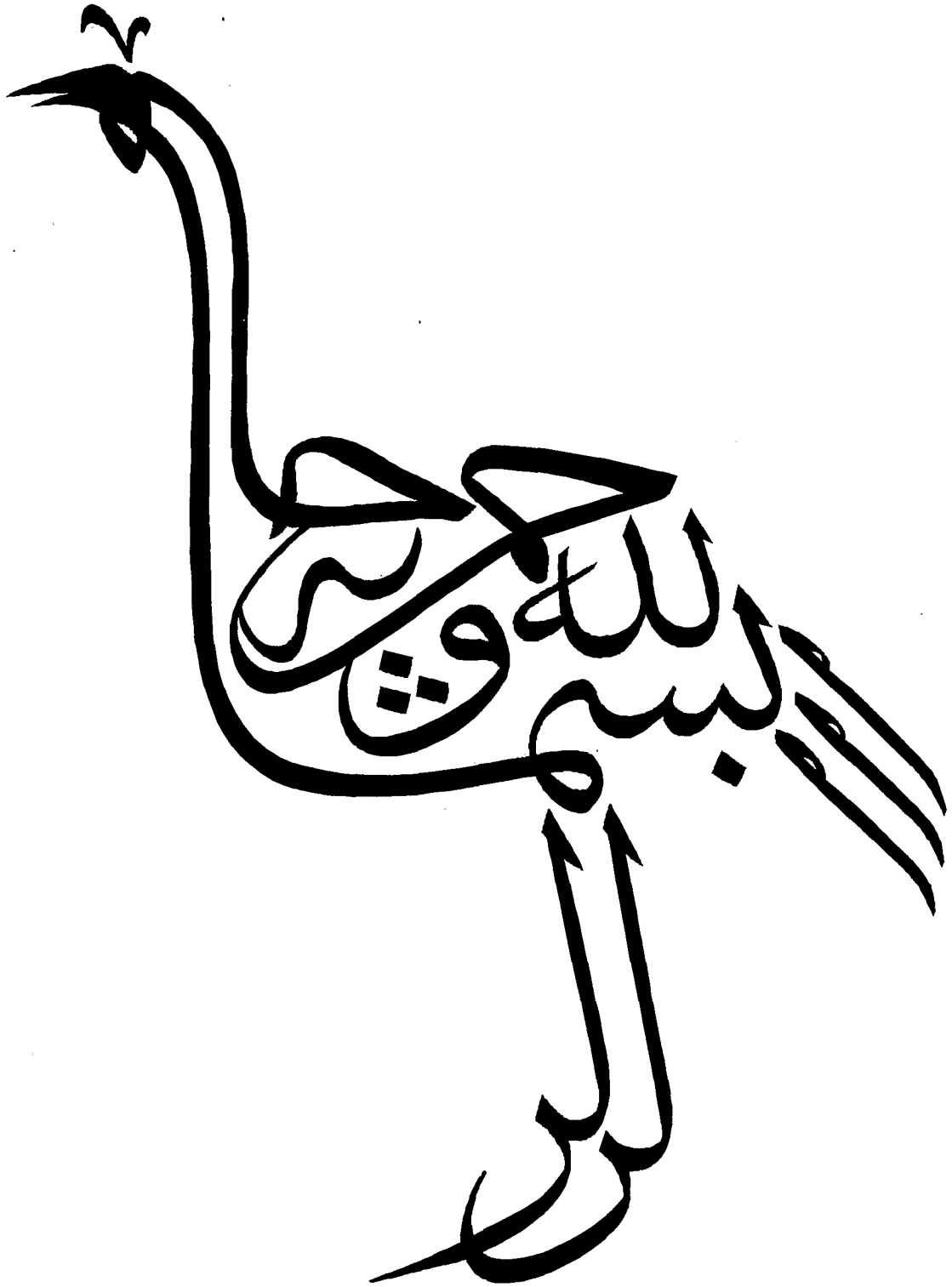

١٠٢٢٨٥

دانشگاه علوم بهزیستی و توان بخشی

گروه ژنتیک

پایا ن نامه کارشناسی ارشد ژنتیک

بررسی SNP های شناخته شده در ناحیه کد کننده ژن *ARLTS1* و یافتن واریانتهای جدید این منطقه در جمعیت زنان ایرانی مبتلا به تومور ارثی پستان

۱۳۸۷ /۳/ ۱۱

نگارش : مصطفی فخری

استاد راهنما: دکتر حمید رضا خرم خورشید

استاد مشاور: دکتر مینا اوحدی

استاد مشاور آمار: دکتر مسعود کریملو

۱۳۸۷

شماره ثبت:۱۳۱ - ۱۰۰۰

۱۳۸۷ /۳/ ۱۱

۱۰۳۲۸۵

۱۳۱- ۱۰۰۰

بسمه تعالی

دانشگاه علوم بهزیستی و توانبخشی

تعهد نامهٔ چاپ مطالب و مقالات مستخرج از پایان نامه یا رساله های دانشجویان دانشگاه علوم بهزیستی و توانبخشی

با عنایت به اینکه هر گونه مقاله استخراج شده از پایان نامه یا رساله و یا چاپ و انتشار بخشی یا تمام مطالب آن مبیّن قسمتی از فعالیتهای علمی – پژوهشی دانشگاه می باشد بنابراین اینجانب **مصطفی فخری** دانش آموخته رشته**ژنتیک** متعهد می شوم که موارد ذیل را کاملاً رعایت نمایم.

