

# ارتباط پلی مورفیسم M55V ژن SUMO4 در بیماران دیابتی تیپ ۲ و افراد سالم

## چکیده

زمینه و هدف: اخیراً مشخص شده که ژن sumo4 در کلیه بیان می‌شود. واریانت M55V ژن sumo4 که با جایگزینی اسید آمینه والین به جای متیونین در موقعیت ۵۵ همراه می‌باشد، سبب تحریک و القای فاکتور هسته‌ای کاپای بتا (NFkB) می‌گردد. این فاکتور در پاتوژن بسیاری از بیماریها از جمله دیابت نقش بسیار مهمی دارد. روش کار: ژنوتیپ‌های Sumo4 در ۵۰ نفر بیمار دیابتی تیپ ۲ و ۵۰ نفر کنترل‌بروش PCR و هضم آنزیمی توسط آنزیم محدودگر TspRI مورد مطالعه مقطعی قرار گرفت. غلظت سرمی قند افراد بیمار و کنترل‌بروش آنزیمی تعیین گردید. در این مطالعه از آزمون T-Student و آزمون آماری Chi-square استفاده شد. یافته‌ها: در افراد گروه‌های کنترل و بیمار فراوانی ژنوتیپ‌ها به ترتیب AA ۲۶٪ و AG ۲۰٪ و GG ۴۴٪ و نیز ۲۴٪ و ۳۶٪ به دست آمد. نتیجه‌گیری: نتایج بدست آمده در این مطالعه پیشنهاد می‌کند که بین واریانت M55V ژن Sumo4 و بیماری دیابت تیپ II رابطه معنی‌داری وجود ندارد و واریانت M55V ژن Sumo4 یک فاکتور خطرزا برای بیماری دیابت تیپ II محسوب نمی‌گردد.

کلیدواژه‌ها: ۱- دیابت ۲- پلی‌مورفیسم ۳- جهش ژن ۴- آنزیم محدودگر ۵- ژن sumo4

\*دکتر سودابه فلاح

مهرزاد جعفرزاده II

دکتر مهدی هدایتی III

دکتر رضا حاجی حسینی IV

تاریخ دریافت: ۸۷/۱۱/۱۹، تاریخ پذیرش: ۸۹/۱/۳۰

## مقدمه

بازوی بلند کروموزوم شماره ۶ (6q25) قرار گرفته و پروتئینی با ۹۵ اسید آمینه را کد می‌کند که وظیفه آن ایجاد اصلاحات پس از ترجمه بر روی برخی از پروتئین‌ها بوده و به طور طبیعی، وظیفه تنظیم عملکرد دستگاه ایمنی بدن به منظور مقابله با عفونت‌ها را بر عهده دارد. (۱) این ژن در کلیه و سیستم ایمنی بیان شده و قادر می‌باشد تا با انجام اصلاحات بر روی سوبسترای معروف خود به نام مهارکننده فاکتور هسته‌ای کاپای بتا (NFkB) که سرکوب کننده NFkB می‌باشد، میزان NFkB و در نتیجه پاسخ‌های ایمنی را کنترل نماید. (۲) فاکتور هسته‌ای کاپای بتا (NFkB) یک فاکتور رونویسی است که در پاتوژن بسیاری از بیماری‌ها نقش دارد. محصول ژن SUMO4 یک تنظیم کننده منفی NFkB در مسیر انتقال پیام

بیماری دیابت قندی شایعترین بیماری اندوکراین است و تعیین شیوع واقعی آن به علت تنوع معیارهای تشخیصی، مشکل می‌باشد. افزایش گلوکز خون و وجود آن در ادرار به نام دیابت شیرین یکی از رایج‌ترین اختلالات متابولیسم کربوهیدرات‌ها می‌باشد. (۱) یک تقسیم بندی ساده از بیماری دیابت به شرح زیر است:

