

# التشخيص الجزيئي لمتلازمة كروموسوم اكس الهش باستخدام التقنيات الوراثية في مجموعة سعودية

الطالبة:

مها بنت محسن محمد القعيطي

بإشراف:

الدكتورة/ سهيرة أحمد لاري

الدكتور/ عدیل جزار شودري

## المستخلص

متلازمة كروموسوم اكس الهش هو الشكل الأكثر شيوعاً للتخلف العقلي الموروث. ويقدر تردده ما يقرب من 1500\1 للذكور المصابين و 2500\1 للإناث المصابات. يحدث بسبب الازدياد التدريجي لتكرار (CGG)n في منطقة المروج من جين FMR-1 الواقعة على كروموسوم اكس Xq27.3 . الأهداف: إرساء تقنية تستخدم فيها علم البيولوجية الجزيئية والجينات لتشخيص الحالات المتضررة من متلازمة اكس الهش . المنهجية: معالجة الدنا DNA بالبيسلفيت أعقبه الاختبار الجزيئي باستخدام تقنيتين جزيئيتين مختلفتين. التقنية الأولى: مخصص المثيلية تفاعل البلمرة التسلسلي MS-PCR باستخدام مجموعتين مختلفتين من البادئات المجموعة الأولى وكانت مخصصة لتضخيم بقايا C ميثيلته في الذكور المتضررة و المجموعة الثانية من البادئات كانت مصممة لتضخيم التكرارات الغير ميثيلته في الذكور الصحيين. التقنية الثانية: باستخدام تقنية الزمن الحقيقي لتفاعل البلمرة التسلسلي المبني على تحليل ذوبان المنحنى (MS-MCA) للكشف عن حالة مثيلة في منطقة المروج FMR-1. النتائج : شملت الدراسة مجموعته 51 حالة، 43 ذكور و 8 اناث مع التخلف العقلي ، وتتراوح أعمارهم بين 7 أشهر إلى 27 سنة. وكان أفراد العائلات الأخرى ما يلي : 6 أمهات و 9 أخوات و 5 آباء. أسفرت النتائج باستخدام MS-PCR باستخدام البادئات الغير الميثيلته والمثيلته عن 43\36 (83.72%) الذكور الصحيين و الذكور المتضررين 43\7 (16.28%) على التوالي. وكشفت النتائج عن تفاعل البلمرة للزمن الحقيقي عن ذروة انصهار منخفضة واحد في 43\34 (79,07%) مما يدل على الحالة الغير ميثليه للجين FMR-1 وبالتالي ذكور صحيين، وارتفاع ذروة ذوبان واحد في 43\9 (20,93%) مما يدل على الذكور المتضررة. الخلاصة: و من واقع نتائج التجربة فقد أثبتت تقنية الزمن الحقيقي لتكون أكثر حساسية وسريعة وعليه الاعتماد عليها للتشخيص الجزيئي لحالات كروموسوم اكس الهش. و لا يمكن الكشف عن أي حالات أنثى أو الناقلين من جانب كل من التقنيتين. ويمكن تطبيق تقنيات أخرى مثل الفحص الجيني للكشف عن التكرارات المرتفعة للحالات المتضررة في المستقبل.

# **Molecular Diagnosis of Fragile x Syndrome Using Genetic Techniques in a Saudi Cohort**

**By:**

**Maha Mohsin Al-Quaiti**

**Supervised By**

**Dr. Sahira Ahmed Lary**

**Dr. Adeel Gulzar Chaudhary**

## **Abstract:**

Fragile X syndrome is the most common form of inherited mental retardation. Its frequency is estimated to be approximately 1/1,500 for affected males and 1/2,500 affected females. The disease is caused by a CGG trinucleotide tandem repeat at the 5' untranslated region of the FMR-1 gene located at Xq27.3. Aims: To establish a molecular genetics technique for diagnosis of cases affected with fragile X syndrome. Methodology: Bisulfite treatment of DNA was followed by molecular testing using two different techniques. First: MS-PCR was performed using two sets of primers, one set of primers was specific for amplifying methylated C residues in affected males and the other pair of primers was designed to amplify the unmethylated repeats in healthy males. The second technique used the real time PCR based on methylation-specific melting curve analysis (MS-MCA) for detection of methylation status of the FMR-1 promoter region. Results: The study included a total of 51 cases, 43 males and 8 females with mental retardation, their ages range between 7 months to 27 years. Other family members were included: 6 mothers, 9 sisters and 5 fathers. Results of PCR using methylated and unmethylated PCR primers in male cases revealed 36\43 (83.72%) unaffected and 7\43 (16.28%) affected individuals respectively. Results for real time PCR revealed single low melting peak in 34\43 (79.07%) indicating unmethylated FMR-1 gene, and hence unaffected males, and high melting peak 9\43 (20.93%) indicating affected males. Conclusion: The real time PCR technique proved to be more sensitive, reliable and rapid for the diagnosis of cases with fragile x syndrome. No female cases or carriers could be detected by both techniques. Other techniques such as Gene scan can be applied for detection of high repeats in affected cases in the future.