بررسی مولکولی جهش‌های میتوکندریایی A1555G، A3243G و A7445G در ناشنوایان غیرسندرومی استان فارس

ثریا حیدری [۱]، مصطفی منتظر ظهوری [۲]، عفت فرخی [۳]، ابوالفتح شیرمردی [۴]، گل‌اندام بنی طالبی [۵]، سمیه رئیسی [۶]، زهره عطائی [۷]، مرضیه ابوالحسنی [۸]، محبوبه کثیری [۹]، محمد تقی اکبری [۱۰]، کیهان قطره [۱۱]، مرتضی هاشم زاده چالشتری [۱۲*]

خلاصه

سابقه و هدف: ناشنوایی یک بیماری حسی- عصبی است که در هر ۵۰۰ تولد زنده یک مورد آن اتفاق می‌افتد. این بیماری با علت‌های ژنتیکی، محیطی یا هردو رخ می‌دهد. بیش از ۶۰ درصد موارد غیر ارثی هستند و ۸۰ درصد از موارد ارثی به صورت غیر سندرومی و دارای وراثت آتوزومی مغلوب می‌باشند. در این مطالعه فراوانی جهش‌های میتوکندریایی A1555G، A3243G و A7445G در بیماران استان فارس مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه ۷۲ ناشنوای غیر سندرومی مورد بررسی قرار گرفتند. DNA بیماران با روش استاندارد فنل-کلروفرم استخراج شده و جهش‌های ژن میتوکندریایی با روش PCR – RFLP غربال‌گری شدند. در نهایت جهش‌های احتمالی به روش توالی‌یابی مستقیم مورد تایید قرار گرفتند.

نتایج: در این مطالعه، هیچ‌کدام از جهش‌های A1555G، A3243G و A7445G یافت نشد. با این حال، از بین رفتن یک محل برش آنزیم محدودگر در ژن MTTL1 که جهش A3243G در آن بررسی می‌گردید، واریانت آللی G3316A را با فراوانی ۱/۴ درصد در این بیماران نشان داد.

نتیجه‌گیری: نتایج این تحقیق نشان داد که جهش‌های میتوکندریایی A1555G، A3243G و A7445G در ایجاد ناشنوایی در نمونه-های مطالعه شده نقشی ندارند.

واژگان کلیدی: DNA میتوکندریایی، جهش، A3243G، A7445G، ناشنوایی غیرسندرمی، PCR-RFLP

فصلنامه علمی ـ پژوهشی فیض، دوره چهاردهم، شماره ۴، زمستان ۱۳۸۹، صفحات ۴۵۲-۴۴۷

مقدمه

ناشنوایی اختلالی بسیار هتروژن است که متاثر از ژنتیک، محیط و یا هر دو می‌باشد [۱].

یک نفر از هر ۵۰۰ نوزاد، مبتلا به ناشنوایی هستند که ۵۰ درصد موارد علت ژنتیکی و ۵۰ درصد دیگر علل اکتسابی (نظیر نارسی، هیپوکسی نوزادی، عفونت قبل یا در طی نوزادی و داروهای اتوتوکسیک) دارند [۲]. ناشنوایی ارثی به دو فرم سندرومی و غیر سندرومی تقسیم بندی می‌شود [۳]. ناشنوایی غیرسندرمی با توجه به الگوی وراثتی به چهار دسته اتوزومی غالب، اتوزومی مغلوب، وابسته به جنس و میتوکندریایی تقسیم بندی می‌شود [۴]. در حدود ۳۵۰۰۰-۲۵۰۰۰ ژن هسته‌ایی و ۳۷ ژن میتوکندریایی در انسان شناخته شده و برآورد می‌شود که یک درصد از کل ژن‌های انسانی (حدود ۵۰۰-۳۰۰ ژن) در ناشنوایی ارثی سندرومی و غیر سندرومی دخیل باشند که در این بین ۷۰ درصد باعث ناشنوایی غیرسندرومی و ۳۰ درصد باعث ناشنوایی سندرومی می‌گردند [۵]. اولین جایگاه ژنی شناخته شده مسئول ناشنوایی غیرسندرومی DFNB1 (DeafnessB1) می‌باشد. ژن GJB2 در این جایگاه ژنی قرار گرفته که Connexin 26 را کد می‌کند [۶]. گرچه جهش‌های این ژن نقش عمده در ایجاد ناشنوایی غیرسندرومی با وراثت اتوزومی مغلوب دارند [۱۱-۶]، با این‌حال مطالعات اخیر نشان داده که سایر ژن‌های هسته‌ایی و همچنین تعدادی از ژن‌های

