فحص جين بيتا جلوبين في مرضى البيتا ثلاسيميا الذين ليس لديهم طفرة جينيه

إعداد الطالبة

رشا عبدالعزيز اللهيبي

إشراف

الدكتورة/ عائشة عليمي

المستخلص

بيتا ثلاسيميا هي واحدة من أكثر الاضطرابات الوراثية شيوعا في جميع أنحاء العالم. وينتج عن انخفاض توليف أو غياب سلاسل بيتاجلوبين، التي تتألف من اثنين من جلوبين ألفا وسلالتين جلوبين بيتا . ($\alpha 2\beta 2$) السبب الشائع لبيتا ثلاسيميا هو طفرة في جين البيتا جلوبين البشري (*HBB*). يقع جين البيتا جلوبين(*HBB*) على الذراع القصير لـ (Ch11p15.5). هدفت هذه الدراسة إلى تحديد الطفرات في مرضى بيتا ثلاسيميا مع طفرات غير محددة من سداسي البروم ثنائي الفينيل. بالإضافة إلى ذلك ، تم تصميمه لتحسين الاختبار الجيني لمرضى بيتا ثلاسيميا الذين لم يكن لديهم طفرة في جين البيتا جلوبين باستخدام عينة الحمض النووي الريبي بعد تسلسل الحمض النووي عالي الإنتاجية. في هذه الدراسة أدرجت ستة من المرضى الذين يعانون من مرض البيتا الثلاسيميا والتي تعتمد على نقل الدم. تم فحص الطفرات بواسطة (Sanger Sequencing) وتم تحديد مستويات التعبير لجين البيتا جلوبين البشري بواسطة(RT-PCR) في الوقت الفعلي ، بعد استخراج الحمض النووي الريبي من الدم المحيطي وتحويله الى (cDNA). تم تحديد ثلاثة أنواع من طفرات بيتا ثلاسيميا في هذه الدراسة. كان هناك طفرتين شائعتين ، وكانت إحدى الطفرات نادرة وقد تم الإبلاغ عنها سابقًا في المملكة العربية السعودية. من بين ستة مرضى ، كان اثنان متماثلان الزيجوت لطفرة بيتا ثلاسيميا ، بينما كان أحدهما متغاير الزيجوتية المتغايرة ، ولم يكن لدى المرضى الثلاثة الآخرين طفرة في تسلسل جين البيتا جلوبين البشري . كانت الطفرات المعروفة هي FSC 8/9 (+ G) ، و Codon 40 (C> T). علاوة على ذلك ، تم تحديد cryptic splice site (*HBB*:c.316-14T>G)، والذي تم الإبلاغ عنه سابقًا في المملكة العربية السعودية. يمكن أن يكون فحص طفرات البيتا ثلاسيميا التي استخدمت عينات الحمض النووي الريبي بواسطة (Sanger Sequencing) مفيدًا للتشخيص الوراثي في العائلات عالية الخطورة وتحسين الاختبارات الجينية.

Screening of *HBB* gene in beta-thalassemia patients - who do not have - a mutation

Prepared by:

Rasha Abdulaziz Alluhaybi

Supervised by:

Dr. Aisha Elaimi

Abstract

Beta-thalassemia is one of the most common inherited disorders worldwide. It results from the decreased synthesis or absence of the beta-globin chains, which is comprised of two alpha globin and two beta globin chains (α2β2). The common cause of beta-thalassemia is a mutation in human beta-globin gene (*HBB*) which is located on the short arm of Ch11p15.5. This study aimed to identify the mutations in beta-thalassemia patients with undetermined *HBB* mutations. In addition, it was designed to improve the genetic testing of beta- thalassemia patients who did not have a mutation in *HBB* gene by using RNA sample following high-throughput DNA sequencing. Six patients with transfusion-dependent beta-thalassemia disease were included within this study. Screening the mutations was done by Sanger Sequencing and the expression levels of *HBB* gene was determined by Real-Time PCR, after the RNA was extracted from peripheral blood and converted to cDNA. A total of three beta-thalassemia mutations were identified in this study. Two mutations were common, and one mutation was rare and have been previously reported in Saudi Arabia. Of the six patients, two were homozygous for a beta-thalassemia mutation, while one was compound heterozygotes and the other three patients had no mutation in the sequence of *HBB* gene. The common identified mutations were FSC 8/9 (+G), and nonsense codon 40 (C>T). Furthermore, identified cryptic splice site (intron variant) (HBB:c.316-14T>G), which have been previously reported in Saudi Arabia. Screening of beta-thalassemia mutations that used

RNA samples followed by Sanger Sequencing could be useful for genetic diagnosis in high-risk families and improve the genetic testing.