(۱) دیابت نوع I وابسته به انسولین

(۲) دیابت نوع II غیر وابسته به انسولین

در پاتوژنز این بیماری عوامل مختلفی از قبیل ژنتیک و محیطی دخالت دارند. نتایج حاصل از تحقیقات ده ساله گذشته نشان می‌دهند یک پلی مورفیسم نوکلئوتید منفرد ژن SUMO4 (Small Ubiquitin like Modifier 4) در بروز بیماری دیابت نقش دارد. این ژن بر روی بانده ۲۵

این مقاله خلاصه‌ای است از پایان نامه آقای مهرزاد جعفرزاده جهت دریافت درجه کارشناسی ارشد به راهنمایی دکتر سودابه فلاح و مشاوره دکتر مهدی هدایتی و دکتر رضا حاجی حسینی در دانشگاه علوم پزشکی ایران، سال ۱۳۸۷.

(I) استادیار و دکترای بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی ایران، تهران، ایران (\* مؤلف مسؤول)

(II) کارشناس ارشد بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی ایران، تهران، ایران

(III) استادیار و دکترای بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی، تهران، ایران

(IV) دانشیار و دکترای بیوشیمی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

یک شب در  $37^{\circ}\text{C}$  قرار داده شد.<sup>(۸)</sup> بعد از تکمیل عمل هضم، به هر لوله یک میلی لیتر کلرید سدیم اشباع (۶ مولار) اضافه و ۱۵ ثانیه به شدت مخلوط گردید. سپس لوله‌ها با دور ۲۵۰۰ rpm سانتریفوژ شده و محلول رویی به لوله دیگر انتقال یافت. به محلول مذکور دقیقاً ۲ حجم اتانول مطلق اضافه و لوله‌ها چندین بار سر و ته شدند. کلاف DNA به لوله ۱/۵ میلی لیتری حاوی ۲۰۰ میکرولیتر بافر TE منتقل شده و ۲ ساعت در  $37^{\circ}\text{C}$  قرار داده شد تا حل گردد (۹) با استفاده از پرایمرهای اختصاصی

forward (5'-TGTTGAACCCACGGGGATTGTTCG-3')  
reverse (5'-TCAGTAGACACCTCCCGTAG-3')

قطعه‌ای ۲۰۰ جفت بازی از ژن SUMO4 که دارای جایگاه اثر برای آنزیم TspRI شرکت biolab خریداری شده از شرکت ژرف خرد بود، توسط روش PCR تکثیر گردید. کل محلول نهایی واکنش PCR در حجم کل ۲۵ میکرولیتر حاوی: DNA ۵۰ ng/μl، ۲/۵ μM از هر پرایمر و ۱۲/۵ میکرولیتر از MasterKit خریداری شده از شرکت سیناژن تهیه گردید. شرایط دمایی برای واکنش PCR در دستگاه ترموسایکلر نیز، ابتدا ۲ دقیقه در  $94^{\circ}\text{C}$  و سپس ۳۵ سیکل در دمای  $94^{\circ}\text{C}$  (۲ دقیقه)،  $58^{\circ}\text{C}$  (۳۰ ثانیه) و  $72^{\circ}\text{C}$  (۱ دقیقه) تنظیم گردید محصول واکنش پس از اتمام سیکل‌ها به مدت ۱ دقیقه در  $72^{\circ}\text{C}$  قرار داده شد. محصولات به دست آمده از PCR به همراه سایز مارکر در آگارز ۱/۵٪ و بافر TBE الکتروفورز شدند و توسط برومید اتیدیوم رنگ آمیزی گردید و باندها ۲۰۰ جفت بازی مشاهده شد.

