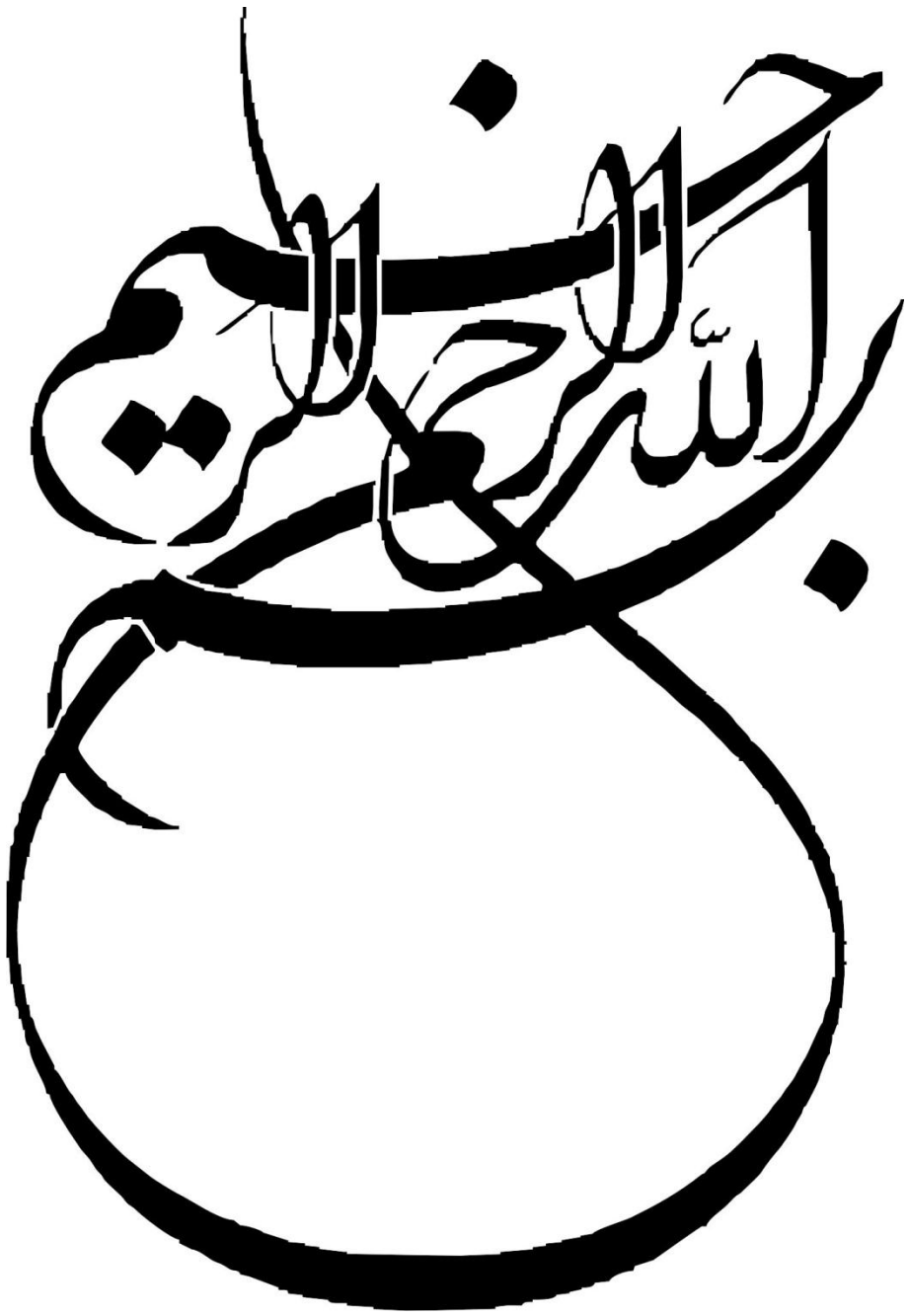
بسم الله الرحمن الرحيم

دانشکده کشاورزی

گروه علوم دامی

پایان نامه جهت دریافت درجه کارشناسی ارشد

در رشته ژنتیک و اصلاح دام

تأثیر آفلاتوکسین B1 بر رشد سلول‌های اپیتلیال پستان گاو، و بیان ژن STAT5

در شرایط کشت آزمایشگاهی

تحقیق و نگارش:

علی فروهرمهر

استاد راهنما:

دکتر محمد طاهر هرکی‌نژاد

دکتر بابک قاسمی پناهی

زمستان ۱۳۹۱

تقدیم به

همه کسانی که برای آرامش و سر بلندی این

خاک

از گوهر جان گذشتند.

