فراوانی آللی و ژنوتیپی پلی مورفیسم rs2288258 در ناحیه ژنی HEXA در جمعیت اصفهان

نسرین وهاب[1]، علی جزایری[1]، صادق ولیان بروجنی[1*]

۱) گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

تاریخ دریافت: ۹۵/۲/۱۵ تاریخ پذیرش: ۹۵/۵/۲۳

چکیده:

مقدمه: تای ساکس یک بیماری ژنتیکی با توارث اتوزومی مغلوب است که سیستم عصبی مرکزی را درگیر می‌کند. ابیماری به طور عمده ناشی از جهش در ژن HEXA واقع در کروموزوم ۱۵ می باشد. تعیین توالی به منظور شناسایی جهش‌ها و تنوعات ژنی موجود در ژنHEXA استفاده میشود که بسیار پرهزینه و وقت‌گیر است. متناوبا"، آنالیز پیوستگی مارکرهای چند شکلی مانند چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی (SNP) می‌تواند راه مناسبی برای تعیین افراد ناقل و همچنین تشخیص پیش از تولد در خانواده‌های دارای فرزند مبتلا ارائه نماید.

مواد و روش ها: در پایگاه‌های داده موجود تعداد زیادی از مارکرهای SNP برای ناحیه ژنی HEXA معرفی شده اند. در مطالعه حاضر وضعیت ژنوتیپی و اطلاع دهندگی مارکر rs2288258 واقع در ناحیه ژنیHEXA با استفاده از روش Tetra-primer ARMS PCR و با طراحی پرایمر های جدید در جمعیت اصفهان بررسی شد. از نرم‌افزار Power Marker برای تخمین فراوانی آللی، فراوانی ژنوتیپی، تعادل هاردی واینبرگ و محتوی اطلاع رسانی چند شکلی PIC (Polymorphism Information Content) استفاده شد.

یافته های پژوهش: نتایج حاصل بیانگر فراوانی آللی جزئی (MAF) ۹/۱۲٪ و مقدار PIC =۰/۱۵۲۰ برای مارکر rs2288258 در جمعیت اصفهان بود. هم‌چنین بررسی تعادل هاردی- واینبرگ نشان داد که جمعیت مورد نظر برای مارکر مربوطه در تعادل می باشد.

بحث و نتیجه گیری: نتایج حاصل بیانگر فراوانی آللی جزئی (MAF) ۹/۱۲٪ و مقدار PIC =۰/۱۵۲۰ برای مارکر rs2288258 در جمعیت اصفهان بود. هم‌چنین بررسی تعادل هاردی-واینبرگ نشان داد که جمعیت مورذ نظر برای مارکر مربوطه در تعادل می باشد. در مجموع مطالعه براساس نتایج این مطالعه، مارکر ژنتیکی rs2288258 می‌تواند به عنوان یک مارکر تک نوکلئوتیدی در مطالعات پیوستگی برای شناسایی ناقلین و تشخیص پیش از تولد جهش‌های ژن HEXA در جمعیت اصفهان معرفی شود.

واژگان کلیدی: HEXA، آنالیز پیوستگی، چند شکلی تک نوکلئوتیدی، جمعیت اصفهان

***نویسنده مسئول:** گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران *Email: svallian@sci.ui.ac.ir*

Copyright © 2017 Journal of Ilam University of Medical Science. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution international 4.0 International License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) which permits copy and redistribute the material, in any medium or format, provided the original work is properly cited.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-04]

[DOI: 10.29252/sjimu.25.1.54]

مقدمه

بیماری تای ساکس (TSD) یک بیماری ژنتیکی با الگوی وراثتی اتوزوم مغلوب است که سیستم عصبی مرکزی را درگیر می‌کند. این بیماری یک اختلال ذخیره لیزوزومی است که علت آن نقص در عملکرد آنزیم بتاهگزوز آمینیداز A و تجمع گانگلیوزید GM2 در لیزوزوم است (۱و۲). شدت بیماری بسته به اینکه چه مقدار از فعالیت آنزیم باقی مانده متفاوت است و ازنظر بالینی به سه شکل حاد، تحت حاد و مزمن تظاهر می‌کند(۳-۶).

