع دنیا و به‌خصوص اقوام مختلف ایرانی انجام شود.

سپاسگزاری

از همکاری صمیمانه‌ی آموزش و پرورش و مدارس استثنایی استان سیستان و بلوچستان و مرکز تحقیقات سلولی ملکولی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، تشکر و قدردانی می‌گردد. این مطالعه از نظر مالی توسط سازمان بهزیستی استان چهارمحال و بختیاری و معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد (گرانت شماره ۵۳۴) حمایت شده است.

References

1. Davidson J, Hyde ML, Alberti PW. Epidemiologic patterns in childhood hearing loss: a review. Int J Pediatr Otorhinolaryngol 1989; 17(3): 239-66.
2. Marazita ML, Ploughman LM, Rawlings B, et al. Genetic epidemiological studies of early-onset deafness in the US school-age population. Am J Med Genet 2005; 46(5): 486-91.
3. Morton NE. Genetic epidemiology of hearing impairment. Ann NY Acad Sci 1991; 630: 16-31.
4. Skvorak Giersch AB, Morton CC. Genetic causes of nonsyndromic hearing loss. Curr Opin Pediatr 1999; 11(6): 551.
5. Delmaghani S, del Castillo FJ, Michel V, et al. Mutations in the gene encoding pejvakin, a newly identified protein of the afferent auditory pathway, cause DFNB59 auditory neuropathy. Nat Genet 2006; 38(7): 770-8.
6. Rodriguez-Ballesteros M, del Castillo FJ, Martin Y, et al. Auditory neuropathy in patients carrying mutations in the otoferlin gene (OTOF). Hum Mutat 2003; 22(6): 451-6.
7. Varga R, Kelley PM, Keats BJ, et al. Non-syndromic recessive auditory neuropathy is the result of mutations in the otoferlin (OTOF) gene. J Med Genet 2003; 40(1): 45-50.
8. Hashemzadeh-Chaleshtori M, Simpson MA, Farrokhi E, et al. Novel mutations in the pejvakin gene are associated with autosomal recessive non-syndromic hearing loss in Iranian families. Clin Genet 2007; 72(3): 261-3.
9. Collin RW, Kalay E, Oostrik J, et al. Involvement of DFNB59 mutations in autosomal recessive nonsyndromic hearing impairment. Hum Mutat 2007; 28(7): 718-23.
10. Yang T, Kahrizi K, Bazazzadeghan N. A novel mutation adjacent to the Bth mouse mutation in the TMC1 gene makes this mouse an excellent model of human deafness at the DFNA36 locus. Clin Genet 2010;77(4): 395-8.
11. Ebermann I, Walger M, Scholl HPN, et al. Truncating mutation of the DFNB59 gene causes cochlear hearing impairment and central vestibular dysfunction. Hum Mutat 2007; 28(6): 571-7.
12. Sadeghi A, Sanati NH, Alasti F and Hashemzadeh-Chaleshtori M. Accessing genetic and enviromental factors of hearing loss in 354 families in Qom and Markazi provinces. J Rehabil 2005; 21(7): 7-10.
13. Hashemzadeh-Chaleshtori M, Farhud DD, Patton MA. Familial and sporadic GJB2-related deafness in Iran: Review of gene mutations. Iran J Public Health 2007; 36(1): 1-14.
14. Dale J, Von Schantz M. How to clone a gene. In: Dale J, Von Schantz M. From genes to genomes: concepts and applications of DNA technology. 2nd ed. West Sussex, England: Wiley-Interscience; 2007.
15. Hayashi K, Yandell DW. How sensitive is PCR-SSCP? Hum Mutat 2005; 2(5): 338-46.
16. Fujita K, Silver J. Single-strand conformational polymorphism. PCR Methods App 1994; 4(3): S137-40.
17. Sunnucks P, Wilson AC, Beheregaray LB, et al. SSCP is not so difficult: the application and utility of single-stranded conformation polymorphism in evolutionary biology and molecular ecology. Mol Ecol 2000; 9(11): 1699-710.
18. Humphries SE, Gudnason V, Whittall R and Day INM. Single-strand conformation polymorphism analysis with high throughput modifications and its use in mutation detection in familial hypercholesterolemia. Clin Chem 1997; 43(3): 427-35.
19. Ravnlk-Glavac M, Glavac D, Dean M. Sensitivity of single-strand conformation polymorphism and heteroduplex method for mutation detection in the cystic fibrosis gene. Hum Mol Genet 1994; 3(5): 801-7.
20. Kukita Y, Tahira T, Sommer SS and Hayashi K. SSCP analysis of long DNA fragments in low pH gel. Hum Mutat 1999; 10(5): 400-7.
21. Glavaccaron D, Dean M. Optimization of the single-strand conformation polymorphism (SSCP) technique for detection of point mutations. Hum Mutat 2005; 2(5): 404-14.
22. Parving A. Epidemiological of Genetic hearing impairment. In: Martini A, Read A, Stephens D, Editors. Genetics and hearing impartment. Londan: Whurr Publishers; 1996: 73-82.

Archive of SID
www.SID.ir

The contribution of autosomaul recessive non-syndromic deafness to DFNB59 mutations (Pejvakin)

Marzieh Abolhasani[1], Effat Farrokhi[2], Mohsen Noorbakhsh[3], Maryam Taherzadeh[2]
Fatemeh Azadegan[1], Azam Asgari[4], Morteza Hashmzadeh[5].

Received: 27/Feb/2010
Accepted: 17/Jul/2010

Background: Hearing loss is a common disorder affecting millions of individuals worldwide with opproximately 1 in 1000 newborns. A novel gene, DFNB59 encods Pejvakin has been recently shown to cause neural deafness. The aim of this study was to determine the frequency of DFNB59 gene mutations in 93 deaf pupils in Sistan & Baluchestan province.

Materials and Method: We investigated the frequency of DFNB59 gene mutations in the coding regions (exons 2-7) of the gene.DNA was extracted following the standard phenol chloroform procedure, the frequency of DFNB59 gene mutations was investigated using PCR-SSCP /HA strategy.

Results: No pathogenic variant was detected in samples studied. However, one polymorphism including 793C>G was determined in 3 of 93 (3.2%) subject examined.

Conclusion: The results of this study showed no association between DFNB59 gene mutations and hearing loss in Sistan va Baluchestan province. [ZJRMS, 12(3):19-23]

Keywords: PCR-SSCP, heteroduplex analysis, pejvakin, deafness

1. BSc of Genetic, Cellular and Molecular Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences and Health Services, Shahrekord, Iran.
2. MSc of Biochemistery, Cellular and Molecular Reserch Center, Shahrekord University of Medical Sciences and Health Services, Shahrekord, Iran.
3. Medical Student, Shahrekord University of Medical Sciences and Health Services, Shahrekord, Iran.
4. MSc of Animal Physiology, Plant Reserch Center, Shahrekord University of Medical Sciences and Health Services, Shahrekord, Iran.
5. Professor of Human Genetics, Cellular and Molecular Reserch Center, Shahrekord University of Medical Sciences and Health Services, Shahrekord, Iran.

Archive of SID

www.SID.ir