### هضم آنزیمی

همانطور که اشاره شد قطعه ۲۰۰ جفت بازی حاوی مکان اثر آنزیم TspRI، با استفاده از پرایمرهای مربوطه به روش PCR تکثیر شد. این قطعه ۲۰۰ جفت بازی دارای یک مکان اثر برای آنزیم TspRI است و موقعیت A+163G مکان پلی مورفی برای آنزیم TspRI است. میزان ۵ میکرولیتر از محصول PCR با ۱۰ واحد آنزیم TspRI و ۱۰ میکرولیتر بافر مربوطه (حجم نهایی ۵۰ میکرولیتر) به

(سیگنالینگ) می‌باشد.<sup>(۴)</sup> در مطالعات انجام شده، یک پلی مورفیسوم نوکلئوتیدی منفرد در ژن SUMO4 شناسایی شده که موجب جایگزینی اسید آمینه والین در کدون ۵۵ به جای اسید آمینه متیونین گشته و واریانت M55V خوانده می‌شود.<sup>(۵)</sup> این مطالعات بیانگر یک جهش ژنی در SUMO4 و تغییر در نوکلئوتید ۱۶۳ هستند که نوکلئوتید آدنین به گوانین تبدیل می‌شود.<sup>(۶)</sup> بنابراین جدا از فاکتورهای خطر مانند سن و جنس، انتظار می‌رود که پلی مورفیسوم‌های این ژن نیز احتمالاً در پاتوژنز بیماری دیابت دخالت داشته باشد. در این مطالعه، پلی مورفیسوم ژنتیکی SUMO4 (واریانت M55V) به منظور بررسی ارتباط آن با بیماری دیابت ۲ در نژاد ایرانی مورد بررسی قرار گرفته است.

### روش کار

این تحقیق یک نوع مطالعه مقطعی است. در این مطالعه ۵۰ نفر بیمار دیابتی و ۵۰ نفر فرد سالم مورد مطالعه قرار گرفتند. در دو جامعه مورد پژوهش کنترل و بیمار دیابتی، جنسیت در میزان متغیرها تأثیری ندارد و دو جامعه از نظر سنی در محدوده ۲۵-۴۰ سال قرار دارند.

نمونه‌ها تحت شرایط زیر وارد مطالعه شده اند: ۱- برای بیماران دیابتی قند خون غیر ناشتای بیشتر از ۲۰۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر، ۲- برای افراد سالم قند خون غیر ناشتای کمتر از ۲۰۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر، ۳- توافق جهت ورود به مطالعه و تکمیل فرم رضایت نامه، ۴- داشتن DNA قابل قبول از لحاظ میزان و خلوص، ۵- نمونه‌های کنترل و مورد، محدوده سنی بین ۲۰-۴۵ سال داشتند.

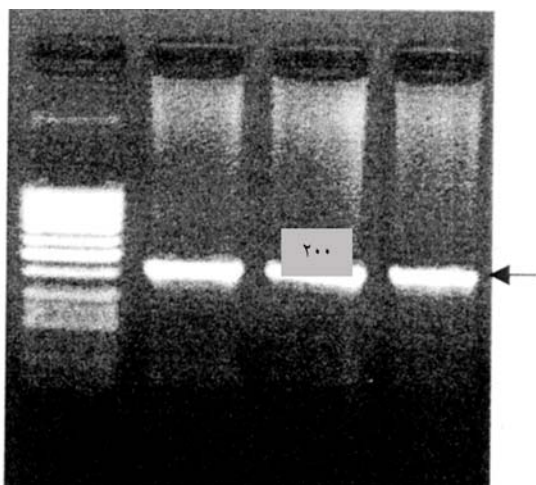
از تمام این افراد جهت انجام آزمایش قند خون و استخراج DNA، نمونه خون گرفته شد و استخراج DNA به روش Salting-out صورت گرفت.<sup>(۷)</sup> ابتدای کت (Buffy coat) گلبول‌های سفید در یک لوله فالكون ۱۵ میلی لیتری ریخته و با ۳ میلی لیتر بافر لیز کننده به حالت تعلیق در آمد. جهت هضم سلول‌های لیز شده ۰/۲ میلی لیتر از SDS ۱۰٪ و ۰/۵ میلی لیتر محلول پروتئیناز K به آنها اضافه نموده و

خون نشان می‌دهد که در افراد کنترل میانگین قند خون زنان  $mg/dl$   $160 \pm 7/3$  و برای مردان  $mg/dl$   $160 \pm 7/4$  می‌باشد. میانگین قند در زنان دیابتی  $mg/dl$   $200 \pm 37/2$  و میانگین قند در مردان دیابتی  $mg/dl$   $248 \pm 37/2$  بدست آمد.