بتا هگزوزآمینیداز A یک آنزیم هترودایمر است که از یک زیر واحد α و یک زیر واحد β تشکیل شده است زیر واحد α توسط ژن HEXA واقع در کروموزوم ۱۵ و زیر واحد β توسط ژن HEXB واقع در کروموزوم ۵ رمز می‌شود(۳). بیماری تای ساکس به طور عمده در اثر جهش در ژن HEXA ایجاد می‌شود که باعث نقص در زیر واحد α و در نتیجه ناکارایی آنزیم HexA می‌شود(۱). این اختلال باعث تجمع گانگلیوزید GM2 در لیزوزوم می‌شود و از آنجا که نورون‌ها دارای تراکم بیشتری از گانگلیوزید GM2 هستند این تجمع باعث تورم و مرگ نورون‌ها در اثر آپوپتوز و بروز علائم کلینیکی می‌شود(۷-۹). لازم به ذکر است که آنزیم HexA برای تجزیه سوبسترای خود به GM2 activator نیاز دارد که توسط ژن GM2A کد می‌شود این کوفاکتور با اتصال به گانگلیوزید GM2 و ایجاد کمپلکس محلول در آب شرایط را برای تجزیه در محیط آب‌دوست لیزوزوم فراهم می‌کند، جهش در ژن GM2A باعث بروز واریانت AB می‌شود(۱۰و۱۱). تشخیص بیماران مشکوک به تای ساکس از طریق سنجش آنزیمی و آنالیز مولکولی امکان‌پذیر است(۱۲). اکثر گزینه‌های درمانی پیشنهاد شده برای بیماری تای ساکس بر دو روش افزایش سطح آنزیم و کاهش سطح سوبسترا متمرکز است(۱۳).

تای ساکس از بیماری‌های ژنتیکی نادر است شیوع جهانی آن تقریباً ۱ در هر ۳۲۰۰۰۰ تولد است اما در برخی از جمعیت‌ها مانند یهودیان اشکنازی و کانادایی‌های فرانسوی تبار ده برابر شایع‌تر است(۱۴و۱۵). تاکنون بیش از ۱۰۰ موتاسیون در ژن HEXA گزارش شده است که بعضی از آن‌ها با گروه‌های نژادی خاص مرتبط هستند جهش شایع در بین یهودیان اشکنازی که در ۸۰ درصد حاملین دیده شده درج‌شدگی ۴ نوکلئوتیدی TATCدر اگزون ۱۱ ژن HEXA است، این جهش در بین غیر یهودیان نیز با فراوانی ۳۰ درصد شایع‌ترین جهش شناخته شده است(۱۶و۱۷). جهش شایع در جمعیت کانادایی‌های فرانسوی تبار حذف ۷/۶ کیلو بازی شامل کل اگزون ۱ بخشی از اینترون ۱ و ناحیه بالادست اگزون ۱ است (۱۸).

Amos Frisch و همکارانش برای تشخیص تاریخچه ژنتیکی جهش رایج بین یهودیان اشکنازی (insTATC۱۲۷۸) از ۵ مارکر D15S981- D15S131- D15S1050- D15S197- D15S188 استفاده کردند و قدمت این جهش را ۱۲-/+۴۰ نسل گزارش کردند(۱۶). همین‌طور Mazal Karpati تاریخچه ژنتیکی دو جهش جدید C1351G و G749T را با استفاده از مارکرهای D15S131,D15S1025, D15S981, D15S1050 در جمعیت یهودیان عراقی بررسی کرد (۱۹).

در حال حاضر راهبرد اساسی برای مقابله با این بیماری تشخیص قبل از تولد بیماری می‌باشد. اصولاً تشخیص مولکولی تای ساکس بر پایه دو روش بررسی مستقیم جهش‌های ژنی و بررسی غیرمستقیم توسط آنالیز پیوستگی با استفاده از مارکرهای چندشکلی متصل به ژن انجام می‌شود. مارکرهای چند شکلی تک نوکلئوتیدی(SNP) شایع‌ترین چندشکلی‌ها در ژنوم انسان هستند که فراوانی آن‌ها به‌طور متوسط ۱ در هر ۲۹۰ جفت باز در ژنوم است(۲۰). یک تغییر تک نوکلئوتیدی زمانی به عنوان یک SNP در نظر گرفته می‌شود که فراوانی آلل مغلوب آن در جمعیت ۱٪ یا بیشتر باشد. چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی که اکثر موارد حالت دو آللی دارند مزایای شناخته شده و قابل توجه بسیاری در آنالیز پیوستگی دارند که از جمله آن‌ها می‌توان به فراوانی بالا، پراکندگی، پایداری، پیوستگی شدید و حتی سرعت و توان بالای سیستم‌های تعیین SNP اشاره کرد (۲۱).

