

## تاثیر سرطان معده بر پرایمر

فرایند چند مرحله ای که شامل تغییرات ژنتیکی در ژن های به وجود آورنده ی سرطان از جمله ژن های سرکوب کننده ی سرطان می شود. شایع ترین تغییرات ژنتیکی که در ارتباط با سرطان مشاهده شده است به ویژه مربوط به ژن P53 در سرطان معده است. (۱)

### پرایمر چیست؟

در ۱۰-۱۵ سال گذشته، کامپیوتر به همدمی برای بیولوژیست های سلولی و مولکولی تبدیل شده است. برنامه های بیوانفورماتیک گوناگونی جهت طراحی جفت پرایمر از توالی های ژنتیکی وجود دارد با این وجود در زمان یک آزمایش مهم PCR معمولاً استفاده از برنامه های مختلف و کلیه تجربیات آزمایشگاهی جهت مقایسه و انتخاب بهترین پرایمر ارزش صرف وقت را دارد. بدرستی مشخص است که طراحی انتهای ۳' پرایمر برای جلوگیری از اشتباه اولیه بسیار حیاتی است. پرایمرها باید در انتهای ۵' نسبت به انتهای ۳' خود چسبنده تر باشند. یک انتهای چسبنده ۳' با تعداد بالای GC در انتهای ۳' مشخص می شود.

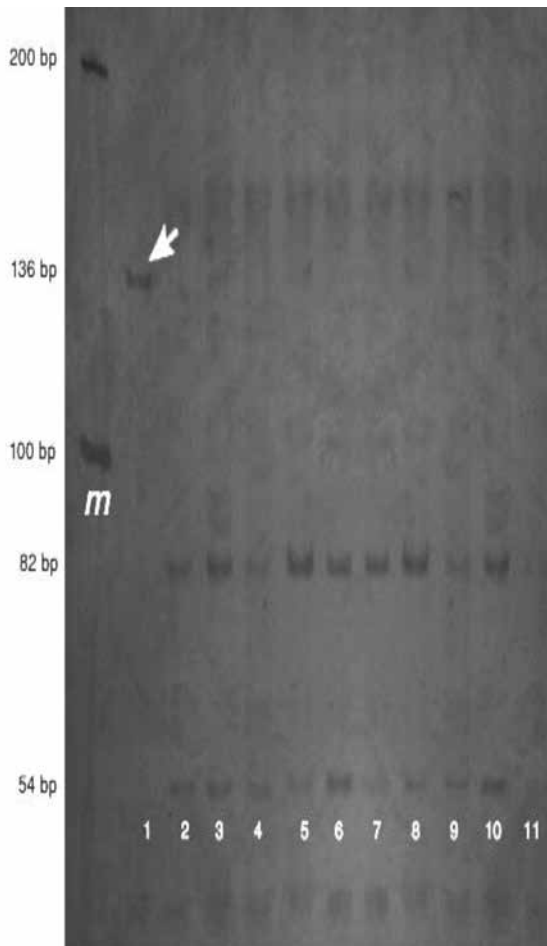
### روش کار PCR

این عمل با استفاده از ۱۰۰-۳۰۰ نانوگرم DNA، یک واحد تک پلیمرراز، ۱/۵ میلی مول ۲۰، MgCl<sub>2</sub>، میکرومول از هر یک از dTTP، dGTP، dCTP، dATP میکرومول از هر یک از زوج پرایمرهای اختصاصی برای تکثیر پرولین وارژنین انجام می گیرد. توالی پرایمرهای اختصاصی برای تکثیر پرولین عبارتند از:

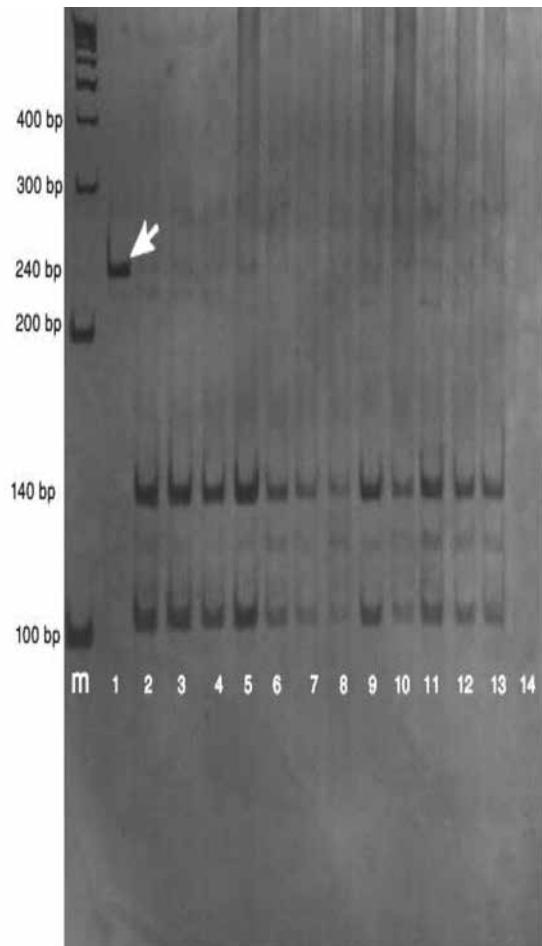
سرطان معده دومین سرطان شایع در جهان است. شیمی درمانی و رادیوتراپی مهم ترین انواع درمان های کمکی آن محسوب می شود. برنامه های بیوانفورماتیک گوناگونی جهت طراحی جفت پرایمر از توالی های ژنتیکی وجود دارد. با این وجود در زمان یک آزمایش مهم PCR معمولاً استفاده از برنامه های مختلف و کلیه تجربیات آزمایشگاهی جهت مقایسه و انتخاب بهترین پرایمر ارزش صرف وقت را دارد.