تقدیر و تشکر

به نام آن که هستی از اوست .اکنون که به یاری خداوند متعال توانسته‌ام این مقطع تحصیلی را با موفقیت به پایان برسانم، بر خود لازم می‌دانم از همه‌ی عزیزانی که مرا در انجام این تحقیق یاری کرده‌اند تشکر و قدردانی نمایم. لذا مراتب سپاس خود را نسبت به اساتید گران‌قدر آقایان دکتر طاهر هرکی‌نژاد و دکتر بابک قاسمی پناهی که در هر آنچه نیکوتر شدن این پژوهش این جانب را یاری نموده‌اند ابراز داشته و از آقایان مهندس، سید هادی حسینی، حمزه آذری، کرامت شاکرمی، آرمان رزازیان، امین چلوی، وحید سلمانی، علی جمالی و دوستان عزیزم، علی یاری، سعید حاجی، مرتضی نیلوفری، آیت موید و علی علیزاده که همواره محبتشان مایه دل گرمی من بوده کمال تشکر و قدردانی را دارم.

در پایان از خانواده عزیزم، پدر، مادر، خواهران، برادر، همسر مهربانم و خانواده محترم‌اش که همواره در دوران تحصیل و مراحل مختلف زندگی مشوق و پشتیبان این جانب بودند، سپاسگزارم.

چکیده

امروزه در موارد زیادی دیده شده است که آفلاتوکسین‌ها به شیر منتقل شده‌اند. این مواد توسط قارچ‌های چون *Aspergilus. flvaus* و *A. parasiticus* تولید می‌شوند، و از طریق خوراک آلوده وارد دستگاه گوارش و سپس پستان می‌شوند. با توجه به سمیت این مواد به نظر می‌رسد که بر رشد سلول‌های اپیتلیال پستانی تاثیر داشته باشند. یکی از مهمترین ژن‌های تاثیر گذار بر رشد سلول‌های اپیتلیال پستان STAT5A می‌باشد که در پاسخ به پرولاکتین بیان می‌شود، حضور آفلاتوکسین B1 در پستان گاو می‌تواند بیان این ژن را نیز تحت تاثیر قرار دهد. برای بررسی این موضوع سلول‌های اپیتلیال بافت پستان گاو در حالت کشت تک لایه و سه بعدی مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظور بافت پستان گاو پس از کشتار در اندازه ۲×۲cm جداه شد و پس از ضد عفونی و شتشوی لازم در کشتارگاه در کنار یخ به آزمایشگاه انتقال داده شد، پس از هضم آنزیمی با کلاژناز، به منظور رسیدن به تعداد سلول مناسب، کشت تک لایه صورت گرفت. رشد سلول‌ها نشان داد که این سلول‌ها در حالت کشت سلولی اولیه(Primary culture) رشد خوبی دارند. بعد از رسیدن به تعداد سلول مناسب، سلول‌ها به ۱۶ چاهک از یک پلیت ۲۴ خانه که به منظور کشت سه بعدی با ماتریژل پوشیده شده بود پاساژ داده شد. با گذشت ۲۱ روز از کشت سه بعدی و رسید به تعداد سلول لازم، سه غلظت ۱۵، ۲۵ و ۳۵ میکرولیتر از آفلاتوکسین B1 (هر کدام با چهار تکرار) به کشت اضافه. بعد از جداسازی سلول‌های از ماتریژل استخراج RNA با استفاده از کیت صورت گرفت و به منظور تعیین کمیت وکیفیت RNA نانودراپ انجام شد. همچنین بعد از سنتز cDNA توسط کیت به منظور بررسی بیان ژن STAT5A و GPDH، Real Time-PCR صورت گرفت. با گذشت ۲۴ ساعت از اضافه کردن سم بر سلول‌ها، مشاهده شد در مقایسه با گروه کنترل با افزایش غلظت سم میزان نکروز سلولی بیشتر شد به طوری که کمترین میزان نکروز در تیمار با غلظت ۱۵ میکرولیتر و بیشترین میزان آن در تیمار با غلظت ۳۵ میکرولیتر بود. همچنین مشاهده شد در مقایسه با گروه کنترل با افزایش غلظت سم میزان بیان ژن STAT5A نیز کاهش یافت. با توجه به نتایج به دست آمده به نظر می‌رسد که حضور آفلاتوکسین B1 علاوه بر مضراتی که ممکن است از طریق شیر برای مصرف کننده داشته باشد می‌تواند به بافت پستان دام نیز آسیب برساند.

