

Republic of Iraq
Ministry of Higher Education
and Scientific Research
University of Mosul
College of Science
Department of Biology



Detection of Molecular DNA varititaion of apoptotic regulatory genes BCL2 and BAX in Leukemia patients kids in Mosul city

Heba Khalid Ibrahim Hussein

M.Sc. Thesis

In

Biology / Zoology

Supervised By

Professor

Dr. Owayes Muaffaq Hamed Al-Hassani

1445 A.H

2024 A.D

Abstract

Apoptosis is a process of programmed cell death to eliminate unwanted and damaged cells. It is also part of the physiological processes that occur in the body. inhale apoptosis has an essential role in the development of cancer. Members of the B-cell lymphoma 2 (BCL2) protein family have an important role in regulating apoptosis through pro- or anti-apoptotic activities. The BAX and BCL2 genes have an essential role in regulating apoptosis. When the cell expresses various stress BAX triggers apoptosis by changing the permeability of the outer mitochondria membrane, while BCL2 stops apoptosis by blocking BAX function.

60 kids between the ages of 3 and 10 years were examined between September and October 2023 who were referred to Al-Hadbaa specialized hospital based on private pathological investigation facilities in Mosul. The samples were divided into two categories. The first contained 40 kids with leukemia, and the second contained 20 samples of kids without leukemia and was considered a control group.

2 ml of venous blood was withdrawn from the kids and divided into two parts. The first was put in an EDTA tube for DNA extraction and methylation test, and the second was put in a tube containing trizol for the purpose of RNA and miRNA extraction.

The results for leukemia study patients showed that the frequency value of BCL2 of the mutant genotype CC was 30%, which is the highest percentage compared to the wild genotype AA, which is 20%. The heterogeneous AC rate was 50% compared with the healthy group, 70% for the wild genotype, 20% for the heterogeneotype, and 10% for the mutant genotype, and for the BAX gene. The results for leukemia Patients showed that the frequency value of mutant genotype AA was 40%, which was the highest percentage compared to the wild genotype GG, which was 10%. The heterogeneous GA rate was 50% compared

to the health group. 65% for the wild genotype, 30% for the heterogeneous type, and 5% for the mutant genotype

The results of the DNA methylation process in the promoter of the BAX gene showed hyper methylation of DNA, and for the BCL2 gene, there was hypo methylation of DNA in their promotor.

The results of the study show an increase in the level of gene expression of miR-21 for the kids who suffered from leukemia, which was 2.28 compared with the level of gene expression of the control group, which was 1.0. Therefore, microRNA-21 causes oncogene of the BCL2 gene and suppress of the BAX gene,

DNA sequencing through this study reveals that a new genetic pattern of the BCL2 gene and the BAX gene has been registered in Mosul city at NCBI, and the identification number for the BCL2 is LC816658.1, and the identification number for the BAX gene is LC816659.1.

الخلاصة

يعرف الموت الخلوي المبرمج على انه عملية موت الخلايا لأزاله الخلايا التالفة والغير مرغوب فيها ان اي خلل في عملية الموت الخلوي المبرمج له دور أساسي في تطور السرطان وهو أيضا جزء من العمليات الفسيولوجية التي تحدث في الجسم. ان لعائلة BCL2 دورا أساسيا في تنظيم الموت الخلوي من خلال Pro and anti-apoptotic activity. عندما تتعرض الخلايا لتغير يتم تحفيز الموت الخلوي المبرمج بواسطة جين BAX من خلال تغير نفاذية الغشاء الخارجي للمايتوكوندريا BCL2 جين يوقف الموت الخلوي المبرمج من خلال إيقاف وظيفه جين BAX

شملت هذه الدراسة (60) طفلاً تتراوح اعمارهم بين (3-10) سنة من المراجعين إلى مستشفى الحدياء التخصصي في مدينة الموصل لمدة تراوحت من شهر أيلول إلى شهر أكتوبر من عام 3202، حيث قسمت العينات إلى فئتين الفئة الأولى شملت 40 طفلاً من ضمن الاطفال المصابين بسرطان الدم والفئة الثانية شملت 20 طفلاً من الغير مصابين بسرطان الدم واعتبرت كمجموعه سيطرة.

تم سحب (2) مل من الدم الوريدي من الأطفال وتقسيمه إلى قسمين. تم وضع الأول في أنبوب EDTA لاستخراج الحمض النووي ومثيلته، وتم وضع الثاني في أنبوب يحتوي على تريزول لغرض استخراج الحمض النووي الرايبي RNA و miRNA.

أظهرت النتائج لمرضى سرطان الدم أن قيمة frequency value لجين BCL2 للنمط الجيني الطافر CC كانت 30%، وهي أعلى نسبة مقارنة بالنمط الجيني الطبيعي AA، وهي 20%. اما نسبة AC للنمط الوراثي المتغاير heterozygous كانت 50% مقارنة بمجموعة السيطرة ، و 70% للنمط الجيني الطبيعي ، و 20% للنمط غير المتجانس ، و 10% للنمط الجيني الطافر. وبالنسبة لجين باكس أظهرت النتائج لمرضى سرطان الدم أن قيمة تكرار النمط الجيني الطافر AA كانت 40% ، وهي أعلى نسبة مقارنة بالنمط الجيني الطبيعي GG ، والتي كانت 10%. اما نسبة GA للنمط الوراثي المتغاير 50% مقارنة بمجموعة السيطرة . 65% للنمط الجيني الطبيعي ، و 30% للنمط المتغاير ، و 5% للنمط الجيني الطافر.

أظهرت نتائج عملية مثيلة الحمض النووي في بادئ جين BAX زيادة مثيلة الحامض النووي. بينما بالنسبة لجين BCL2 ، كان هناك انخفاض في مثيلة الحمض النووي.

أظهرت نتائج الدراسة زيادة في مستوى التعبير الجيني ل miR-21 للأطفال المصابين بسرطان الدم، والذي كان 2.28 مقارنة بمستوى التعبير الجيني لمجموعة السيطرة، والذي كان 1.0.

من خلال تقنية DNA Sequence تم تسجيل نمط جيني جديد لجين BCL2 وجين BAX في مدينة الموصل في NCBI ، واعطي رقم التعريف BCL2 LC816658.1 ، ورقم التعريف لجين BAX هو LC8166 .



جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة الموصل / كلية العلوم

قسم علوم الحياة

التحري عن الاختلافات الجزيئية في الـ DNA لجيني Bcl2

وBax المنظمة لعملية الموت المبرمج للأطفال المصابين بسرطان الدم

في مدينة الموصل

هبة خالد إبراهيم حسين

رسالة ماجستير

علوم الحياة / علم الحيوان

بإشراف

الأستاذ الدكتور

أويس موفق حامد الحسني