انجام آزمون آماری chi-square مستقل در فاصله اطمینان ۹۰٪ حاکی از عدم ارتباط معنی‌دار میان وجود پلی مورفیسم M55V در دو گروه کنترل و بیمار بود ( $P=0.7$ ,  $x^2=1.6$ ;  $df=2$ ).

**جدول شماره ۱- فراوانی آللی، ژنوتایپی و فنوتایپی پلی مورفیسم M55V در افراد گروه کنترل و بیماران**

		بیماران	کنترل
ژنوتایپ	AA	۱۰٪ (۲۰)	۱۳٪ (۲۶)
	AG	۲۲٪ (۴۴)	۲۵٪ (۵۰)
	GG	۱۸٪ (۳۶)	۱۲٪ (۲۴)
آلل	کل	۵۰٪ (۱۰۰)	۵۰٪ (۱۰۰)
	A	۴۲٪ (۴۲)	۵۱٪ (۵۱)
	G	۵۸٪ (۵۸)	۴۹٪ (۴۹)
	کل	۱۰۰٪ (۱۰۰)	۱۰۰٪ (۱۰۰)



**شکل شماره ۱- الگوی الکتروفورزی یک فرد کنترل و دو بیمار دیابتی در کنار سایز مارکر ۵۰ pb بر روی ژل آگارز ۱.۵٪ و رنگ آمیزی برمید اتیدیوم**  
ستون اول از سمت چپ: سایز مارکر ۵۰-۱۰۰ جفت باز  
ستون دوم و سوم از سمت چپ: نمونه ۲ بیمار دیابتی  
ستون چهارم از سمت چپ: نمونه یک فرد سالم

مدت ۱۶ ساعت در دمای  $65^{\circ}C$  هضم گردید. سپس به همراه DNA استاندارد بر روی آگارز ۳ درصد و با رنگ آمیزی برمید اتیدیوم الکتروفورز شد. جهت محاسبات آماری از نرم افزار SPSS ver 11.5 کمک گرفته شد. همه متغیرها از توزیع نرمال بر خوردار بودند و مطابق قانون هاردی واینبرگ بودند. تفاوت‌های آماری بین پارامترهای با استفاده از آزمون T-Student محاسبه شد. جهت بررسی قانون هاردی واینبرگ از روش زیر استفاده شد:

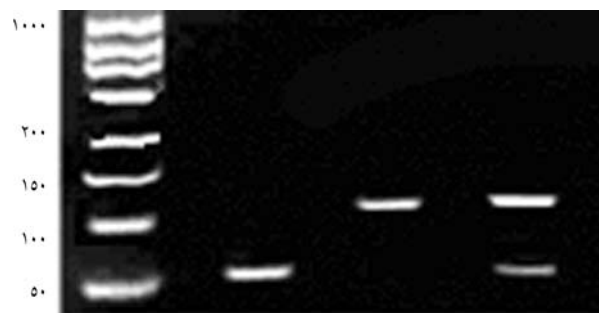
فراوانی آلل  $q = A$  و فراوانی آلل  $p = G$ ,  $p^2 + 2pq + q^2 = 1$ \*  
آزمون آماری chi-square مستقل جهت بررسی ارتباط میان وجود پلی مورفیسم M55V در دو گروه کنترل و بیمار مورد استفاده قرار گرفت.