۱. در صورت اقدام به چاپ هر مقاله ای از مطالب پایان نامه، خود را بعنوان دانش آموخته دانشگاه علوم بهزیستی و توانبخشی معرفی نمایم و درج نام و آدرس محل دیگری خوداری کنم.

۲. در صورت اقدام به چاپ بخشی از یا تمام پایان نامه یا رساله خود، مراتب را قبلاً به طور کتبی به اطلاع "انتشارات" و "دفتر تحصیلات تکمیلی" دانشگاه علوم بهزیستی و توانبخشی برسانم.

۳. در صورت اقدام به چاپ پایان نامه یا رساله در صفحه سوم کتاب(پس از برگ شناسنامه) عبارت ذیل را درج نمایم:

" کتاب حاضر حاصل پایان نامهٔ کارشناسی ارشد نگارنده در رشته ژنتیک می باشد که در سال ۱۳۸۵ در دانشگاه علوم بهزیستی و توانبخشی به راهنمائی جناب آقای دکترحمیدرضا خرم خورشید و مشاورهٔ سرکار خانم دکتر مینا اوحدی و مشاورهٔ آمار جناب آقای دکترمسعود کریملو انجام و در سال ۱۳۸۷ از آن دفاع شده است."

۴. به منظور جبران بخشی از هزینه های انتشارات دانشگاه، تعداد یک در صد شمارگان کتاب(در هر نوبت چاپ) را به انتشارات دانشگاه علوم بهزیستی و توانبخشی اهداء نمایم. (دانشگاه می تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر در معرض فروش قرار دهد.)

۵. در صورت عدم رعایت بند ۴، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ شده را به عنوان خسارت به دانشگاه علوم بهزیستی و توانبخشی، تادیه می کنم.

۶. قبول می نمایم و تعهد می کنم که در صورت خوداری از پرداخت بهای خسارت، دانشگاه علوم بهزیستی و توانبخشی می تواند خسارت مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند. بعلاوه به دانشگاه علوم بهزیستی و توانبخشی حق می دهم به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه معادل وجه مذکور در بند ۵ را از محل توقیف کتابهای عرضه شدهٔ نگارنده برای فروش، تأمین نماید.

اینجانب **مصطفی فخری** دانشجوی رشته **ژنتیک** مقطع **کارشناسی ارشد**

تعهد فوق و ضمانت اجرایی آنرا بدون قید و شرط قبول می نمایم، و به انجام آن ملتزم می شوم.

نام و نام خانوادگی مصطفی فخری

امضاء و تاریخ ۸۷/۲/۳۰

تقدیم به زیباترین جلوه های هستی پدر و مادرم

از خدای سبحان می خواهم توفیق آن دهد که خاک پای استادان عاشق و لایق این دیار سرمه چشم من باشد.

با تقدیر وتشکر از راهنمایی ها و زحمات دلسوزانه و بی دریغ اساتید گرامی:

دکتر خرم خورشید
دکتر اوحدی
و
دکتر کریملو

که تجربیات ارزشمند خود را در اختیارمن نهادند

و از اساتید محترمی که افتخار بهره گیری از محضر شان را داشتم، همچنین از سرکار خانم جلالوند مسئول آزمایشگاه که صمیمانه با من همکاری نمودند.

چکیده:

سرطان پستان شایعترین نوع سرطان و علت اصلی مرگهای ناشی از سرطان در میان زنان کشورهای توسعه یافته است. میزان شیوع سرطان پستان در جهان در حال افزایش بوده، در بین زنان ایرانی هر ساله حدود ۷۰۰۰ مورد جدید مبتلا به سرطان یافت می شود. سرطانهای انسانی توسط فعالیت غیر طبیعی پروتوانکوژنها و یا غیر فعال شدن ژنهای سرکوبگر تومور TSG (Tumor Suppressor Gene) که در نهایت باعث از بین رفتن پایداری ژنوم نیز می شود، ایجاد می شوند.

ژن *ARLTS1* انسانی یک عضو از خانواده ADP-ribosylation factor ها با ویژگی ژن مهار کننده تومور یا (TSG) می باشد. جایگاه ژنی *ARLTS1* بر روی بازوی بلند کروموزوم ۱۳ (13q14.3) واقع شده است. ژن *ARLTS1* در طول زمان حفاظت شده است و تا کنون ۱۰ پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی در گروه بیماران و کنترل شناسایی شده است.