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک، دانشکده علوم، دانشگاه شهرکرد

[۲] دانشجوی دکتری تخصصی ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس تهران

[۳] کارشناس ارشد بیوشیمی، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد

[۴] پزشک عمومی، سازمان بهزیستی استان چهارمحال و بختیاری

[۵] کاردان آزمایشگاه، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد

[۶] دانشجوی کارشناسی ارشد سلولی و مولکولی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان

[۷] کارشناس ارشد ژنتیک انسانی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران

[۸] کارشناس ژنتیک، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد

[۹] کارشناس پرستاری، سازمان بهزیستی استان چهارمحال و بختیاری

[۱۰] استادیار ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس تهران

[۱۱] دکترای بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد

[۱۲] استاد ژنتیک انسانی، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد

* **نشانی نویسنده مسوول:**
شهرکرد، رحمتیه، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی

تلفن: ۰۳۸۱ ۳۳۴۶۶۹۲ **دورنویس:** ۰۳۸۱ ۳۳۳۰۷۰۹

پست الکترونیک: mchalesh@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۸۹/۲/۲ **تاریخ پذیرش نهایی:** ۸۹/۸/۱۲

Archive of SID

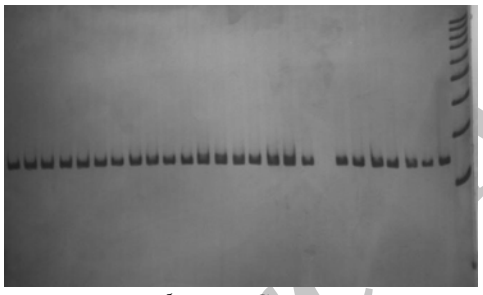
www.SID.ir

میتوکندریایی نیز در ناشنوایی درگیرند [۱۲]. از جمله‌ی ژن‌های میتوکندریایی (12S rRNA) MTRNR1، ($tRNA^{Ser(UCN)}$) MTTS1 و($tRNA^{Leu(UUR)}$) MTTL1 می‌باشند که باعث ایجاد ناشنوایی غیر سندرومی می‌گردند [۱۵-۱۳]. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که جهش A1555G در ژن MTRNR1 منجر به ناشنوایی غیرسندرومی با توارث مادری می شود [۱٤]. جهش‌های ژن MTTS1 که همراه با ناشنوایی حسی- عصبی است شامل جهش‌های A7445G، T7510C، T7511C و 7472insC می‌باشد [۲۰-۱٦]. جهش‌های زیادی در ژن MTTL1 گزارش شده‌اند که از جمله آنها می‌توان به A3243G، T3271C و T4216C اشاره کرد [۱۵]. از آنجا که در کشور ما مطالعات مشابهی انجام نشده است و پژوهش‌های انجام شده عمدتا بر روی ژن‌های خاصی به‌ویژه GJB2 و Pejvakin می‌باشد و نیز با توجه به تنوع موجود در جمعیت ایرانی و وجود قومیت‌های مختلف بر آن شدیم که پژوهشی با هدف تعیین فراوانی جهش‌های A1555G، A3243G و A7445G در بیماران ناشنوای غیر سندرومی استان فارس که بخشی از یک مطالعه وسیع کشوری است انجام دهیم. نتایج این گونه پژوهش‌ها بی‌تردید نقش قابل توجهی در غربالگری ناشنوایی و کاهش موارد جدید آن در جمعیت متنوع ایرانی خواهد داشت.