واژگان کلیدی: ماتریژل ، آفلاتوکسین B1، کشت سه بعدی، کشت تک لایه.

۱- مقدمه و کلیات ۲

۱-۱- مقدمه ۲

۱-۲- اهداف تحقیق ۷

فصل دوم بررسی منابع ۸

۲- بررسی منابع ۹

۲-۱- آفلاتوکسین‌ها ۹

۲-۲- اثر آفلاتوکسین بر سلامت انسان و دام ۹

۲-۳- تأثیر آفلاتوکسین‌ها بر محتوای ژنتیکی سلول ۱۱

۲-۴- بافت شناسی غدد پستانی ۱۱

۲-۴-۱- رشد و نمو غدد پستانی ۱۲

۲-۴-۱-۱- کنترل هورمونی رشد غدد پستانی ۱۵

۲-۵- بیولوژی STAT ها ۱۵

۲-۵-۱- ساختار ۱۶

۲-۵-۲- عملکرد STAT ها ۱۶

۲-۵-۲-۱- STAT5 ..... ۱۹

۲-۵-۲-۲- فعالیت $STAT_{5a}$ ۱۹

۲-۵-۲-۲-۱- تنظیم فعال سازی $STAT_5$ در فعال سازی تکثیر و تمایز سلول های اپیتلیال پستان..... ۲۲