در این مطالعه ۵۰ نمونه سرطان ارثی پستان زنان مراجعه کننده به ICBC (مؤسسه سرطان) تهران در سال ۱۳۷۹ که از نظر جهشهای شایع در دو ژن *BRCA1* و *BRCA2* منفی بوده اند مورد بررسی قرار گرفت و با استفاده از روش PCR و سپس تعیین توالی(Sequencing)، اگزون ۲ این ژن که سنتز کننده پروتئین ژن می باشد جهش یابی (Screening) و سپس با یک گروه ۵۰ نفری کنترل مقایسه گردید. در این بررسی تعداد ۶ پلی مورفیسم در ناحیه کد کننده ژن دیده شد که ۵ تا از این پلی مورفیسم ها در مطالعات قبلی گزارش شده بودند و یک پلی مورفیسم جدید در کدون ۱۲۷ این ژن در یکی از نمونه های بیمار مشاهده شد که در آن آمینواسید پرولین به لوسین تبدیل می شود (Pro127Leu). نتایج تجزیه وتحلیل آماری رابطه معناداری از وجود این واریاسیونها در بیماران مبتلابه سرطان ارثی پستان و گروه کنترل نشان نداد(P value>0.05).

ژن *RAD51* در جایگاه کروموزومی 15q15.1 قرار داشته، پروتئین کد شونده توسط آن یکی از پروتئین های کلیدی در نوترکیبی همولوگ (HR) وترمیم DNA است و از نظر تکاملی یک پروتئین حفاظت شده است. فراوانی واریاسیون G>A شناخته شده واقع در نوکلئوتید۱۴ اگزون ۶ ژن *RAD51* که منجر به تغییر اسید آمینه آرژینین به گلوتامین در اسید آمینه ۱۵۰ پروتئین RAD51 می گردد در ۵۰ نمونه ارثی سرطان پستان مراجعه کننده به ICBC (مؤسسه سرطان) تهران در سال ۱۳۷۹ که از نظر جهشهای شایع در دو ژن *BRCA1* و *BRCA2* منفی بوده اند و نیز در گروه ۱۵۰ نفری کنترل با روش PCR-RFLP بررسی شد. در بررسی فراوانی واریاسیون G>A واقع در اگزون ۶ ژن *RAD51* هیچ واریاسیونی در نمونه های بیمار و کنترل دیده نشد که موید این مطلب است که فراوانی این واریاسیون در نژاد ایرانی کمتر بوده، عدم وجود آن در نمونه های بیمار میتواند بیانگر عدم

۱۳۸۷ /۳/ ۱۱

ارتباط این واریاسیون با بروز سرطان پستان خانوادگی باشد. بررسی این واریاسیون در سایر جمعیتها که دارای فراوانی بیشتری از آن هستند می تواند ارتباط یا عدم ارتباط آن با سرطان پستان خانوادگی را بهتر آشکار سازد.
ژن *BARD1* در جایگاه کروموزومی 2q34-q35 قرار گرفته است. این ژن بعنوان پروتئینی که با BRCA1 ارتباط دارد شناخته شده است. موتاسیون های Germ Line در این ژن با ابتلا به سرطانهای پستان و تخمدان ارتباط دارد. موتاسیون شناخته شدهCys557Ser در اگزون ۷ این ژن باعث افزایش ریسک ابتلا به سرطان پستان است. . در این مطالعه ۵۰ نمونه سرطان ارثی پستان زنان مراجعه کننده به ICBC (مؤسسه سرطان) تهران در سال ۱۳۷۹که از نظر جهشهای شایع در دو ژن *BRCA1* و *BRCA2* منفی بوده اند با یک گروه ۵۰ نفری کنترل و با استفاده از روش PCR-RFLP مورد بررسی قرار گرفت.

پس از انجام RFLP، فراوانی واریانت شناخته شده Cys557Ser در نمونه های بیمار ۸٪ و در نمونه های کنترل ۴٪ بوده است. با استفاده از آنالیزهای آماری تفاوت معناداری بین نمونه های بیمار و کنترل در جمعیت ایرانی دیده نشد(P value>0.05)