در آنالیز پیوستگی برای بررسی انتقال آلل‌های جهش‌یافته در خانواده‌های دارای فرزند مبتلا، به

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-04]

[DOI: 10.29252/sjimu.25.1.54]

مارکرهای اطلاع دهنده (گویا) نیاز است. یکی از ویژگی‌های مهم یک مارکر اطلاع دهنده این است که درجه هتروزیگوتی آن بالا باشد. فراوانی آللی و درجه هتروزیگوتی مارکرهای چندشکلی معمولاً در جمعیت های مختلف متفاوت است. بنابراین در مطالعات پیوستگی برای شناسایی افراد ناقل (هتروزیگوت) و تشخیص پیش از تولد به روش غیرمستقیم، مارکرهای مورد استفاده بایستی در جمعیت تحت مطالعه به‌طور جداگانه بررسی شوند.

تاکنون هیچ مطالعه‌ای مبنی بر بررسی مارکرهای چندشکلی ناحیه ژنی HEXA در جمعیت ایرانی انجام نشده است. در پایگاه‌های داده انواع مارکرهای چندشکلی برای ناحیه ژنی HEXA معرفی شده است. از بین مارکرهای چندشکلی موجود، rs2288258 در اینترون ۱۳ با فراوانی آللی ۰/۱۸ برای مطالعه انتخاب شد. در این مطالعه خصوصیات ژنوتیپی و اطلاع دهندگی این مارکر در جمعیت اصفهان به عنوان نمونه ای از جمعیت ایران مورد بررسی قرار گرفته است که نتایج آن می‌تواند در مطالعات پیوستگی برای ردیابی جهش به ژنHEXA و همچنین تقویت اطلاعات ساختاری ژنتیکی جمعیت ایران مورد استفاده قرار گیرد.

مواد و روش ها:

نمونه‌گیری و استخراج DNA: در این مطالعه نمونه های خون از ۱۴۸ فرد سالم و غیر خویشاوند در جمعیت اصفهان جمع‌آوری شدند پس از کسب رضایت‌نامه کتبی از همه افراد شرکت کننده در مطالعه، مقدار ۱۰ میلی‌لیتر از خون محیطی این افراد برای استخراج DNA نمونه‌گیری و برای جلوگیری از لخته شدن خون در لوله حاوی یک میلی‌لیتر EDTA با غلظت ۰/۵ مولار نگهداری شدند. استخراج DNA ژنومی از سلول‌های خون افراد به روش غیر آنزیمی میلر (Salting out)انجام شد و سپس کمیت و کیفیت آن توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مورد بررسی قرار گرفت(۲۲).

مارکر و تعیین ژنوتیپ: کلیه مارکرهای SNP موجود در ناحیه ژنی HEXA در پایگاه اطلاعاتی UCSC Genome browser وdbSNP مورد بررسی قرار گرفتند (۲۳و۲۴) و در نهایت مارکر rs2288258 در موقعیت ۳۶۷۲۰ برای مطالعه در جمعیت اصفهان انتخاب شد.

در این تحقیق از روش Tetra-Primer ARMS PCR برای تعیین ژنوتیپ مارکر استفاده شد. این روش به دو پرایمر خارجی و دو پرایمر داخلی و اختصاصی آلل برای تعیین ژنوتیپ چند شکلی تک نوکلئوتیدی نیاز دارد. با توجه به این که روش مزبور از ۴ پرایمر در یک واکنش بهره می‌گیرد، بنابراین می‌توان هر دو آلل مارکر را به طور همزمان بررسی کرد (۲۵) پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه از طریق پایگاه اینترنتی Tetra primer ARMS PCR Search Frame و با استفاده از نرم‌افزار Oligo7 طراحی شدند (۲۶). توالی پرایمرها در جدول ۱ نشان داده شده است.

محلول واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر به صورت زیر تهیه شد: ۰/۵µL از دو پرایمر خارجی (۱۰Pm)، ۰/۵µL از دو پرایمر داخلی (۱۰Pm) ، ۰/۲۵µL از Taq DNA Polymerase (۵U/µL)، ۱µL از dNTP mix (۱۰mM) ، ۲/۵µL از TaqDNAbuffer (۵۰mM)، ۱µL از $MgCl_2$ (۵۰mM) و ۲µL DNA (۸۰ng)که در نهایت با ddH_2O به حجم ۲۵µL رسانده شد. واکنش‌های PCR بر روی نمونه‌های DNA ژنومی توسط دستگاه ترموسایکلر (Ependorff, Germany) طبق شرایط بهینه شده زیر انجام شد: ۵ دقیقه دمای واسرشت اولیه در $94^{\circ}c$ و سپس به دنبال آن ۳۰ چرخه متوالی از دمای واسرشت در$94^{\circ}c$ (۴۰ ثانیه)، دمای اتصال پرایمری در $57^{\circ}c$ (۵۰ ثانیه) و دمای تکثیر قطعات در $72^{\circ}c$ (۵۰ ثانیه) انجام شد. در نهایت به منظور تکمیل فرایند تکثیر قطعات دمای $72^{\circ}c$ به مدت ۸ دقیقه اعمال شد.