۲-۶- پرولاکتین ۲۲

۲-۷- کشت سلول و بافت ۲۳

۲-۷-۱- تفاوت‌های اساسی کشت سلول (in vitro) و مطالعات in vivo..... ۲۴

۲-۷-۲- انواع روش‌های کشت ۲۵

۲-۷-۲-۱- کشت اندام..... ۲۵

۲-۷-۲-۲- کشت سلول ۲۶

۲-۷-۲-۲-۱- مدل کشت سه بعدی..... ۲۷

۲-۷-۲-۲-۲- کشت سه بعدی در مباحث سم شناسی ۲۸

۲-۷-۲-۳- انواع روش‌های کشت سه بعدی بر اساس ماتریکس خارج سلولی ۲۹

۲-۷-۲-۳-۱- کشت سه بعدی بر اساس هیدروژل‌ها..... ۲۹

۲-۷-۲-۳-۲- کشت بر پایه کلاژن نوعI..... ۲۹

۲-۷-۲-۳-۳- کشت سه بعدی بر اساس غشای پایه آماده..... ۳۰

۲-۸-آپوپتوز، مرگ برنامه ریزی شده سلول ۳۰

۲-۸-۱- آپوپتوز و نکروز ۳۱

۲-۸-۲-مسیرهای آپوپتوزی ۳۲

۲-۸-۲-۱ مسیرخارجی یا آپوپتوز القاء شده توسط گیرنده‌های مرگ ۳۲

۲-۸-۲-۲-مسیر داخلی یا مسیر میتوکندریایی آپوپتوز ۳۳

۲-۸-۳- کاسپازها ۳۵

۲-۹-تنظیم بیان ژن ۳۶

۲-۹-۱- تنظیم بیان ژن در یوکاریوت‌ها ۳۷

۲-۹-۱-۱- تغییر در ساختمان DNA ۳۷

۲-۹-۱-۲- تنظیم رونویسی ۳۹

۲-۹-۱-۳- تنظیم پس از رونویسی ۳۹

۲-۹-۲- RT-PCR کمی ۴۰

۲-۹-۲-۱- کمیتسنجی مطلق ۴۲

۲-۹-۲-۲- کمیتسنجی نسبی ۴۲

۲-۹-۲-۲-۱- روش منحنی استاندارد ۴۳

۲-۹-۲-۲-روش Ct مقایسهای ۴۳

۲-۹-۲-۳- آنالیز دادههای حاصل از Real-Time PCR کمی ۴۴

۲-۹-۳- اندازهگیری بیان ژن بر اساس تعداد ۴۴

۲-۹-۴- روش ریز آرایه ۴۵

۲-۹-۵- روش آرایههای مرتب ۴۵

۲-۱۰- از چه روشی برای آنالیز دادهها حاصل از بیان ژن باید استفاده کرد؟ ۴۵

۲-۱۰-۱- نرمال کردن دادههای به دست آمده در روشهای مختلف بیان ژن ۴۶

فصل سوم مواد و روشها ۴۶

۳- مواد و روشها ۴۷

۳-۱- کشت سلول ۴۸

۳-۱-۱- آماده سازی اتاق کشت ۴۸

۳-۱-۱-۱- ضدعفونی اتاق کشت ۴۸

۳-۱-۱-۲- آماده سازی انکوباتور CO2 دار ۴۷

۳-۱-۱-۳- آماده سازی هود ۴۸

۳-۱-۲- نمونه گیری ۴۹

۳-۱-۳- کشت اولیه(کشت تک لایه) ۵۰

۳-۱-۳-۱ تعویض محیط کشت ۵۱

۳-۳-۲- پاساژ سلول‌ها ۵۱

۳-۱-۴- کشت سه بعدی ۵۲

۳-۱-۴-۱- تعویض محیط کشت در شرایط سه بعدی ۵۳

۳-۱-۴-۲- MTT تست ۵۳

۳-۱-۴-۳- اعمال تیمارها ۵۴

۳-۱-۴-۴- جدا سازی سلول‌ها از ماتریژل ۵۴

۳-۲- استخراج RNA ۵۵

۳-۳- تعیین کمیت و کیفیت RNA استخراج شده ۵۷

۳-۴- سنتز cDNA ۵۷

۳-۵- ژن مورد نظر و طراحی پرایمر ۵۸

۳-۶- تکثیر cDNA و شرایط انجام Real Time PCR ۵۹

۳-۷- تهیه منحنی استاندارد به منظور برآورد کارایی واکنش ۵۹

۳-۸- تجزیه داده های C_t حاصل از واکنش Real time PCR ۶۰

۴- نتایج و بحث ۶۳

۴-۱- رشد سلول‌ها اپیتلیال پستان گاو در شرایط کشت تک لایه ۶۳

۴-۲- رشد سلول‌های اپیتلیال پستان در شرایط کشت سه بعدی ۶۶

۴-۳- بررسی قدرت زنده مانی سلول‌های پستان تحت غلظت‌های مختلف آفلاتوکسین B1 ۶۸

۴-۳-۱-تأثیر آفلاتوکسین B1 بر میزان نکروز سلول‌های اپیتلیال پستان در شرایط کشت سه بعد..... ۶۹

۴-۴- تأثیر آفلاتوکسین B1 بر بیان ژن STAT5A.....۷۳

شکل ۲-۱. ساختار شیمیایی آفلاتوکسین B1..... ۹

شکل ۲-۲.قسمت‌های مختلف سیگنال دهی(Liu et al., 1997) PrIR-jak$_2$-STAT5.....۲۲

شکل ۴-۱. نحوه گسترش و رشد سلول‌ها در کف فلاسک کشت بعد از اولین پاساژ سلولی(عکس‌برداری با میکروسکوپ معکوس با بزرگ نمای ۲۰۰ برابر).....۶۵

شکل ۴-۲. سلول های دچار مرگ برنامه ریزی شده(عکس برداری با میکروسکوپ معکوس با بزرگنمایی ۲۰۰ برابر) ۶۵

شکل ۴-۳. اشکال سلولی حاصل از کشت سه بعدی سلول بر اساس مشاهدات کنی وهمکاران(۲۰۰۷). ...۶۶

شکل ۴-۴. توده های اولیه سلول در شرایط کشت سه بعدی(عکس برداری با میکروسکوپ معکوس با بزرگنمایی ۲۰۰ برابر) ۶۶

شکل ۴-۵. سلول های که بعد از ۲۱ روز از گذشت سه بعدی به شکل ماهواره درآمد(عکس برداری با میکروسکوپ معکوس با بزرگ‌نمایی ۲۰۰ برابر) ۶۷

شکل ۴-۶. نمودار حاصل از MTT تست ۶۹

شکل ۴-۷ . نکروز سلول در تیمار با غلظت ۰/۶ mg/µl(B) در مقایسه با گروه کنترل (A) در تحقیق بالدی و همکاران(۲۰۱۰).....۷۰