## یافته‌ها

یک قطعه ۲۰۰ جفت بازی نسبت به مکان شروع رونویسی ژن SUMO4 حاوی مکان اثر آنزیم TspRI، با استفاده از پرایمرهای مربوطه به روش PCR تکثیر شد. این قطعه ۲۰۰ جفت بازی (شکل شماره ۱) دارای یک مکان اثر برای آنزیم TspRI است و موقعیت A+163G مکان پلی مورفی برای آنزیم TspRI است. در صورت وجود پلی مورفیسم M55V و جایگزینی نوکلئوتید G به جای A، دو جایگاه اثر برای آنزیم محدودگر TspRI (به ترتیب قطعاتی با طولهای ۱۳۴ و ۶۶ نوکلئوتید و همچنین ۱۷۴ و ۲۶ نوکلئوتید) و در صورت عدم وجود پلی مورفیسم، تنها یک جایگاه اثر ایجاد خواهد شد و قطعات ۱۳۴ و ۶۶ نوکلئوتیدی دیده می‌شوند (شکل شماره ۲).

همانطور که در جدول شماره ۱ ملاحظه می‌گردد، فراوانی آللی و توزیع ژنوتایپی پلی مورفیسم M55V در دو گروه مورد مطالعه کنترل و بیمار نشان داده شده است، فراوانی آلل A به ترتیب ۵۱٪ و ۴۲٪ و فراوانی آلل G در این افراد به ترتیب ۴۹٪ و ۵۸٪ می‌باشد و در افراد گروه‌های کنترل و بیمار فراوانی ژنوتایپ‌ها به ترتیب به صورت AA ۲۶٪ و ۲۰٪، AG ۵۰٪ و ۴۴٪ و GG نیز ۲۴٪ و ۳۶٪ نیز به دست آمد. نتایج آزمایش قند

بیماری‌ها موثرند. همانطور که اشاره شد در نتایج حاصل از برخی مطالعات عدم اختلاف معنی‌دار ژنوتیپ‌های Sumo4 بین دو گروه کنترل و بیماران دیابتی، قابل مشاهده می‌باشد که مشابه نتایج به دست آمده این پژوهش در این مطالعه می‌باشد. بنابراین می‌توان گفت که بیماری دیابت یک بیماری با علل و عوامل مختلف ژنتیکی و اکتسابی و محیطی است که به صورت بسیار پیچیده تحت تاثیر این عوامل بروز می‌کند. که در این بررسی تنها یک عامل به صورت فقط یکی از پلی مورفیسم‌های ژن دخیل در بروز بیماری مورد مطالعه قرار گرفته است که یک فاکتور از چندین فاکتور دخیل در این بیماری است. بنابراین چون علل و عوامل مختلفی در بروز و شدت بیماری وجود دارد می‌توان گفت احتمالاً علل و عوامل مهمتر از این پلی مورفیسم نیز در بروز یا شدت بیماری دیابت دخالت دارند که نیازمند به بررسی بیشتری است. همانطور که در مبحث نتایج اشاره گردید در دو گروه کنترل و بیمار فراوانی آلل A به ترتیب ۵۱٪ و ۴۲٪ و فراوانی آلل G در این افراد به ترتیب ۴۹٪ و ۵۸٪ می‌باشد و فراوانی ژنوتیپ‌های GG, AG, AA مورد بررسی قرار گرفت به ترتیب در افراد گروه‌های کنترل و بیمار AA ۲۶٪ و ۲۰٪، AG ۵۰٪ و ۴۴٪ و GG نیز ۲۴٪ و ۳۶٪ به دست آمد که این نتایج با نتایج به دست آمده در برخی از جوامع هم‌خوانی و یا با برخی از جوامع دیگر تفاوت دارد. در سالهای اخیر مطالعات بر روی پلی مورفیسم ژن Sumo4 و ارتباط میزان فراوانی انواع آللهای مختلف این ژن با برخی از بیماری‌ها مانند دیابت و بیماری‌های اتوایمون توسط بسیاری از محققین در دست انجام می‌باشد، و نتایج ضد و نقیصی متناسب با موقعیتهای جغرافیایی، محیطی و نژاد در جوامع مختلف قابل مشاهده است. امروزه مشخص شده که ژن Sumo4 بطور طبیعی وظیفه تنظیم عملکرد سیستم ایمنی بدن به منظور مقابله با عفونت‌ها را بر عهده دارد. با توجه به اینکه این ژن بطور طبیعی عملکرد سیستم ایمنی بدن را کنترل می‌کند. لذا