مواد و روش ها

در این مطالعه توصیفی- آزمایشگاهی پس از موافقت کمیته اخلاق دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد و اخذ رضایت نامه از خود افراد یا والدین آنها (افراد زیر سن قانونی) تعداد ۷۲ نفر از نمونه‌های افراد ناشنوای غیر سندرومی استان فارس شامل ۳۱ پسر و ٤۱ دختر با میانگین سنی ۲۰ سال به‌روش در دسترس وارد مطالعه شدند. از شرایط ورود افراد به این مطالعه داشتن ناشنوایی ژنتیکی غیرسندرومی بود؛ بنابراین افرادی که دارای ناشنوایی غیر ژنتیکی یا سندرومی بودند از این مطالعه حذف شدند. از تمام افراد مورد مطالعه مقدار ۵ میلی لیتر خون محیطی در EDTA ۰/۵ مولار گرفته شد و به مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد منتقل گردید. ابتدا DNA تمام نمونه‌ها به روش استاندارد فنل-کلروفرم استخراج گردید [۲۱] و سپس با استفاده از اسپکتروفتومتر (Unico 2100 USA) مقدار و کیفیت DNA به‌دست آمده تخمین زده شد. سپس با استفاده از توالی ژن میتوکندریایی به رمز دسترسی (NC-012920) و نرم افزار Primer3 توالی‌های آغازگر F و R برای تشخیص سه جهش این ژن طبق جدول شماره ۱ طراحی و خریداری شد. انجام PCR جهت بررسی جهش‌های میتوکندریایی A1555G، A3243G و A7445G بر روی نمونه‌های DNA با استفاده از دستگاه ترموسایکلر (TECHNE TC- 512 UK) طبق شرایط دمایی زیر انجام شد: مرحله واسرشت اولیه (Pre denaturation) ۹۵ درجه به‌مدت ٤ دقیقه، ۲۵ سیکل شامل ۹٤ درجه Denaturation به‌مدت ۵۰ ثانیه، دمای Annealing به‌مدت ۵۰ ثانیه طبق جدول شماره ۱ و ۷۲ درجه Extension به‌مدت ۵۰ ثانیه و طویل سازی نهایی (Terminal extension) در ۷۲ درجه به‌مدت ٦ دقیقه.

شرایط واکنش PCR برای سه جهش یکسان و بدین ترتیب بود: 0.5µl از پرایمر F (10pM)، 0.5µl از پرایمر R (10pm)، 0.1µl از Taq DNA polymerase (5U/µl)، 0.5µl از mix dNTP (10mM)، 2.5µl از Taq DNA buffer (10x)، 1.5µl از MgCl2 (50mM) و 1µl از DNA (80ng) که با dH2O به حجم 25µl رسانده شد. کلیه محصولات برای تائید نهایی روی ژل پلی اکریل آمید ۸ درصد (نسبت ۲۹:۱ بیس اکریل آمید/ اکریل آمید) به‌مدت یک ساعت با ولتاژ 200 V الکتروفورز شد و ژل به‌دست آمده توسط نیترات نقره رنگ آمیزی گردید (شکل شماره ۱).



شکل شماره ۱- محصولات PCR قبل از آنالیز RFLP بر روی ژل پلی آکریل آمید ۸ درصد جهت بررسی جهش A3243G. باند اول از سمت راست مربوط به مارکر(100bp (Fermentas- Canada، باند نهم مربوط به کنترل منفی (بدون DNA) و بقیه باندها مربوط به نمونه های بیماران است

به منظور بررسی جهش‌ها از روش PCR-RFLP استفاده شد [۲۲]، برای این منظور در هر میکروتیوب 10µl از محصولات PCR را با 0.5µl آنزیم محدود کنندهٔ مورد نظر (5U/µl) و 2µl بافر و 7.5µl آب مقطر مخلوط نموده و به‌مدت یک شبانه روز در 37ºC قرار دادیم، سپس محصولات به‌دست آمده بر روی ژل ۱۲ درصد پلی آکریل آمید به‌مدت ۳ ساعت و با ولتاژ 200 V الکتروفورز گردیدند. برای تایید نتایج، در نهایت از روش تعیین توالی استفاده شد. برای این منظور، نمونه‌ها با حجم بیشتر توسط PCR تکثیر شده و برای تعیین توالی، توسط شرکت ژن فن آوران