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول: کلیات تحقیق ۱

۱-۱ بیان مسئله ۲

۱-۲ اهمیت و ضرورت ۵

۱-۳ تعریف واژه ها ۶

۱-۴ هدف از اجرای تحقیق ۷

۱-۴-۱ اهداف کلی ۷

۱-۴-۲ اهداف فرعی ۷

۱-۴-۳ اهداف کاربردی ۷

۱- ۵ سؤال ۷

۱- ۶ فرضیه ۷

فصل دوم: مروری بر مطالعات گذشته ۸

۲-۱ تعریف سرطان ۹

۲-۲ ساختمان پستان ۱۱

۲-۲-۱ غدد پستانی ۱۱

۲-۲-۲ نمو رویانی پستان ۱۱

۲-۲-۳ نمو پستان طی بلوغ ۱۲

۲-۲-۴ ساختمان پستان در زنان بالغ ۱۲

۲-۲-۵ عروق و لنفاتیک پستان ۱۴

۲-۳ پاتولوژی پستان ۱۵

۲-۳-۱ بیماریهای پستان ۱۵

۲-۳-۲ درجه هیستولوژیک بدخیمی ۱۸

۲-۳-۳ مرحله بندی سرطان پستان ۱۸

۲-۳-۴ اتیولوژی سرطان پستان ۲۱

۲-۳-۴-۱ جغرافیا ۲۱

۲-۳-۴-۲ عوامل ژنتیکی ۲۱

۲-۳-۴-۳ استروژن اضافی ۲۲

۲-۳-۴-۴ عوامل محیطی و رژیم غذایی ۲۲
۲-۳-۴-۵ تغییر فیبروکیستیک ۲۳
۲-۴ ژنتیک سرطان پستان ۲۳
۲-۴-۱ سرطان پستان فامیلی ۲۳
۲-۴-۱-۱ ژن‌های *BRCA1-2* ۲۴
۲-۴-۱-۲ سندرم Li-Fraumeni ۲۵
۲-۴-۱-۳ سندرم کودون ۲۵
۲-۴-۱-۴ *ATM* ۲۵
۲-۴-۱-۵ *HNPCC* ۲۶
۲-۴-۲ ژن های سرکوبگر تومور ۲۶
۲-۴-۲-۱ *P53* ۲۶
۲-۴-۲-۲ *Rb* ۲۷
۲-۴-۲-۳ *Car* ۲۷
۲-۴-۲-۴ *DCC 4-* ۲۷
۲-۴-۲-۵ *Prohibitin* ۲۷
۲-۴-۲-۶ *APC* ۲۷
۲-۴-۲-۷ *BRCA 1,2* ۲۸
۲-۴-۲-۸ *RB1* ۲۸
۲-۴-۲-۹ *RAD51* ۲۸
۲-۴-۲-۱۰ *BARD1* ۳۰
۲-۴-۲-۱۱ *PTEN* ۳۱
۲-۴-۲-۱۲ *RhoBTB* ۳۱
۲-۴-۲-۱۳ *P21* ۳۳
۲-۴-۲-۱۴ *RAP1A* ۳۳
۲-۴-۲-۱۵ *DOCK4* ۳۴
۲-۴-۲-۱۶ *ARLTS1* ۳۴
۲-۵ انکوژنها ۳۹
۲-۵-۱ *erbB-2* (*HER-2 , neu*) ۳۹
۲-۵-۲ *c-myc* ۳۹
۲-۵-۳ *c-met* ۳۹
۲-۵-۴ *EGFR* ۴۰

۲-۵-۵ *IGF-R* ۴۰
۲-۵-۶ *Waf1/Cip1* ۴۰
۲-۵-۷ *Kip1* ۴۱
۲-۵-۸ *VEGF* ۴۱
۲-۵-۹ گیرنده های لامینین ۴۱
۲-۵-۱۰ *Tenascin* ۴۱
۲-۵-۱۱ *CD44* ۴۲
۲-۵-۱۲ *V-int-2* ۴۲
۲-۵-۱۳ ژن‌های *BCAS3* و *BCAS4* ۴۲
۲-۵-۱۴ *C35* ۴۳
۲-۶ ژنهای سرکوب کننده متاستاز ۴۴
۲-۶-۱ *E-cadherin* ۴۴
۲-۶-۲ *nm23* ۴۴
۲-۷ ژنهای مربوط به مسیرهای مرگ و بقای سلولی ۴۵
۲-۷-۱ تلومراز ۴۵
۲-۷-۲ ژنهای مرتبط با متاستاز ۴۵
۲-۸ ژن درمانی سرطان پستان ۴۶
فصل سوم:مواد و روش تحقیق ۴۸
۳-۱ روش شناسی تحقیق ۴۹
۳-۱-۱ نوع مطالعه ۴۹
۳-۱-۲ جامعه آماری ۴۹
۳-۱-۳ نمونه گیری ۴۹
۳-۱-۴ معیارهای انتخاب بیماران ۵۰
۳-۱-۵ روش جمع آوری داده ها ۵۱
۳-۱-۶ ملاحظات اخلاقی ۵۱
۳-۲ مواد و روشها ۵۲
۳-۲-۱ بررسی ژن *ARLTS1* با کمک روشهای بیو انفورماتیک ۵۲
۳-۲-۱-۱ جستجوی توالی کامل ژن همراه با SNPهای مربوط به آن و جستجوی توالی mRNA و پروتئین ۵۲
۳-۲-۲ استخراج DNA از خون با روش نمک اشباع ۵۲
۳-۲-۲-۱ مواد مورد نیاز ۵۲
۳-۲-۲-۲ روش استخراج DNA از خون با نمک اشباع ۵۳