شکل شماره ۲- الگوی الکتروفورزی چند نمونه از محصولات هضم شده PCR توسط آنزیم محدودگر TspRI بر روی ژل آگارز ۳٪ و رنگ آمیزی برمیید اتیدیوم، از چپ به راست: سباز مارکر، AA، AG، GG

### بحث و نتیجه گیری

در توضیح اهمیت مسئله پلی مورفیسم واریانت M55V باید گفت که میزان شیوع واریانت M55V ژن Sumo4 در جوامع و قومیت‌های مختلف بسیار متفاوت و متغیر می‌باشد و این تغییر و تفاوت ناشی از عوامل مختلف محیطی و ژنتیکی است. همانطور که نتایج بدست آمده از مطالعات بر روی جوامع و قومیت‌های مختلف نشان می‌دهد یک هتروژنوسیته معنی‌داری بین ژن Sumo4 در افراد دیابتی تیپ II، I با قومیت‌های مختلف وجود دارد. در بحث اینکه چرا یافته‌های بدست آمده در برخی از جوامع مختلف متفاوت یا موافق با یافته‌های بدست آمده در مطالعه ما می‌باشد. باید این مسئله را در نظر گرفت که علاوه بر تفاوت در شرایط انتخاب افراد بیمار و کنترل در مطالعات مختلف، فاکتورهایی نظیر قومیت، نژاد، تغذیه، عوامل محیطی و غیره نیز باید مورد تجزیه و تحلیل قرار گیرد و مطالعات بیشتری باید انجام پذیرد تا نقش پلی مورفیسم M55V به عنوان یک فاکتور خطرزای مستقل در بیماری دیابت ثابت شود و اینگونه مطالعات در سطح وسیعی از افراد بیمار و کنترل انجام گیرد و باید این مسئله را در نظر داشت که پلی مورفیسم‌ها تنها بخشی از عوامل دخیل در بروز بیماری‌ها می‌باشند. سایر فاکتورهای اکتسابی و محیطی نظیر تغذیه، سبک زندگی، مواد شیمیایی محیطی و فاکتورهای متعدد دیگری در اتیولوژی

گزارش شده است و به وجود یک ارتباط معنی‌دار بین واریانت M55V ژن Sumo4 و شدت بیماری نفروپاتی تاکید شده است.<sup>(۱۱)</sup> در حالیکه نتایج حاصل از مطالعات بر روی جمعیتی از دیابتی‌های تیپ ۲ همراه با نفروپاتی در جامعه سفید پوست (قفقازی) توسط Haman و همکارانش نشان می‌دهد که بین واریانت M55V و بیماری دیابتی نفروپاتی هیچ رابطه‌ای وجود ندارد.<sup>(۱۲)</sup>

نتایج حاصل از مطالعات NOSO و همکارانش میزان فرکانسهای AA، AG و GG را بترتیب ۴۱٪، ۴۷٪ و ۱۲٪ برای جمعیت ژاپنی و ۴۸٪، ۴۴٪ و ۸٪ را برای جمعیت تایوان نشان می‌دهند.<sup>(۱۳)</sup>

از طرف دیگر مشخص شده که بین بروز برخی از از بیماریها مانند بیماری تیروئید، روماتوئید، بیماری اتوایمون و دیابت نوع I، II با بروز موتاسیون یا پلی مورفیسم در ژن Sumo4 (M55V) در جمعیت‌های با قومیت‌های مختلف ارتباطی وجود دارد.<sup>(۱۴، ۱۵)</sup> از اینرو یکی از فاکتورهایی که در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفته، بررسی مقایسه‌ای پلی مورفیسم این ژن در افراد دیابتی نوع II می‌باشد. در این مطالعه در نژاد سفیدپوست ایرانی ارتباطی بین بیماری دیابت تیپ ۲ و واریانت M55V ژن SUMO4 وجود ندارد.