شکل ۴-۸. نکروز سلول‌های (نقاط تیره رنگ)اپیتلیال شش در اثر آفلاتوکسین(Legator, 1996). ۷۱

شکل ۴-۹ توده سلولی بدون اعمال آفلاتوکسین، گروه شاهد(عکس برداری با میکروسکوپ معکوس با

بزرگنمایی ۲۰۰ برابر). ۷۱

شکل ۴-۱۰. توده سلولی با اعمال ۱۵ میکرولیتر آفلاتوکسینB1، نکروز فقط در مرکز توده سلولی دیده می‌شود(عکس برداری با میکروسکوپ معکوس با بزرگنمایی ۲۰۰ برابر) ۷۱

شکل ۴-۱۱. دو توده سلولی در کنار هم که در اثر اعمال تیمار ۲۵ میکرو لیتری آفلاتوکسینB1 تقریباً نصف سلول‌های خود را از دست داده است(عکس برداری با میکروسکوپ معکوس با بزرگ نمایی ۲۰۰ برابر)..۷۲

شکل ۴-۱۲. دوتوده سلولی در کنار هم که در اثر اعمال تیمار ۳۵ میکرولیتر آفلاتوکسین B1 بیش از نصف از سلول‌های خود را از دست داده‌اند(عکس برداری با میکروسکوپ معکوس با بزرگنمایی ۲۰۰ برابر). ..۷۳

شکل ۴-۱۳. نمودار حاصل از Real time-PCR ژن STAT5A که کاهش بیان ژن را افزایش غلظت در مقایسه با گروه کنترل نشان می‌دهد. ۷۴

شکل ۴-۱۴. نمودار مربوط به آنالیز داده‌های حاصل از Real time –PCR، که نحوه کاهش بیان ژن STAT5A با افزایش غلظت آفلاتوکسینB1 را نشان می‌دهد. ۷۵

فهرست جداول

جدول ۲-۱ ..... ۱۹

جدول ۳-۱ مواد موجود در پرمیکس ۶۷

جدول ۳-۲ شرایط واکنش سنتز cDNA ۶۸

جدول ۳-۳ مواد مورد استفاده جهت واکنش Real time PCR ۶۹

جدول ۳-۴ برنامه زمانی و دمایی مورد استفاده در واکنش Real time PCR ۶۹

جدول ۳-۵ فهرست پرایمرهای استفاده شده ۷۰

فصل اول

مقدمـــــــــه و کلیـــــــــات

۱-مقدمه و کلیات

۱-۱- مقدمه

مایکوتوکسین‌ها به عنوان یکی از بارزترین آلوده کننده‌های مواد غذایی که بهداشت عمومی، امنیت غـذایی و اقتصاد ملی بسیاری از کشورها به ویژه کشورهای در حال توسعه را تحت تأثیر قرار می‌دهدند مورد بررسـی قرار می‌گیرند(البرزی، ۱۳۶۴ واله دادیان، ۱۳۸۰). در میان مایکوتوکسین‌ها، آفلاتوکسین‌هـا مهـم‌تـرین آن‌هـا هستند. آفلاتوکسین‌ها ترکیبات سمی هستند که به عنوان متابولیت‌های ثانویـه بـه وسـیله قـارچ‌هـایی چـون *Aspergillus.flvaus* و *A.parasiticus* به دنبال رشد روی مواد غذایی تولید می‌شوند. این ترکیبات به عنوان عوامل سرطان‌زا، جهش زا، ناقص الخلقه‌زا و تضعیف کننده سیستم ایمنی شناخته شده‌انـد(Jelinek et al., 1989; Jindal et al., 1993; Ammida et al., 2004). از میان ۱۸ نوع مختلـف آفلاتوکسـین شـناخته شـده، آفلاتوکسین‌های B1، B2، G1 و G2 توسط آژانس بـین‌المللـی تحقیـق روی سـرطان، در گـروه A عوامـل سرطان‌زا قرار گرفته‌اند. در این میان سمیت و سرطان زایی آفلاتوکسین B1 بیشتر از انواع دیگر گزارش شده است. آفلاتوکسین M1 متابولیت هیدروکسیله شده، آفلاتوکسین B1 است که در شیر حیوانات شیرده کـه از خوراک آلوده به آفلاتوکسین B1 مصرف کردانـد وجـود دارد کـه بـا پاستوریزاسـیون نیـز از بـین نمـی‌رود (Applabaum et al., 1982; Bachner et al., 1998; Ammida et al., 2004). هرچنـد کـه سـمیت و سرطان‌زایی این توکسین کمتر از آفلاتوکسین B1 است ولی از آن جایی که شیر و فرآورده‌های آن به عنـوان یکی از سالم‌ترین و پر مصرف‌ترین فرآورده‌هایی غذایی برای انسان خصوصاً کودکان مطرح هستند، حضـور