PCR شامل سه مرحله است: مرحله اول Denaturation: ابتدایی با دمای ۹۴°C به مدت ۳ دقیقه - مرحله دوم: شامل ۳۵ سیکل است که کار تکثیر ژن مورد نظر را پیش می برد و از سه بخش زیر تشکیل می شود: الف) denaturation (ب) annealing (ج) extension - مرحله سوم: extension: نهایی با دمای ۷۲°C به مدت ۵ دقیقه. شایع ترین تغییرات ژنتیکی که در ارتباط با سرطان مشاهده شده است به ویژه مربوط به ژن P53 در سرطان معده است.

سرطان معده دومین سرطان شایع در جهان است. شیوع سرطان معده در برخی کشورهایی همچون ژاپن، چین، ایتالیا و کشورهای در حال توسعه در حد بالایی قرار دارد و روبه افزایش است اما در کشورهای مانند آمریکا و انگلیس در حال کاهش است (۱). با وجود اینکه سرطان معده در آمریکا و کشورهای اروپایی جز سرطان شایع نیست ولی جز ده سرطان کشنده طبقه بندی شده است (۲). امروزه پیشرفت های قابل ملاحظه ای در زمینه ی درمان بیماری های مختلف معده و تومورهای معده به خصوص زخم معده و تومورهای معده به دست آمده است قسمت اعظم آن به جراحی مربوط می شود (۳) البته شیمی درمانی و رادیوتراپی مهم ترین انواع درمان های کمکی هستند (۲). ولی در بیش از ۹۰ درصد سرطانی ها که گرفتار متاستاز شده اند، مقاومت در برابر شیمی درمانی نشان داده شده است (۴). ایجاد سرطان یک



(ب)



(الف)

محصولات PCR-RFLP کدون های ۲۴۸ و ۲۸۲ از P53 بیماران مبتلا به سرطان معده بر روی ژل پلی اکریل امید ۸ درصد (الف) نمونه الکتروفورز محصول PCR-RFLP برای کدون ۲۴۸ گزون شماره m:-۷ مارکر ۱- / ۱۰۰ bp- نمونه شاهد (محصول PCR بدون انزیم)، ۲-۱۰ نمونه بیماران (برش در تمام نمونه ها)، ۱۱- نمونه کنترل منفی (شامل کلیه ترکیبات RFLP به جز محصول PCR) (ب) نمونه الکتروفورز محصول PCR-RFLP برای کدون ۲۸۲ گزون شماره m:-۸ مارکر ۱- / ۱۰۰ bp- نمونه شاهد (محصول PCR بدون انزیم)، ۲-۱۳ نمونه بیماران (برش در تمام نمونه ها)، ۱۴- نمونه کنترل منفی (شامل کلیه ترکیبات RFLP به جز محصول) (PCR شکل ۱)

مرحله اول **Denaturation**: ابتدایی با دمای ۹۴C به مدت ۳ دقیقه

مرحله دوم: شامل ۳۵ سیکل است و از سه بخش زیر تشکیل می شود:

الف) **denaturation**: با دمای ۹۴C به مدت ۳۰ ثانیه

ب) **annealing**: با دمای ۵۴C به مدت ۳۰ ثانیه، برای تکثیر پرولین و بادمای ۶۰C، برای تکثیر ارژنین.