Archive of SID

www.SID.ir

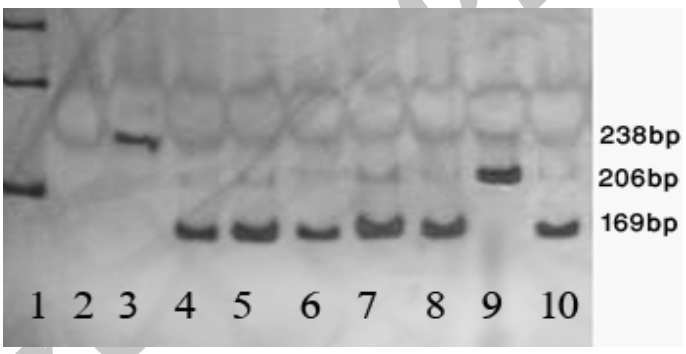
به کشور کره فرستاده شدند. واکنش تعیین توالی توسط دستگاه ABI (Capillary System) 3730XL انجام شد.

نتایج

در نمونه‌های مورد بررسی هیچ‌کدام از جهش‌های A1555G، A3243G و A7445G یافت نشد، اما نتایج حاصل از PCR-RFLP که بر روی نمونه‌های بیماران جهت بررسی جهش A3243G در ژن MTTL1 انجام شد، نشان دهنده یک الگوی متفاوت از تغییر در ژن ND1 در مجاورت MTTL1 به صورت G3316A بود؛ به این صورت که به واسطه تغییر نوکلئوتیدی در محل 3316 یکی از سایت‌های آنزیم در محصول PCR تخریب شده و قطعاتی به طول 206bp و 32bp ایجاد شده بود. نتایج فوق با روش تعیین توالی مستقیم (Direct Sequencing) مورد بررسی و تایید قرار گرفت (شکل شماره ۲).

جدول شماره ۱) مشخصات توالی پرایمرها، آنزیم محدودگر، محل برش آنزیم، دمای اتصال پرایمر و اندازه محصولات PCR برای هر جفت پرایمر مورد استفاده در تشخیص جهش های میتوکندریایی

نوع جهش	محصول PCR (bp)	توالی پرایمر 5′	توالی پرایمر 3′	دمای اتصال (°C)	آنزیم محدودگر	محل برش آنزیم
A1555G	567	F: CACAAAATAGACTACGAAAGTGGC R: ACTTACCATGTTACGACTTG		58	Hae III	GG↓CC
A3243G	238	F: CCTCCCTGTACGAAAGGAC R: GCGATTAGAATGGGTACAATG		60	Hae III	GG↓CC
A7445G	348	F: GAGAAGCCTTCGCTTCGAAG R: GAGGGCGTGATCATGAAAGGTG		60	Xba I	T↓CTAGA



شکل شماره ۲- محصولات PCR - RFLP بر روی ژل پلی اکریل آمید ۱۲درصد جهت بررسی جهش A3243G. باند ۱- مارکر 100bp (Fermentas-Canada)، باند ۲- کنترل منفی (بدون DNA)، باند ۳- کنترل مثبت (بدون آنزیم)، باند های ٤- ۸ و ۱۰ نمونه های بیماران (فاقد جهش A3243G)، باند ۹- واریانت G3316A. (باند 32 bp از ژل خارج شده و مشاهده نمی‌شود).

بحث

جهش در DNA میتوکندریایی، یکی از علل ناشنوایی می‌باشد و اغلب نقایص مولکولی که مسئول ناشنوایی مرتبط با جهش‌های میتوکندریایی هستند، جهش در ژن‌های کد کننده 12S rRNA و tRNA می‌باشند [۲۳]. هدف از این مطالعه، بررسی ارتباط بین ناشنوایی و جهش‌های میتوکندریایی A1555G، A3243G وA7445G و همچنین بررسی فراوانی این جهش‌ها در ناشنوایان استان فارس بود که روی ۷۲ ناشنوا از این استان انجام گرفت. بعد از اینکه برش با آنزیم محدودگر صورت می-گیرد، در مورد جهش A1555G، قطعه 567 bp به‌صورت قطعات ٤٥٦ و ۱۱۱ جفت بازی در فرد سالم و قطعات ٤٥٦، ۹۱ و ۲۰ جفت بازی در فرد بیمار دیده می‌شود. در مورد جهش A3243G، قطعه 238bp به‌صورت قطعات ۱٦۹، ۳۲ و ۳۷ جفت بازی در فرد سالم و قطعات ۹۷، ۷۲، ۳۲ و ۳۷ جفت بازی در فرد بیمار دیده می‌شود و نهایتا در مورد جهش A7445G، قطعه 348 bp به‌صورت قطعات ۲۲۹ و ۱۱۹ جفت بازی در فرد سالم و قطعه ۳٤۸ جفت بازی در فرد بیمار دیده می‌شود. از آنجا که در ژل مربوط به PCR-RFLP هیچ یک از قطعات مورد انتظار در بیماران مشاهده نشد بنابراین، هیچ‌کدام از جهش‌های A1555G، A3243G و A7445G علت ناشنوایی در این افراد نبوده و فقط