محصولات تکثیر شده بر روی ژل آگارز ۲٪ به مدت ۴۵ دقیقه در ولتاژ ۸۰V تفکیک شدند و سپس با اتیدیوم برماید رنگ‌آمیزی گردید و باندهای مربوطه با استفاده از دستگاه Gel documentation (Biometra) زیر نور UV مورد بررسی قرار گرفتند.

بررسی آماری نتایج: افراد در گونه‌های دیپلوئید در یک لوکوس هموزیگوت یا هتروزیگوت هستند. وجود هتروزیگوسیتی نشان‌دهنده وجود تنوع ژنتیکی است. تخمین فراوانی آللی ، فراوانی ژنوتیپی فنوتیپ های

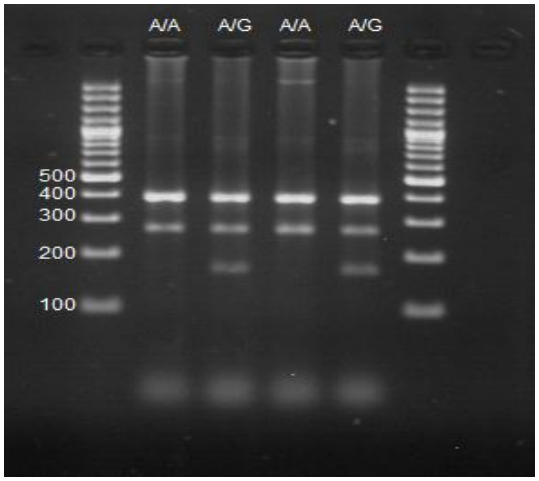
[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-04]

[DOI: 10.29252/sjimu.25.1.54]

هموزیگوت و هتروزیگوت و وجود تعادل هاردی واینبرگ (HWE) با استفاده از نرم‌افزار Power Marker انجام شد (۲۷). تعادل هاردی واینبرگ بیان می‌کند که در جمعیتی با جفت‌گیری تصادفی بدون انتخاب، جهش، یا مهاجرت فراوانی‌های آللی و فراوانی های ژنوتیپی از نسلی به نسل دیگر ثابت هستند(۲۸). هم‌چنین میزان فاکتور ظرفیت اطلاعاتی چند شکلی (PIC) نیز با استفاده از نرم افزارPower Marker انجام شد. فاکتور PIC معیاری برای تعیین میزان اطلاع‌دهندگی مارکرهای چند شکلی است. این فاکتور برای مارکرهایی که دارای تعادل هاردی–واینبرگ در جمعیت می‌باشند تعریف می‌شود که به تعداد و فراوانی آلل‌ها و درجه هتروزیگوسیتی مشاهده شده در جمعیت وابسته است (۲۹).

یافته های پژوهش:

مارکر ژنتیکی rs2288258 در ناحیه ژنی HEXA در یک گروه از افراد سالم در جمعیت اصفهان مورد بررسی قرار گرفت. این مارکر یک چند شکلی تک نوکلئوتیدی (SNP) است که در اینترون ۱۳ ژن HEXA قرار دارد و دارای آلل غالب A و آلل مغلوب G می‌باشد. بنابراین ژنوتیپ های AA، AG و GG در جمعیت قابل شناسایی می‌باشند. نمونه‌های DNA افراد سالم و غیر خویشاوند با استفاده از پرایمرهای اختصاصی و روش Tetra-primer ARMS PCR تعیین ژنوتیپ شدند. سه باند با طول‌های متفاوت ۳۸۴، ۲۶۶ و ۱۶۷ جفت باز بر روی ژل آگارز تفکیک شدند. قطعه بزرگ ۳۸۴ جفت بازی که دربردارنده چند شکلی تک نوکلئوتیدی است نشان دهنده باند کنترل است و دو قطعه کوچک ۲۶۶ و ۱۶۷ جفت بازی هر یک به ترتیب نشان دهنده باندهای اختصاصی برای آلل غالب A و آلل مغلوب G هستند. نتایج حاصل نشان داد که افراد هتروزیگوت دارای هر سه باند در موقعیت‌های ۳۸۴، ۲۶۶ و۱۶۷ جفت باز هستند. در حالی که افراد هموزیگوت غالب و مغلوب تنها دارای باند کنترل و یکی از دو باند اختصاصی آلل بودند (شکل ۱).