جهش این ژن موجب اختلال در عملکرد سیستم ایمنی و نهایتاً اختلال در عملکرد بافتهای دیگر می‌شود. از طرفی اختلال در این ژن سبب بروز واکنش سیستم ایمنی در برابر محرکهای طبیعی می‌گردد.<sup>(۱۰)</sup>

پروتئین Sumo4 متعلق به خانواده Sumo اساساً در کلیه و سیستم ایمنی بیان می‌شود و از طریق مدیفیکاسیون سوبسترای اختصاصی خود بنام مهار کننده فاکتور هسته‌ای کاپای B (INFKB) که یک تنظیم کننده منفی NFkB (که خود در پاتوژنز بسیاری از بیماریها نقش داشته) در مسیر انتقال پیام (مسیر سیگنالینگ) است می‌تواند پاسخهای ایمنی را تنظیم و کنترل نماید.<sup>(۴)</sup> نتایج حاصل از مطالعات Hsing و همکارانش بر روی پلی مورفیسم ژن Sumo4 در جمعیتی از بیماران دیابتی تیپ ۲ در تایوان نشانگر وجود یک رابطه معنی‌دار بین ژنوتیپ ژن و بیماری میکروآلبومین یوری (نفروپاتی) می‌باشد.<sup>(۱۱)</sup> در این مطالعه فرکانس آللهای AA، GA و GG ژن مذکور در گروه کنترل با آلومین یوری نرمال بترتیب ۵۹/۶٪، ۴۰/۷٪، ۶/۷٪، در گروه دیابتی همراه با میکروآلبومین یوری بترتیب ۳۶/۹٪، ۴۶/۲٪ و ۱۶/۶٪ برای گروه دیابتی همراه با ماکروآلبومین یوری بترتیب ۳۶/۹٪، ۴۶/۲٪ و ۱۶/۴٪

## فهرست منابع

1- Andreoli TE, Carpenter CCJ, Griggs RC, Loscalzo J. Cecil essentials of medicine, 7<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Saunders, 2007. p. 475

2- Bohren KM, Nadkarni V, Song JH, Gabbay KH, Owerbach DA. M55V polymorphism in a novel SUMO gene (SUMO-4) differentially activates heat shock transcription factors and is associated with susceptibility to type I diabetes mellitus. J Biol Chem. 2004; 279(26): 27233-27238

3- Bierhaus A, Schiekofler S, Schwaninger M, Andrassy M, Humpert PM, Chen J, et al. Diabetes-associated sustained activation of the transcription factor nuclear factor-kappaB. Diabetes. 2001; 50(12): 2792-808

4- Guo D, Li M, Zhang Y; Yang P, Eckenrode S, Hopkins D, et al. A functional variant of SUMO4, a

new I kappa B alpha modifier, is associated with type I diabetes. Nat Genet. 2004; 36: 837-41

5- Shinsuke N, Hiroshi I, Tomomi F, Yumiko K, Katsuaki A, Yoshihisa H, et al. Genetic heterogeneity in association of the SUMO4 M55V variant with susceptibility to type I diabetes. Diabetes. 2005; 54: 3582-3586

6- Park Y, Park S, Kang J, Yang S, Kim D. Assessing the validity of the association between the SUMO4 M55V variant and risk of type I diabetes. Nat Genet. 2005; 37: 112

7- Viljoen, Gerrit J, NelLouis H, Crowther R; editors. Molecular diagnostic PCR handbook. Hardbound: Springer, 2005. p. 307