۳-۲-۳ Polymerase Chain Reaction (PCR) ۵۴
۳-۲-۳-۱ مواد لازم جهت واکنش ۵۴
۳-۲-۳-۲ واکنش PCR ۵۷
۳-۲-۴ Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) ۵۹
۳-۲-۴-۱ طراحی آنزیم محدود کننده ۵۹
۳-۲-۴-۲ هضم آنزیمی ژن *RAD51* ۶۰
۳-۲-۴-۳ هضم آنزیمی ژن *BARD1* ۶۰
۳-۲-۵ تهیه ژل پلی آکریلامید ۶۱
۳-۲-۵-۱ مواد لازم جهت تهیه ژل پلی آکریلامید ۶۱
۳-۲-۵-۲ وسایل مورد نیاز ۶۲
۳-۲-۵-۳ تهیه ژل پلی اکریلامید ۸٪ ۶۲
۳-۲-۵-۴ ساخت بافر بار گذاری ۶۲
۳-۲-۵-۵ روش بار گذاری ژل آکریلامید ۶۳
۳-۲-۵-۶ الکتروفورز ژل پلی آکریل آمید ۶۳
۳-۲-۵-۷ رنگ آمیزی ژل آکریل آمید به روش نیترات نقره ۶۴
۳-۲-۵-۷-۱ مواد مورد نیاز برای رنگ آمیزی نیترات نقره ۶۴
۳-۲-۵-۷-۲ وسایل مورد نیاز برای رنگ آمیزی ۶۴
۳-۲-۵-۷-۳ روش رنگ آمیزی ۶۴
۳-۲-۶ Sequencing ۶۵
فصل چهارم: نتایج تحقیق ٦٦
۴-۱ نتایج بررسی ژن *ARLTS1* با کمک روشهای بیو انفورماتیک ۶۷
۴-۱-۱ نتایج جستجوی توالی کامل ژن همراه با SNPهای مربوط به آن و جستجوی توالی mRNA و پروتئین ۶۷
۴-۲ نتیجه استخراج DNA از نمونه های بیمار ۶۹
۴-۳ نتایج مربوط به PCR نمونه ها ۷۲
۴-۴ نتایج مربوط به Sequencing نمونه ها ۷۴
۴-۴-۱ نتایج مربوط به Sequencing پلی مورفیسم شایع Cys148Arg ۷۴
۴-۴-۲ نتایج مربوط به Sequencing پلی مورفیسم Pro131Leu ۷۶
۴-۴-۳ نتایج مربوط به Sequencing پلی مورفیسم Ser99Ser ۷۸
۴-۴-۴ نتایج مربوط به Sequencing پلی مورفیسم Leu59Leu ۸۰
۴-۴-۵ نتایج مربوط به Sequencing پلی مورفیسم Trp149Stop ۸۲
۴-۴-۶ نتایج مربوط به Sequencing پلی مورفیسم Pro127Leu ۸۴

۴-۵ نتایج مربوط به PCR و RFLP قطعه مربوط به اگزون ۶ ژن *RAD51* در نمونه های بیمار و کنترل ۸۹
۴-۶ نتایج مربوط به PCR و RFLP قطعه مربوط به اگزون ۷ ژن *BARD1* در نمونه های بیمار و کنترل..... ۹۰
۴-۷ نتایج مربوط به بررسی های بیو انفورماتیکی ژن *ARLTS1* با استفاده از برنامه SIFT..... ۹۱
فصل پنجم: بحث و نتیجه گیری ۹۲
منابع ۱۰۳

فهرست جداول

جدول **صفحه**

جدول ۱-۲: دسته بندی سرطان پستان از نظر ویژگیهای پاتولوژیک ۱۷
جدول ۲-۲: اساس مرحله بندی در سیستم TNM ۱۹
جدول ۳-۲: نحوه مرحله بندی در سیستم TNM ۲۰
جدول ۱-۳: تعریف عملیاتی متغییر ها و مقیاس اندازه گیری ۵۱
جدول ۱-۴: مشخصات مربوط به SNP های موجود در اگزونهای ژن *ARLTS1* و تغییر اسیدآمینه مربوطه ۶۹
جدول ۲-۴: نتایج مربوط به OD (Optical Density) و غلظت نمونه های تومور پستان اسپورادیک ۶۹
جدول ۳-۴: نتیجه نهایی فراوانی های آللی ژن *ARLTS1* ۸۶
جدول ۴-۴: اطلاعات مربوط به فراوانی های ژنوتیپی پلی مورفیسم های مشاهده شده *ARLTS1* ۸۷
جدول ۵-۴: اطلاعات مربوط به فراوانی های آللی پلی مورفیسم های مشاهده شده *ARLTS1* ۸۷
جدول ۶-۴ نتایج برنامه SIFT در مورد ژن *ARLTS1* ۹۱