آفلاتوکسین M1 در این فراورده‌ها بالاتر از حد استاندارد برای مصرف کننده مخاطره‌آمیز است. همچنین حضور آفلاتوکسین B1 و سایر مواد خارجی در سلول‌های اپیتلیال پستان گاو دارای اثرات سویی بر این سلول‌ها بوده که می‌تواند تولید و کیفیت شیر را تحت تأثیر قرار دهد (Sakamoto et al., 19; Itahana et al., 2002; Yonekura et al., 2006; Yuchai et al., 2006). غده پستانی بافتی است که پس از بلوغ به حداکثر رشد می‌رسد. این بافت دارای چرخه تکثیر و تمایز بوده که در هر آبستنی تکرار می‌شود. مهم‌ترین واحد عملی غده‌ای بافت پستان آلوئول است(کاری،۱۳۸۹)و مهم‌ترین ژن تأثیرگذار در رشد و توسعه لوبول-آلوئول پستان STAT5A است(Richard et al., 2006).

خانواده STAT[1] در پستانداران از هفت زیر مجموعه تشکیل شده که به ترتیب با نام‌های STAT1، STAT2، STAT3، STAT4، STAT5A، STAT5B، STAT6 شناخته می‌شوند(Levy, 1999). این خانواده در پاسخ به دامنه وسیعی از تحریکات مانند هورمون رشد، پرولاکتین، سیتوکین‌ها و آنکوپروتئین‌ها فعال می‌شوند که نتیجه این فعال شدن، رشد، تقسیم و تمایز سلولی و اثرات ضد آپوپتوزیس است Bromberg, (2000). همان طور که گفته شد آفلاتوکسینB1 یکی از خطرناک‌ترین سموم است. این سم می‌تواند با تأثیر بر بیان ژن STAT5A در رشد و توسعه سلول‌های اپیتلیال پستان و در نهایت تولید شیر تأثیر گذار باشد.

آزمایشات سم شناسی بر روی حیوانات زنده از لحاظ هزینه و مسائل اخلاقی جای سوال دارد (Olson et

[1] -Signal Transducer and Activator of Transcription

al., 2000 ; Hasspieler et al., 2006). بنابراین آزمایشات بر اساس کشت سلول به عنوان یک جایگزین در نظر گرفته می‌شود کشت تک لایه متعارف نمی‌تواند ساختمان تکثیر بافت را در شرایط آزمایشگاهی برای سمیت اندام‌های خاص ایجاد نماید، از سوی دیگر کشت سه بعدی شرایط بیوشیمیایی و مکانیکی مشابه بافت را ایجاد کرده، و از این لحاظ قرابت بیشتری را با بافت در موجود زنده دارد. بنابراین آزمایشات سم شناسی بر اساس کشت سه بعدی نه محدودیت‌های مربوط به کار با حیوان را دارا می‌باشد و نه محدودیت مربوط به کشت تک لایه را و این نوع کشت اطلاعات دقیق‌تری در مورد اثرات توکسین‌ها بر بافت را در بلند مدت و کوتاه مدت به محققین می‌دهد (Pampaloni et al., 2007; Abraham et al., 2008; Mazzoleni et al., 2009). تحقیقی که در دانشگاه ورشو در لهستان توسط محققین انجام شد نشان داد که وقتی لاین سلولی (BME-UV1) را در دو محیط کشت تک لایه و سه‌بعدی ایجاد کنند. مشاهده شد میزان بیان ژن‌های این لاین سلولی در دو محیط کشت تک لایه و سه‌بعدی در پاسخ به IGF-1[۱] , EGF[۲] متفاوت می‌شود. این تحقیق پیشنهاد می‌کند که کشت سه‌بعدی روی ترکیبات ECM[۳] به عنوان مثال ماتریژل[۴] شرایط مناسب محیطی برای رشد و تمایز سلول فراهم می‌کند(Abraham et al., 2008).