ج) **extension**: با دمای ۷۲C به مدت ۳۰ ثانیه

F: 54- GCCAGAGGCTGCTCCCCC

R: 5'- CGTGCAAGTCACAGACTT

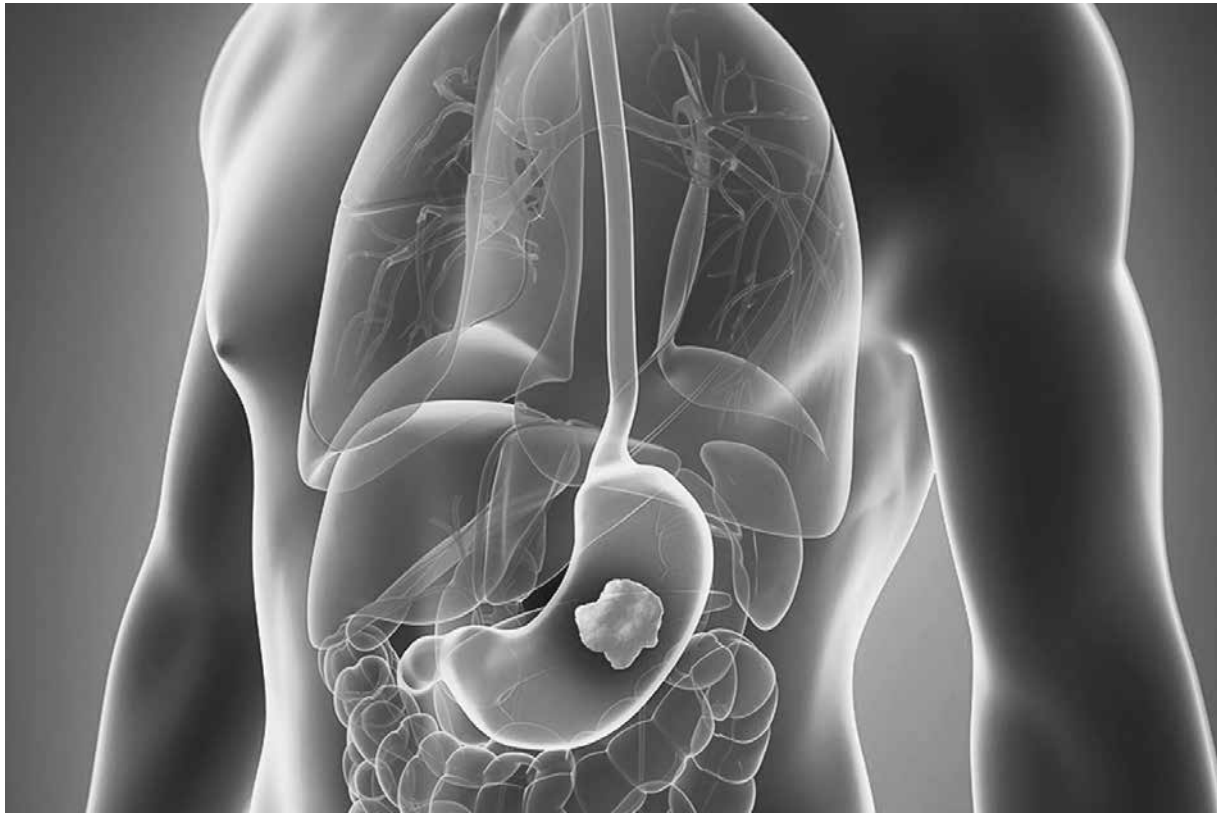
توالی پرایمرهای اختصاصی برای تکثیر ارژنین عبارتند از:

F: 5'- TCCCCCTTGCCGTCCCAA

R: 5'-CTGGTGCAGGGGCCACGC

تنظیم دستگاه ترموسایکلر برای تکثیر توالی پلی مورفیک

کدون ۱۷۲ از P53 به ترتیب زیر انجام گرفت:



کولورکتال، ریه و نازوفارنژیال باشد. پلی مورفیسم کدون ۷۲ از ژن p53 اولین پلی مورفیسم شناخته شده این ژن است و پیشنهاد شده است که دوالل کدون ۷۲ ویژگی های سرطان زایی متفاوتی دارند. در این پلی مورفیسم، تبدیل ارژنین به پرولین در توالی پروتئین رخ می دهد. گزارش شده است که ال ارژنین (R72) با افزایش خطر ابتلا به سرطان معده و مثانه ارتباط دارد (۶).

#### نتیجه گیری

با توجه به این مطالعه و سایر مطالعات اندکی که انجام شده نشان میدهد که جهش در بعضی ژن ها و بیشترین جهش در ژن P53 باعث ایجاد انواع سرطان ها به خصوص سرطان معده می شود. که همین ژن باعث ایجاد تغییرات ژنتیکی شده و در نهایت باعث تغییر در پرایمر می شود.

مرحله سوم extension: نهایی با دمای ۷۲c به مدت ۵ دقیقه بعد از اتمام کار PCR تا زمان الکتروفورز در ریخچال نگهداری شد. (۶)

#### ژن P53 بیماران مبتلا به سرطان معده:

ناهنجاری مولکول p53 (ژن مهارکننده سرطان) معمول ترین ناهنجاری مولکولی است که در سرطان های انسانی مشاهده شده است. حدود ۵۰ درصد سرطان ها مرتبط با مهار فعالیت این ژن است. ژن p53 بر روی بازوی کوتاه کروموزوم شماره ۱۷ قرار گرفته، از ۱۱۱ گزون و ۱۰ ایترون تشکیل شده است (۱). علاوه بر موتاسیون، پلی مورفیسم های p53 به عنوان عامل خطر ساز برای ایجاد سرطان در نظر گرفته شده است. پلی مورفیسم ژنتیکی ژن p53 ممکن است تعیین کننده حساسیت افراد در سرطان هایی مانند: پستان

**ماهنامه تشخیص آزمایشگاهی را در فضای مجازی دنبال کنید:**

📍 @Tashkhis\_Magazine

📷 Tashkhis\_Magazine

🌐 www.tashkhis.com

in tashkhis magazine