فهرست نمودارها

نمودار **صفحه**

دیاگرام ۱-۲: نمایی از یافته های به دست آمده از ارزیابی توده های پستانی ۱۶
دیاگرام ۲-۲: انواع ژ نهای منتقل شده در مطالعات clinical trial ۴۷

فهرست تصاویر

شکل **صفحه**

شکل ۱-۲: تصویر شماتیک پستان ۱۴
شکل ۱-۴: توالی نوکلئوتیدی ناحیه کد کننده ژن *ARLTS1* همراه با توالی پروتئینی آن ۶۸
شکل ۲-۴: نتایج مربوط به PCR ژنهای *ARLTS1*، *BARD1* و *RAD51* ۷۳
شکل ۳-۴: نتیجه مربوط به Sequencing، پلی مورفیسم شایع Cys148Arg ۷۵
شکل ۴-۴: نتیجه مربوط به Sequencing، پلی مورفیسم Pro131Leu ۷۷
شکل ۵-۴: نتیجه مربوط به Sequencing، پلی مورفیسم Ser99Ser ۷۹
شکل ۶-۴: نتیجه مربوط به Sequencing، پلی مورفیسم Leu59Leu ۸۱
شکل ۷-۴: نتیجه مربوط به Sequencing، پلی مورفیسم Trp149Stop ۸۳
شکل ۸-۴: نتیجه مربوط به Sequencing، پلی مورفیسم شایع Pro127Leu ۸۵
شکل ۹-۴: نتیجه مربوط به PCR و RFLP اگزون ۶ *RAD51* ۸۹
شکل ۱۰-۴ نتیجه مربوط به PCR و RFLP اگزون ۷ *BARD1* ۹۰
شکل ۱-۵ نمودار فراوانی ژنوتیپی پلی مورفیسم Cys148Arg ۹۴
شکل ۲-۵ نمودار فراوانی ژنوتیپی پلی مورفیسم Trp149Stop ۹۵
شکل ۳-۵ نمودار فراوانی ژنوتیپی پلی مورفیسم Ser99Ser ۹۶
شکل ۴-۵ نمودار فراوانی ژنوتیپی پلی مورفیسم Leu59Leu ۹۷
شکل ۵-۵ نمودار فراوانی ژنوتیپی پلی مورفیسم Pro131Leu ۹۸
شکل ۶-۵ نمودار فراوانی ژنوتیپی پلی مورفیسم Pro127Leu ۹۹

فصل اول:

کلیات تحقیق

۱-۱ بیان مسئله

سرطان پستان توموریست بدخیم که عمدتا از سلولهای اپیتلیال مجاری غدد پستان منشا می گیرد. این بیماری بطور غالب در زنان شیوع دارد، اما مردان نیز می توانند به سرطان پستان مبتلا شوند (McNamara *et al*, 2005). این سرطان شایعترین سرطان در دنیا است، بطوری که اولین علت شایع مرگ‌های ناشی از سرطان در کشورهای پیشرفته می باشد. خطر ابتلا به سرطان پستان معمولا در خویشاوندان درجه یک فرد مبتلا ۲-۳ برابر افزایش می یابد (Frank *et al*, 2006a). درآمریکای شمالی واروپا کارسینومای پستان ۲۵٪ از کل سرطان‌های زنان را شامل می‌شود و تقریباً عامل ۲۰٪ از مرگهای ناشی از سرطان در بین زنان است. بروزاین بیماری به طور پیوسته در حال افزایش بوده به طوری که از هرهشت زن یک نفر ممکن است مبتلا گردد (Parkin *et al*, 2002). در ایران شیوع آن ۱ در ۱۰ تا ۱۲ زن و نیز دومین علت مرگ ناشی از سرطان در بین زنان است. میزان ابتلای مردان به سرطان سینه در مقیاس جهانی ۱٪ کل مبتلایان بوده که این نسبت در ایران ۴٪ است. سن ابتلا در ایران ۱۰ سال پائینتر بوده، در بین زنان ایرانی هر ساله حدود ۷۰۰۰ مورد جدید مبتلا به سرطان یافت می شود و مجموعا ۴۰ تا ۵۰ هزار بیمار مبتلا در سال وجود دارد (www.aftab.ir& http://isna.ir). در واقع عوامل ایجاد سرطان پستان دقیقا مشخص نیستند اما فاکتورهای خطر (Risk factors) زمینه ساز آن مشخص و شناخته شده هستند (McNamara *et al*, 2005).

جهش در ژن های *BRCA1* و *BRCA2*[1] باعث ۸۰٪ از انواع ارثی سرطان پستان می شود و نیز ژن *P53* که عامل ژنتیکی ۵۰٪ از کل سرطان‌ها می باشد یکی از ژنهای مهم در سرطان پستان ارثی است (Hedau *et al*, 2004). از طرف دیگر، موتاسیون در ژنهای با نفوذ بالای *BRCA1* و *BRCA2* فقط در ۲۰-۲۵٪ موارد دیده میشود، بدین معنی که واریانتهای ژنتیک در ژنهای با نفوذ پایین بطور زیادی حساسیت به سرطان پستان را سبب می شوند. بیش از۹۵-۹۰٪ سرطانهای پستان را نوع غیر ارثی تشکیل می‌دهد و نوع ارثی ۱۰-۵ ٪ را شامل می‌شود (Frank *et al*, 2006a). در ایران میزان بروز و شیوع این سرطان بالا می‌باشد و دومین علت مرگ ناشی از سرطان در بین زنان است (Harirchi *et al*, 2004).