- 8- Shah hosaini M, Tehrani SM . Vakonesh zanjiree. Chap Aval , Nashre Daneshgahe Azade Eslami Vahed Eslamshahr 1383.
- 9-Mohammadpor M.M, Karbord Biothecnology Ba Morori ba Biothecnology. Chap Aval. Tehran Entesharat Amidy , 1381,
- 10- Ritz E, Orth SR. Nephropathy in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. New England Journal of Medicine.1999; 341:1127-133
- 11- Hsing-Yi L, Chiao-Ling W, Pi-Jung H, Yung-Chuan L, Su-Yu C, Kun-Der L , et al. SUMO4 M55V Variant Is Associated With Diabetic Nephropathy in Type 2 Diabetes. Diabetes. 2007; 56: 1177-180
- 12- Rudofsky G, Schlotterer A, Nawroth P, Bierhaus A, Hamann A. SUMO4 M55V variant is associated with diabetic nephropathy in type 2 diabetes: Diabetes. 2007; 56(8): 11
- 13- Noso S, Ikegami H, Fujisawa T, Kawabata Y, Asano K, Hiromine Y, et al. Association of SUMO4, as a candidate gene for IDDM5, with susceptibility to type 1 diabetes in Asian populations. Ann NY Acad Sci. 2006; 1079: 41-46
- 14- Sedimbi SK, Shastry A, Park Y, Rumba I, Sanjeevi CB. Association of SUMO4 M55V polymorphism with autoimmune diabetes in Latvian patients. Ann NY Acad Sci. 2006; 1079: 273-77
- 15- Tsurumaru M, Kawasaki E, Ida H, Migita K, Moriuchi A, Fukushima K, et al. Evidence for the Role of Small Ubiquitin-Like Modifier 4 as a general autoimmunity locus in the Japanese population. Clin Endocrinol Metab. 2006; 91(8): 3138 -143
- 16- Sedimbi SK, Kanungo A, Shastry A, Park Y, Sanjeevi CB. No association of SUMO4 M55V with autoimmune diabetes in Asian-Indian patients. Int J Immunogenet. 2007; 34(2): 137-42

## Association of M55V Polymorphism of Sumo4 with Type 2 Diabetes

\*S. Fallah, PhD<sup>I</sup> M. Hedayati, PhD<sup>III</sup> M. Ja'farzadeh, MS<sup>II</sup> R. Haji Hosseini, PhD<sup>IV</sup>

### Abstract

**Background & Aim:** Sumo4 has recently been found to be mainly expressed in kidney. Single nucleotide polymorphism, which is detected in sumo4, replaces a highly conserved methionine with a valine (M55V) residue. This variant of sumo4 may induce higher nuclear factor- $\kappa$ B (NFKB) activity because NFKB is known to mediate the development of diabetic nephropathy.

**Patients and Method:** This study involved 50 patients with type 2 diabetes and 50 healthy subjects. The M55V polymorphism of sumo4 was genotyped by PCR and restriction enzyme digestion. The serum glucose concentration was measured by enzymatic method. Students' t-test and Chi-square test were used to analyze the data.

**Results:** The frequency of sumo4 AA, GA and GG was 20%, 44% and 36% in the case group and 26%, 50% and 24% in the control group respectively.

**Conclusion:** The results suggest that the sumo4 M55V variant is not associated with type 2 diabetes mellitus susceptibility, suggesting that it may not be involved in the pathogenesis of type 2 diabetes.

**Key Words:** 1) Diabetes 2) Polymorphism 3) Mutation  
4) Restriction Enzyme 5) Sumo4 Gene

*This article is an abstract of Mr. Ja'farzadeh's thesis advised by Dr. Fallah and read by Dr. Hedayati and Dr. Haji Hosseini in partial fulfillment of an MS degree in biochemistry.*

*I) Assistant Professor of Biochemistry. Iran University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran. (\*Corresponding Author)*

*II) MS in Biochemistry. Iran University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran.*

*III) Assistant Professor of Biochemistry. Shahid Beheshti University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran.*

*IV) Associate Professor of Biochemistry. Payam-e-Noor University. Tehran, Iran.*