www.SID.ir
Archive of SID

یک مورد واریانت آللی جدید در ژن MTTL1 (tRNA $^{Leu(UUR)}$) مشاهده شد. چون در این مطالعه تمام ناشنوایان استان فارس مورد بررسی قرار نگرفته‌اند، لازم است برای روشن‌تر شدن نقش جهش‌های میتوکندریایی در این جمعیت از تعداد نمونه‌های بیشتری استفاده شده و احتمالا ژن‌های دیگری عامل ناشنوایی در این افراد مورد بررسی قرار گیرند. بر اساس تحقیقات صورت گرفته در سایر نقاط دنیا ارتباط سه جهش میتو کندریایی A1555G، A3243G و A7445G با ناشنوایی مورد بررسی و تایید قرار گرفته است. جهش A1555G اولین بار در جمعیت‌های آسیایی و آفریقایی گزارش شد [۲٤]. این جهش در ژن MTRNA1 صورت گرفته و همراه با جهش 35delG در ژن GJB2 از شایع‌ترین علل ایجاد ناشنوایی است که با فراوانی ۰/۵ تا ۱ درصد در ناشنوایان نژاد قفقازی [۲٦،۲۵] و با فرکانس‌های بالاتر در جمعیت‌های اسپانیایی و آسیایی گزارش شده است [۲۷،۲٤]. جهش A7445G همراه با جهش‌های دیگر شامل T7510C، T7511C و 7472insC در ژن MTTS1 صورت می‌گیرد [۲۰-۱٦]. جهش A7445G اولین‌بار در یک خانواده اسکاتلندی و سپس در خانواده‌های نیوزلندی، ژاپنی، فرانسوی، اوکراینی، پرتغالی و مجارستانی پیدا شد [۲۰-۱۷]. جهش A3243G، که همراه با جهش‌های T3271C و T4216C در ژن MTTL1 صورت می‌گیرد در ۳/۱٤ درصد از ناشنوایان ژاپنی [۲۰] و ٤/۷٦ درصد از افراد مبتلا به دیابت ملیتوس گزارش شده است [۲۹،۲۸]. در ایران تاکنون مطالعه‌ای در زمینه بررسی ارتباط بین جهش‌های میتوکندریایی و ناشنوایی صورت نگرفته است. در مطالعه حاضر هیچ کدام از جهش‌های A1555G، A3243G و A7445G در نمونه‌های مورد مطالعه یافت نشد ولیکن ما به هنگام بررسی وجود جهش A3243G، در ژن MTTL1 با اینکه متوجه شدیم جهش فوق الذکر در بیماران وجود ندارد، اما به یک واریانت آللی جدید برخورد کردیم که به صورت G3316A مورد تائید قرار گرفت و در ۱/٤ درصد از نمونه‌ها تشخیص داده شد. این واریانت که باعث تغییر آمینو اسید آلانین به ترئونین در ژن ND1 در مجاورت MTTL1 می‌شود به این صورت که به واسطه تغییر نوکلئوتیدی در محل ۳۳۱٦، یکی از جایگاه‌های برش آنزیم محدودگر تخریب شده و این واریانت را ایجاد می‌کند. واریانت G3316A در بیماران دیابت ملیتوس نیز گزارش شده، همچنین به‌نظر می‌رسد در LHON و کاردیومیوپاتی هایپرتروفیک نیز دخیل باشد [۳۰]، اما چون برای اولین بار در نمونه ناشنوا تشخیص داده شده و ارتباط آن با ناشنوایی هنوز مورد تائید قرار نگرفته است، جهت تشخیص بیماریزایی، نیاز به مطالعات بیشتری دارد.