شکل ۱–تعیین ژنوتیپ مارکر rs2288258 با استفاده از روش Tetra-primer ARMS PCR.

برای هر فرد یک ستون در نظر گرفته شده است. در همه ستون‌ها باند ۳۸۴ جفت بازی نشان دهنده کنترل داخلی است. باندهای اختصاصی ۲۶۶ و ۱۶۷ جفت بازی هر یک به ترتیب نشان دهنده آلل‌های A و G می‌باشند. الگوی باندها بر روی ژل آگارز دو نوع ژنوتیپ را نشان می‌دهد. ستون سوم و پنجم مربوط به یک فرد هوموزیگوت A/A وستون چهارم وششم مربوط به فرد هتروزیگوت A/G می‌باشد. نمونه‌ها بر روی ژل آگارز ۲٪ تفکیک شده اند.

تعیین ژنوتیپ افراد تحت مطالعه نشان داد که ۱۲۱ نفر (۸۱/۷۶٪) دارای ژنوتیپ A/A و ۲۷ نفر (۱۸/۲۴٪) دارای ژنوتیپ A/G بودند. فراوانی مربوط به این ژنوتیپ‌ها در جدول شماره ۲ نشان داده شده است. در جمعیت مورد مطالعه فراوانی آللی آلل‌های غالب و مغلوب به ترتیب ۹۰/۸۸٪ و ۹/۱۲٪ به دست آمد.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-04]

[DOI: 10.29252/sjimu.25.1.54]

جدول ۱- توالی پرایمرهای طراحی شده برای تعیین آلل‌های مارکر rs2288258 توسط روش Tetra-primer ARMS PCR

Forward inner primer (A allele)	5'- GCTGCCTTTCAGACATCCATATA -3'
Reverse inner primer (G allele)	5'- CCAAATAACTCAATCCCTTTAGAAGAC -3'
Forward outer primer	5'- CAAGGACAGGATTTCGCATC -3'
Reverse outer primer	5'- AGTCTCTCCTTCCCCATTTCG -3'

وجود تعادل هاردی واینبرگ از طریق محاسبه P بر اساس آزمون دقیق فیشر مورد بررسی قرار گرفت. درصورتی‌که مقدار P کوچک‌تر از ۰/۰۵ به دست آید فرضیه مبنی بر وجود تعادل هاردی واینبرگ برای لوکوس موردنظر رد می‌شود. نتایج به دست آمده از آزمون دقیق فیشر نشان داد که مقدار P برای جمعیت اصفهان ۰/۳۳۷۶ است. این مقدار P بزرگ‌تر از ۰/۰۵ است که بیانگر وجود تعادل هاردی واینبرگ برای این مارکر در جمعیت اصفهان است (جدول شماره ۲).

جدول ۲- تعداد افراد و فراوانی‌های مشاهده شده برای انواع ژنوتیپ‌های مارکر rs2288258 در جمعیت اصفهان.

ژنوتیپ	A/A	A/G
تعداد افراد	۱۲۱	۲۷
فراوانی	۰/۸۱۷۶	۰/۱۸۲۴

بررسی‌ها نشان می‌دهد که PIC بزرگ‌تر از ۰/۲۵ می تواند به عنوان یک شاخص مناسب برای گویا بودن یک مارکر تک نوکلئوتیدی در نظر گرفته شود. با در نظر گرفتن ماهیت دو آللی SNPs، مقدار PIC برای این نوع مارکرهای در مقایسه با ریز ماهواره‌ها کمتر است (۳۰). نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر نشان داد که مقدار PIC برای مارکر rs2288258 در جمعیت اصفهان ۰/۱۵۲۰ می‌باشد. بنابراین مارکر rs2288258 می‌تواند به عنوان یک مارکر در مطالعات پیوستگی در جمعیت اصفهان معرفی شود(جدول شماره ۳).

جدول ۳- مقایسه فراوانی آللی مارکر rs2288258 در نمونه‌ای از جمعیت ایران (جمعیت اصفهان) با جمعیت‌های دیگر جهان (۲۴).