[1] . Breast cancer 1 and 2

ژن *ARLTS1* انسانی (ADP-ribosylation factor-like tumor suppressor gene1) یک عضو از خانواده ADP-ribosylation factor ها با ویژگی ژن مهار کننده تومور یا TSG (Tumor Suppressor Gene) می باشد (Calin *et al*, 2005). جایگاه ژنی *ARLTS1* بر روی بازوی بلند کروموزوم ۱۳ (13q14.3) واقع شده است. (Frank *et al*, 2006a و Calin *et al*, 2005 و Korja *et al*, 2006 و Sellick *et al* 2006 و Frank *et al*, 2006b). این ژن دارای یک نقش اساسی در سیگنالینگ آپوپتوز می باشد (Frank *et al*, 2006a). ساختار ژنومیک ژن *ARLTS1* خیلی شبیه کلاس ۳ ژنهای ARF(ADP-ribosylation Factor) است. ARFs پروتینهای متصل شونده به گوانین با وزن ۲۰-kD از اعضای خانواده بزرگ RAS GTPase هستند.

در واقع ژن *ARLTS1* یک عضو از خانواده RAS Super family می باشد (Sellick *et al*, 2006b و Calin *et al*, 2005).

ژن *ARLTS1* دارای ۲ اگزون است که فقط اگزون دوم آن دارای چارچوب خواندن (Open Reading Frame) است و یک پروتئین 21-kD با ۱۹۶ آمینو اسید کد می کند (Brakeleer *et al*, 2005 و Calin *et al*, 2005 و Frank *et al*, 2006a).

ژن *ARLTS1* در طول زمان حفاظت شده است (Calin *et al*, 2005) و تا کنون ۶ پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی در گروه بیماران و کنترل شناسایی شده است (Sellick *et al*, 2006a).

در ۲۵٪ تومورهای اولیه ای (Primary Tumors) که توسط کالین در سال ۲۰۰۵ بررسی شده اند، ژن *ARLTS1* بوسیله متیلاسیون پروموتر کاهش بیان نشان داده است (Calin *et al*, 2005). آلودگی (Transfection) سلولهای سرطان ریه A549 با نوع وحشی ژن *ARLTS1*، ایجاد تومور را در موش فاقد سیستم ایمنی (Immunodeficient) مهار و آپوپتوز را القاء می کند، در حالی که آلودگی با *ARLTS1* ناقص (Truncated *ARLTS1*) یک اثر محدود شده ای روی آپوپتوز و مهار تومور دارد (Korja *et al*, 2006 و Calin *et al*, 2005). به بیان دیگر محصول پروتینی کامل *ARLTS1* پتانسیل سلول را برای شروع آپوپتوز، افزایش می دهد (Calin *et al*, 2005).

ARLTS1 یک ژن مهار کننده تومور (TSG) در ناحیه 13q14.3 میباشد، ناحیه ای که بطور فراوان در سرطانهایی مانند CLL (chronic lymphocytic leukemia)، پروستات و سرطان پستان حذف دارد (Frank *et al*, 2006a). نشان داده شده است که فراوانی موتاسیون Trp149Stop در بین زنان خانواده های پرخطر (High-risk) نسبت به گروه کنترل بسیار بالاتر است، که این احتمال وجود رابطه ی این ژن با سرطان ارثی پستان (Familial breast Cancer) را مطرح می سازد (Brakeleer *et al*, 2005 و Sellick *et al*, 2006a و Calin *et al*, 2005 و Frank *et al*, 2006a).

موتاسیون Trp149Stop باعث پایان زود هنگام ترجمه ودر نتیجه ایجاد یک پروتین ناقص (Truncated Protein) میشود که این امر منجر به کاهش فعالیت القاء آپوپتوز توسط این پروتین می شود (Sellick *et al*, 2006b و Calin *et al*, 2005 و Frank *et al*, 2006a). نکته ای که در اینجا مطرح می شود این است که آیا میتوان در نمونه های مورد بررسی مبتلا به سرطان ارثی پستان ، پلی مورفیسم یا موتاسیون جدیدی را در ناحیه کدکننده ژن *ARLTS1* شناسایی کرد؟ میزان شیوع واریاسیونهای شناخته شده در جمعیت ایران به چه میزانی می باشد؟