در تحقیقی دیگری لاین‌های سلولی جدیدی با استفاده از سلول‌های اپیتلیال پستان بز ایجاد شدند که نام این لاین‌های سلولی TIGMC-1، TIGMC-2 و TIGMC-3 بود. این سه لاین سلولی ویژگی‌های مورفولوژیکی مشابه سلول‌های اپیتلیال داشتند. سلول‌های TIGMC دارای خصوصیات فنوتیپی و مورفولوژیکی سلول‌های

[۱]-Insulin-like Growth Factor1
[۲]- Epidermal Growth Factor
[۳]- Extra Cellular Martix
[۴]- Matrigel

مادریشان (GMEC) بودند.با بررسی رشد لاین‌های TIGMEC و GMEC مشخص شد که سرعت رشد سلول‌های GMEC پس از دو مرحله کشت بسیارکند می‌شود و پس از ۷ -۶ مرحله پاساژ سلول‌ها پیر می‌شوند در صورتی که لاین‌های سلول TIGMC هر ۲۴ تا ۴۸ ساعت یک بار تقسیم می‌شوند و بیشتر از یک سال بدون علامت پیری به همان حالت باقی می‌مانند

(Mselli-Akha et al.,2001). اثر هورمون (GH[۱]) و هورمون‌های لاکتوژنیک (DIP[۲])، بر روی بیان ژن لپتین نیز در یک لاین کلون شده سلول‌های اپیتلیال پستان گاو مورد بررسی قرار گرفته است.گزارش شده است که mRNA بیان شده در BMEC[۳] در اثر تیمار به وسیله GH و یا DIP وقتی که سلول‌ها در دو محیط کشت تک لایه و سه‌بعدی کشت داده شدند به طور معنی داری در روزهای دوم و هفتم کاهش پیدا کرده است. GIو DIP به طور معنی داری سطح mRNA آلفا- کازئین در BMEC را بعد از هفت روز روی محیط کشت افزایش داد اما بیان کازئین در روز دوم دیده نشد به هر حال بیان کازئین و ترشح آن هیچ یک حتی در حضور GH و DIP در کشت BMEC روی محیط کشت تک لایه مشاهده نشده است(Sakamoto et al., 1996).

CPh2[۴] موجب فعال شدن STAT5 و STAT3 می‌شود. STAT5 موجب رشد خارجی لوبول- آلوئولی و باعث تولید شیر می‌شود STAT3 در برگشت بافت پستان به حالت عادی نقش دارد. با خاموش کردن Cph2 رشد لوبول- آلوئول‌ها در زمان شیر دهی اتفاق نمی‌افتد، هم‌چنین در شرایط آزمایشگاهی باعث

[۱]-Growth Hormone
[۲]- Dexamethason-Insulin-Prolactin
[۳]- Brain Microvessel Endothelial Cell
[۴]- cytoplasmic tyrosin phosphatase

تخریب لوبول- آلوئول می‌شود و تولید شیر کاهش می‌یابد.Cph2 سبب فسفوریلاسیون STAT5 در پاسخ به پرولاکتین می‌شود. مشاهده شده است با خاموش کردن ژن Cph2 در سلول‌های اپیتلیال پستان موش تولید پرولاکتین کاهش می‌یابد (Fremy et al., 1981).

در نهایت با انجام این بررسی و روشن شدن این اثرات زیان بار و استفاده از نتایج این بررسی در مدیریت مزارع گاوهای شیری از یک سو کمتر شدن این اثرات را بر تولید و کیفیت شیر خواهیم داشت و از سوی دیگر حضور این مواد سرطان‌زا در شیر و در نتیجه زنجیره غذایی انسان کمتر خواهد شد.

۱-۲- اهداف تحقیق

- -شناخت تأثیر آفلاتوکسین B1 بر روی رشد سلول‌های اپیتلیال پستانی در حالت کشت تک لایه و سه بعدی.
- -اطلاع از تأثیر توکسین بر بیان ژن STAT5A سلول‌های اپیتلیال پستان، برای فهم بهتر مکانیسم تأثیر توکسین‌ها.