نتیجه گیری

جهش‌های میتوکندریایی نقش نسبتا برجسته‌ای در ایجاد ناشنوایی در جمعیت مورد مطالعه، هم به لحاظ تنوع جهش‌ها و هم به لحاظ فراوانی آن ندارند و پیشنهاد می‌شود تا در جمعیت بیشتری از ناشنوایان استان فارس و ژن‌های مختلف میتوکندریایی مورد بررسی قرار بگیرند تا نقش جهش‌های میتوکندریایی در ایجاد ناشنوایی در آن استان روشن‌تر شود.

تشکر و قدردانی

از همکاری صمیمانه‌ی آموزش و پرورش و مدارس استثنایی استان فارس و تمامی دانش آموزان و خانواده های محترم ایشان، همچنین ریاست و کارکنان محترم مرکز تحقیقات سلولی ملکولی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، تشکر و قدردانی ویژه می‌گردد. هزینه انجام این تحقیق توسط معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد و سازمان بهزیستی استان چهارمحال و بختیاری تامین شده است.

Archive of SID

References:

[1] Cohen MM, Gorlin RJ. Epidemiology, Etiology and genetic patterns. In: Gorlin RJ, Toriello HV, Cohen MM, editors. Herediatary Hearing Los and its syndromes. Oxford University Press, NY; 1995. p. 9-21.

[2] Wilson J. Deafness in developing countries. Approaches to a global program of prevention. ***Arch Otolaryngol*** 1985; 111(1): 2-9.

[3] Ciesla CJ, Lee KJ. Audiology. In: Lee KJ, editor. Essential Otolaryngology. 6th ed. Connecticut: Appleton & Lange; 1995. p. 45.

[4] Van Laer L, Mcguirt WT, Yang T, Smith RJH, Van Camp G. Autosomal dominant nonsyndromic hearing impairment. ***Is J Med Genet*** 1999; 89(3): 167-74.

[5] Martini A, Mazzoli M, Kimberling W. An introduction to the genetics of normal and defective hearing. ***Ann N Y Acad Sci*** 1997; 830: 361-74.

[6] Kelsell DP, Duniop J, Stevens HP, Lench NJ, Liang JN, Parry G, et al. Connexin 26 mutations in hereditary non- syndromic sensorineural deafness. ***Nature*** 1997; 387(6628): 80-83.