ژن *RAD51*[1] در جایگاه کروموزومی 15q15.1 قرار داشته، پروتئین کد شونده توسط آن یکی از پروتئین های کلیدی در نوترکیبی همولوگ (HR[2]) وترمیم DNA است و از نظر تکاملی یک پروتئین حفاظت شده است. *RAD51* با *BRCA2* (یکی از ژنهای سرکوبگر تومور) تعامل دارد نوترکیبی همولوگ یکی از مکانیسم های مهم پایداری ژنوم است و مهمترین عمل آن ترمیم شکستهای دو رشته ای زنجیره DNA (DSBs[3]) است (Bugreev 2004). این پروتئین معادل RecA در باکتری اشریشیا کلی (*Ecoli*) بوده، از نظر تکاملی یک پروتئین حفاظت شده است. نوترکیبی همولوگ یکی از مکانیسم های مهم پایداری ژنوم است و مهمترین عمل آن ترمیم DSBs است(Kato *et al*, 2000).

جهش در همولوگ یوکاریوتی پایین تر *RAD51* منجر به نقص در ترمیم DSBs می شود. مطالعات قبل نشان داده است که ناحیه مربوط به *RAD51* در دامنه وسیعی از سرطانها و به ویژه در سرطانهای پستان دچار LOH می گردد. در مقابل در مطالعات دیگری بیان بیش از اندازه *RAD51* درکارسینوم مجرایی درجا و درجات بالای توموری مشاهده شده است. این اطلاعات نشان می دهد که احتمالا هر گونه تنظیم نادرست *RAD51* باعث اختلال در روند تعمیر DSBs گردیده، نهایتا منجر به سرطان می گردد. بعلاوه کاهش بیان این ژن در نمونه های سرطان پستان فامیلی دیده شده است.

در یک مطالعه که توسط Kato و همکاران بر روی ۲۰ نمونه سرطان پستان دارای سابقه خانوادگی و ۲۵ نمونه سرطان پستان با عوامل خطر بالا همچون سرطان پستان دوطرفه در جمعیت ژاپنی انجام شد، جانشینی نوکلئوتید G>A در ۲ مورد دارای سرطان پستان دو طرفه دیده شد. این جانشینی باعث تبدیل آرژنین به گلوتامین در اسیدآمینه ۱۵۰ پروتئین RAD51 می گردد که اختصاصات فیزیکی پروتئین RAD51 را کاملا تغییر می دهد. این

[1]. RAD51 homolog
[2]. Homologous Recombination
[3]. Double Strand Breaks

تغییرات می تواند عمل پروتئین RAD51 را تحت تاثیر قرار دهد (Lose *et al*, 2006). هیچ مطالعه ای در این زمینه بر روی جمعیت ایرانی انجام نشده است.

ژن *BARD1* (BRCA1 associated Ring Domain1) در جایگاه کروموزومی 2q34-q35 قرار گرفته است. این ژن بعنوان پروتئینی که با BRCA1 ارتباط دارد شناخته شده است. در واقع نقش این ژن بعنوان یک مهار کننده تومور مستقل از BRCA1 اثبات شده است (Sauer *et al*, 2005). پروتئین این ژن دارای یک دومین حلقوی (Ring Domain) در انتهای C(C-terminal) و یک دومین BRCT در انتهای N(N-terminal) می باشد(مانند پروتئین BRCA1). موتاسیون های Germ Line در این ژن با ابتلا به سرطانهای پستان و تخمدان ارتباط دارد. موتاسیون شناخته شده Cys557Ser در اگزون ۷ این ژن باعث افزایش ریسک ابتلا به سرطان پستان است (Karppinen *et al*, 2004).

۱-۲ اهمیت و ضرورت

بر اساس مطالعات اپیدمیولوژیک که در ایران صورت گرفته است میزان بروز سرطان پستان در جامعه بالاست، به طوری که این سرطان دومین علت مرگ ناشی از سرطان را در بین زنان ایرانی به خود اختصاص داده است (Harirchi *et al*, 2004). بیش از ۹۵-۹۰٪ سرطانهای پستان را نوع غیر ارثی تشکیل می‌دهد ونوع ارثی ۱۰-۵٪ را شامل می‌شود (Frank *et al*, 2006a). سرطان یک بیماری چند عاملی (Multifactorial) است وسرطانی شدن سلول، با ایجاد تغییرات ژنتیکی در آن همراه است. لازم به ذکر است که عمده این تغییرات در ژنهای سرکوب کننده تومور(TSG) و آنکوژنها(Ancogenes) اتفاق می افتد.

ژن ***ARLTS1*** از نوع ژنهای سرکوب کننده تومور می باشد، لذا بررسی و شناخت این ژن احتمالاً بتواند در پیش آگهی، تشخیص و درمان سرطان پستان که در جامعه ایران شایع است، بکار آید. در ضمن با توجه به اختلافات ژنتیکی جمعیت ایران با جمعیت های که قبلا بررسی شده اند، امکان شناسایی وارياسیونهاو موتاسیونهای جدید در منطقه کد کننده این ژن مطرح است.