جمعیت	rs2288258 آلل G
آفریقا	۳۲،۵
اروپا	۴،۴
ایتالیا	۴،۹
ایران (مطالعه حاضر)	**۹،۱۲**
تگزاس	۴،۵
چین	۱۸،۲
چین تایپه	۱۷،۱
ژاپن	۳۵
کنیا لوهیا	۴۵،۹
کنیا ماسایی	۳۶،۹
مکزیک	۱۷،۲
نیجریه	۳۷،۸
میانگین	۲۴،۱

بحث و نتیجه گیری:

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-04]

[DOI: 10.29252/sjimu.25.1.54]

امروزه شناسایی صحیح ژن عامل بیماری اصلی‌ترین چالش در تشخیص مولکولی بیماری‌های چندژنی می باشد. با توجه به تعدد جهش‌های مرتبط با ژن HEXA و پرهزینه و وقت‌گیر بودن بررسی مستقیم جهش‌ها، بررسی مارکرهای چند شکلی در آنالیز پیوستگی می‌تواند راه مناسبی جهت بررسی مولکولی بیماری ارائه نماید. استفاده از مارکرهای چند شکلی تک نوکلئوتیدی (SNPs) برای بررسی‌های غیرمستقیم به علت پایداری و همچنین پیوستگی شدید با ژن بسیار قابل اعتمادتر است. بررسی‌های غیرمستقیم با استفاده از مارکرهای چند شکلی موجود در ژن HEXA می‌تواند در تعیین افراد ناقل (هتروزیگوت) و تشخیص پیش از تولد در خانواده‌های مبتلا به TSD وابسته به HEXA مورد استفاده قرار گیرد. از بین مارکرهای موجود در ناحیه ژنی HEXA، مارکر rs2288258 در اینترون ۱۳ ژن برای این مطالعه انتخاب شد. در این مطالعه فراوانی آللی و همچنین درجه هتروزیگوسیتی این مارکر در جمعیت اصفهان مورد بررسی قرار گرفت و نتایج حاصل با اطلاعات مربوط به دیگر جمعیت‌ها مقایسه شد. نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر بر روی مارکر rs2288258 نشان می‌دهد که آلل A با فراوانی ۹۰/۸۸٪ و آلل G با فراوانی ۹/۱۲٪ به ترتیب بیشترین و کمترین فراوانی را در جمعیت اصفهان دارند.

فراوانی آللی و هم چنین درجه هتروزیگوسیتی برای مارکرهای چند شکلی این ناحیه ژنی به‌صورت اختصاصی برای جمعیت‌های مختلف توسط پایگاه داده UCSC Genome Browser ارائه شده است (۲۴). نتایج در جدول شماره ۳ نشان داده شده است. بر اساس گزارشات این پایگاه تقریباً در تمام جمعیت‌های بررسی شده آلل A با فراوانی بیشتر به‌عنوان آلل غالب و آلل G آلل مغلوب شناخته شده است؛ هم چنین مشخص شده است که بیشترین فراوانی آلل G (MAF) مربوط به جمعیت کنیا لوهیا می‌باشد. این در حالی است که جمعیت اروپا در مقایسه با سایر جمعیت‌ها دارای فراوانی آلل مغلوب کمتری است.

مقایسه نتایج به دست آمده از این مطالعه با اطلاعات موجود در پایگاه داده UCSC Genome Browser نشان می‌دهد که فراوانی آلل G (MAF) برای مارکر rs2288258 در نمونه‌ای از جمعیت ایران (جمعیت اصفهان) نسبت به جمعیت‌های نیجریه ، ژاپن ، چین، چین تایپه، کنیا لوهیا، کنیا ماسایی، آفریقا و مکزیک کمتر است در حالی که از جمعیت‌های اروپا، تگزاس و ایتالیا بیشتر است. این یافته‌ها نشان می‌دهد که مارکر rs2288258 می‌تواند در جمعیت‌های نیجریه، کنیا لوهیا، کنیا ماسایی، آفریقا و ژاپن (MAF بزرگ‌تر از ۰/۲) به عنوان یک مارکر گویا جهت بررسی‌های غیرمستقیم آلل‌های جهش‌یافته ژنHEXA مورد استفاده قرار گیرد.

مشخص شده است که انحراف از تعادل هاردی واینبرگ می‌تواند صحت بررسی‌های آماری را تحت تأثیر قرار دهد. ازاین‌رو پس از تعیین فراوانی آللی و ژنوتیپی افراد، در مرحله بعد، وجود تعادل هاردی واینبرگ مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل نشان داد که تعادل هاردی واینبرگ برای مارکر rs2288258 در جمعیت اصفهان وجود دارد.