www.SID.ir

[7] Guilford P, Ben Arab S, Blanchard S, Levilliers J, Weissenbach J, Belkahia A, et al. A non-syndrome form of neurosensory, recessive deafness maps to the pericentromeric region of chromosome 13q. ***Nat Genet*** 1994; 6(1): 24-8.
[8] Morell RJ, Kim HJ, Hood LJ, Goforth L, Frederici K, Fisher R, et al. Mutations in the connexin 26 gene (GJB2) among Ashkenazi Jews with nonsyndromic recessive deafness. ***N Engl J Med*** 1998; 339(21): 1500-5.
[9] Cohn ES, Kelley PM. Clinical phenotype and mutations in connexin 26 (DFNB1/GJB2), the most common cause of childhood hearing loss. ***Am J Med Genet*** 1999; 89(3): 130-36.
[10] Gasparini P, Rabinonet R, Barbujani G. Melchionda S, Peterson M, BrondumNielsen K, et al. High carrier frequency of the 35delG mutation in European populations. ***Eur J Hum Genet*** 2000; 8(1): 19-23.
[11] Ballana E, Ventayoi M, Rabionet R, Gasparini P, Estivill X. Connexins and deafness Homepage. Eur J Hum Genet. 2000, 8: 19-23World Wide Web URL.
Available at: http://www.crg.es/deafness
[12] Gates GA, Mills JH. Presbycusis. ***Lancet*** 2005; 366(9491): 1111-20.
[13] Van Camp G, Smith RJ. Maternally inherited hearing hmpairment. ***Clin Genet*** 2000; 57(6): 409-41.
[14] Bravo O,Ballana E, Estivill X. Cochlear alterations in deaf and unaffected subject carrying the deafness associated A1555G mutation in the mitochondrial 12S rRNA gene. ***Biochem Biophys Commun*** 2006; 344: 511-6.
[15] Carrasquillo MM, Zlotogora J, Barges S, Chakravarti A. Two different connexin 26 mutations in an inbred kindred segregating non-syndromic recessive deafness: implications for genetic studies in isolated populations. ***Hum Mol Genet*** 1997; 2163-72.
[16] Toompuu M, Levinger LL, Nadal A, Gomez J, Jacobs HT. The 7472insC mt DNA mutation impairs 5′ and 3′ processing of tRNA (Ser (UCN)). ***Biochem Biophys Res Commun*** 2004; 322: 803-13.
[17] Fischel-Ghodsian N,Prezant TR,Fournier P. Mitochondrial mutation associated whit nonsyn-dromic deafness. ***Am J tolaryngol*** 1995; 16: 403-8.
[18] Sevior KB, Hatamochi A, StewartI A. Mitochondrial A7445G mutation in two pedigrees whit palmoplantar Keratoderma and deafness. ***Am J med Genet*** 1998; 75: 179-85.
[19] Storm K, Willocx S, Flothmann K, Van Camp G. Determination of the carrier frequency of the common GJB2 (connexin 26) 35delG mutation in the Belgian population using an easy and reliable screening method. ***Hum Mutat*** 1999; 14: 263-6.
[20] Kelley PM, Harris DJ, Comer BC, Askew JW, Fowler T, Smith SD, et al. Novel mutations in the connexin 26 gene (GJB2) that cause autosomal recessive (DFNB1) hearing loss. ***Am J Hum Genet*** 1998; 62: 792-9.
[21] Dale JW, Schantz MV. Purification and separation of nucleic acid In: Dale JW, Schantz MV.From Genes to genomes. Chichester. ***John Wiley*** 2002; 31-35.
[22] Samanich J, Lowes C, Burk R, Shanske S, Lu J, Shanske A, et al. Mutations in GJB2, GJB6, and mitochondrial DNA are rare in African American and Caribbean Hispanic individuals with hearing impairment. ***Am J Med Genet Part A 143A*** 2007; 143A(8): 830-8.
[23] Bae JW, Lee KY, Choi SY, Lee SH, Park H, Kim U. Molecular analysis of mitochondrial gene mutations in Korean patients with nonsyndromic hearing loss. ***Int J Mol Med*** 2008; 22(2): 175-80.
[24] Usmai S, Abe S, Akita J, Namba A, Shinkawa H, Ishii M,et al . Prevalence of mitochondrial gene mutations among hearing impaired patients. ***J Med Genet*** 2000: 37(1): 38-40.
[25] Li R, Greinwald JH, Yang L, Choo DI, Wenstrup R J, Guan MX, et al. Molecular analysis of the mitochondrial 12S rRNA and tRNASer (UCN) genes in paediatric subjects whit nonsyn-dromic hearing loss. ***J Med Genet*** 2004: 41: 615-20.
[26] Kupka S, Toth T, Worbel M, Zeibler U, Szyfter W, Szifter K, et al. Mutation A1555G in the 12S rRNA gene and its epidemiological importance in German,Hungarian,and Polish patients. ***Hum Mutat*** 2002; 19: 308-9.
[27] Del Castilho FJ, Rodriguez-Ballesteros M, Martin Y. Heteroplasmy for the 1555A. G mutation in the mitochondrial 12S rRNA gene in six Spanish families with non- syndromic hearing loss. ***J Med Genet*** 2003; 40: 632-6.
[28] van den Ouweland JM, Lemkes HH, Ruitenbeek W, Sandkuijl LA, de Vijlder MF, Struyvenberg PA, et al. Mutation in mitochondrial tRNALeu (UUR) gene in a large pedigree with maternally transmitted type II diabetes mellitus and deafness. ***Nat Genet*** 1992; 1(5): 368-71.
[29] Reardon W, Ross RI, Sweeney MG, Luxon LM, Pembrey ME, Harding AE, et al. Diabetes mellitus associated with pathogenic point mutation in mitochondrial DNA. ***Lancet*** 1992; 340(8832): 1376-9.
[30] Odawara M, Maki H, Yamada N. Pathogenicity of homoplasmic mitochondrial DNA mutation and nuclear gene involvement. ***J Med Genet*** 1999; 36(12): 934–5.

Archive of SID

www.SID.ir