در مجموع نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که مارکر rs2288258 با فراوانی آللی (MAF) ۹/۱۲٪ و مقدار PIC=۰/۱۵۲۰ می‌تواند به عنوان مارکر تک نوکلئوتیدی در آنالیز پیوستگی و تشخیص مولکولی غیرمستقیم آلل‌های جهش‌یافته ژن HEXA در اصفهان مورد استفاده قرار گیرد. از سوی دیگر اطلاعات به دست آمده از این مطالعه می‌تواند در تقویت اطلاعات ساختاری ژنتیکی جمعیت ایران مؤثر باشد.

سپاسگزاری

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه اصفهان جهت تأمین بودجه این مطالعه در غالب پژوهانه و کلیه افرادی که در تهیه نمونه ما را یاری نموده‌اند تشکر و قدردانی می شود.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-04]

[DOI: 10.29252/sjimu.25.1.54]

References

1. Kolter T, Schepers U, Sandhoff K. Tay-sachs disease encyclopedia of molecular mechanisms of disease. Springer Publication.2009; P.2027.
2. Parenti G, Pignata C, Vajro P, Salerno M. New strategies for the treatment of lysosomal storage diseases. Int J Mole Med2013;31:11-20.
3. Myerowitz R. Tay-sachs disease causing mutations and neutral polymorphisms in the Hex A gene. Hum Mut1997:195-208.
4. Maegawa GH, Stockley T, Tropak M, Banwell B, Blaser S, Kok F, et al. The natural history of juvenile or subacute GM2 gangliosidosis 21 new cases and literature review of 134 previously reported. Pediatrics 2006;118:1550-62.
5. Jamrozik Z, Lugowska A, Golębiowski M, Krolicki L, Mączewska J, Kuzmakozakiewicz M. Late onset GM2 gangliosidosis mimicking spinal muscular atrophy. Gene 2013; 527:679-82.
6. Bley AE, Giannikopoulos OA, Hayden D, Kubilus K, Tifft CJ, Eichler FS. Natural history of infantile GM2 gangliosidosis. Pediatrics 2011; 128:1233-41.
7. Huang JQ, Trasler JM, Igdoura S, Michaud J, Hanai N, Gravel RA. Apoptotic cell death in mouse models of GM2 gangliosidosis and observations on human Tay-sachs and Sandhoff diseases. Hum Mole Genet1997;6:1879-85.
8. Mullen T, Obeid L. Ceramide and apoptosis exploring the enigmatic connections between sphingolipid metabolism and programmed cell death. Anticancer Agents Med Chem2012; 12:340-63.
9. Myerowitz R, Lawson D, Mizukami H, Mi Y, Tifft CJ, Proia RL. Molecular pathophysiology in Tay-sachs and Sandhoff diseases as revealed by gene expression profiling. Hum Mole Genet 2002; 11:1343-51.
10.Platt FM. Sphingolipid lysosomal storage disorders. Nature 2014; 510:68-75.
11. Sandhoff K, Harzer K. Gangliosides and gangliosidoses principles of molecular and metabolic pathogenesis. J Neurosci2013;33:10195-208.
12. Karimzadeh P, Jafari N, Biglari HN, Dari SJ, Abadi FA, Alaee MR, et al. GM2-gangliosidosis Sandhoff and Tay-sachs disease diagnosis and neuroimaging findings an Iranian pediatric case series. Iranian J Child Neurol 2014; 8:55.
13. Tandon A. Therapeutic options for Tay-sachs Disease. J Biol Med 2002;19:10-2.
14. Triggsraine B, Akerman B, Clarke J, Gravel R. Sequence of DNA flanking the exons of the HEXA gene and identification of mutations in Tay-sachs disease. Am J Hum Genet1991; 49:1041.
15. Stenson PD, Ball EV, Howells K, Phillips AD, Mort M, Cooper DN. The human gene mutation database providing a comprehensive central mutation database for molecular diagnostics and personalised genomics. Hum Genom2009;4:69.
16.Frisch A, Colombo R, Michaelovsky E, Karpati M, Goldman B, Peleg L. Origin and spread of the 1278insTATC mutation causing Tay-sachs disease in Ashkenazi Jews genetic drift as a robust and parsimonious hypothesis. J Hum Genet 2004;114:366-76.
17.Haghighi A, Rezazadeh J, Shadmehri AA, Haghighi A, Kornreich R, Desnick RJ. Identification of two HEXA mutations causing infantile onset Tay-sachs disease in the Persian population. J Hum Genet 2011;56:682-4.
18. Martin DC, Mark BL, Triggsraine BL, Natowicz MR. Evaluation of the risk for Tay-sachs disease in individuals of French Canadian ancestry living in new England. Clin Chem2007; 53:392-8.
19.Karpati M, Gazit E, Goldman B, Frisch A, Colombo R, Peleg L. Specific mutations in the HEXA gene among Iraqi Jewish Tay-sachs disease carriers dating of founder ancestor. Neurogenetics 2004; 5:35-40.
20.Kruglyak L, Nickerson DA. Variation is the spice of life. Nature Gene2001; 27:234-5.
21.Botstein D, Risch N. Discovering genotypes underlying human phenotypes past successes for mendelian disease future approaches for complex disease. Nature Genet 2003; 33:228-37.
22.Miller S, Dykes D, Polesky H. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucle Acids Res 1988; 16:1215.
23. Adrienne Kitts, MS, Lon Phan, Minghong W, Johnbradley H. The database of short genetic variation dbSNP. 2th ed. NCBI Handbook2013.
24. UCSC Genome Browser. NCBI Handbook. 2th ed.2013.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-04]

[DOI: 10.29252/sjimu.25.1.54]

proportion for multiple alleles. Biometrics 1992:361-72.
29.Elahi E, Kumm J, Ronaghi M. Global genetic analysis. J Biochem Mole Biol2004;37:11-27.
30.Chen H, He H, Zou Y, Chen W, Yu R, Liu X, et al. Development and application of a set of breeder-friendly SNP markers for genetic analyses and molecular breeding of rice Oryza sativa L. Theor Appl Genet 2011; 123:869-879.
25.Ye S, Dhillon S, Ke X, Collins AR, Day IN. An efficient procedure for genotyping single nucleotide polymorphisms. Nucleic Acids Res 2001;29: 88.
26. Old J, Harteveld CL, Traeger-Synodinos J, et al. Prevention of thalassaemias and other haemoglobin disorders.2th.ed Laboratory protocols Publication.2012.
27.PowerMarker software. Available from: www.statgen.ncsu.edu/powermarker/
28. Guo SW, Thompson EA. Performing the exact test of Hardy-Weinberg

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-04]

[DOI: 10.29252/sjimu.25.1.54]

Allele Frequency and Genotyping of rs2288258 Polymorphism in HEXA Gene Region in the Isfahan Population

*Vahhab N[1], Jazaeri A[1], Vallianborujeni S[1] **

(Received: May 4, 2016 Accepted: August 13, 2016)

Abstract

Introduction: Tay-Sachs is a genetic disorder with autosomal recessive inheritance affecting the central nervous system. The disorder mainly results from mutations in the HEXA gene on chromosome 15. Sequencing is used to detect mutations and sequence variations in the HEXA gene, which is expensive and time consuming. Alternatively, linkage analysis of polymorphic markers such as single nucleotide polymorphism (SNP) could be used in heterozygous carrier detection and prenatal diagnosis of the disease in families with an affected individual.

Materials & methods: A large number of SNP markers have been introduced for the HEXA gene in the electronic databases. In the present study the genotype and informative situation of rs2288258 genetic marker in HEXA gene region was investigated using Tetra-primer ARMS PCR technique with newly designed primers in Isfahan population. Estimation of allelic frequency, genotype frequency, presence of Hardy Weinberg Equilibrium (HWE) and the amount of polymorphism information content (PIC) was computed by Power Marker software.

Findings: The results indicated 9.12% minor allele frequency (MAF) and PIC=0.1520 for rs2288258 marker in the Isfahan population. Also, analysis of Hardy-Weinberg Equilibrium showed the presence of equilibrium for this marker in the mentioned population.

Discussion & conclusions: The results indicated 9.12% minor allele frequency (MAF) and PIC=0.1520 for rs2288258 marker in the Isfahan population. Also, analysis of Hardy-Weinberg Equilibrium showed the presence of equilibrium for this marker in the mentioned population. Totally, according to the results of this study rs2288258 genetic marker could be introduced as an SNP marker for linkage analysis in carrier detection and prenatal diagnosis of HEXA mutations in Isfahan population.

Keywords: HEXA, Linkage analysis, Single nucleotide polymorphism, Isfahan population

1. Dept. of Biology, Faculty of Science, Isfahan University, Isfahan, Iran
** Corresponding author Email: svallian@sci.ui.ac.ir*

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-04]

[DOI: 10.29252/sjimu.25.1.54]