مقاله پژوهشی
مجله دانشگاه علوم پزشكي رفسنجان
سال اول - جلد ۲ - شماره اول

تعیین جهش در اگزونهای شماره ۵ و ۸ ژن P۵۳ در مبتلایان به سرطان پستان فامیلی با روش غیر رادیواکتیو PCR-SSCP

محمدرضا میرزایی (۱) (MSPH) ، پروین مهدی‌پور (۲) (Ph.D) ، مرتضی عطری (۳) (MD) ، حسین تیموری (٤) (MSPH) غلامرضا اسدی (۱) (Ph.D)

۱- دانشگاه علوم پزشكي رفسنجان - دانشكده پزشكي - گروه بيوشيمي - ژنتيك
۲ـ دانشگاه علوم پزشكي تهران - دانشكده بهداشت - گروه ژنتيك
۳ـ بيمارستان امام خميني تهران - مؤسسه سرطان (انستيتو كنسر)
۴ـ دانشگاه علوم پزشكي گرگان - دانشكده پزشكي - گروه بيوشمي - ژنتيك

چكيده :
زمینه و هدف: سرطان پستان شايعترين سرطان زنان در دنيا مي‌باشد و تغييرات ژنتيكي متنوعي را مي‌توان در آن مشاهده كرد يكي از شايعترين اين تغييرات جهش در ژن P ۵۳ است. اين ژن يكي از مهمترين مهاركننده‌هاي تومور مي‌باشد و پروتئين مزبور (P ۵۳) در بسياري از اعمال سلول نقش دارد. اين ژن شامل ۱۱ اگزون است كه اگزون‌هاي چهارگانه ۵ تا ۸ نواحي مركزي پروتئين كه عملكرد P ۵۳ را بعهده دارد راكد مي‌كنند لذا جهش‌هاي اين اگزونها از اهميت بيشتري برخوردار بوده و باعث غيرفعال شدن يا سوء عملكرد اين پروتئين مي‌گردند.
تعيين جهش‌هاي اين ژن كمك بزرگي در شناخت مكانيسم ژنتيكي شروع و پيشرفت سرطان پستان و در نتيجه تشخيص و درمان به موقع اين سرطان مي‌باشد. كه هدف اين مطالعه نيز تعيين جهش‌هاي P ۵۳ در دو اگزون شماره ۵ و ۸ اين ژن بوده است.
مواد و روش‌ها: در اين مطالعه ۳۲ بيمار مبتلا به سرطان پستان فاميلي كه تحت عمل بيوپسي پستان قرار گرفته بودند مورد بررسي قرار گرفت.
استخراج DNA با روش فنل - كلروفرم، انجام و پس از تعيين درجه خلوص با روش اسپكتروفتومتري، جهت تكثير اگزونهاي شماره ۵ و ۸ از روش (polymerase chain reaction) PCR استفاده گرديد، با روش SSCP ، (strand conformation polymorphism single) كه روش معمول تعيين جهش براي ژن P ۵۳ مي‌باشد محصولات تك رشته‌اي (Single strand) اگزونهاي مزبور در ژل پلي‌اكريل آميد الكتروفورز و توسط روش نيترات نقره

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-05-26]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1381.1.2.5.4]

رنگ‌آميزي گرديد نهايتاً تغييرات حركتي باندهاي حاصله با نمونه كنترل (طبيعي) مقايسه و مورد تجزيه و تحليل قرار گرفت.
يافته‌ها: پس از آناليز ژلهاي SSCP و مقايسه حركت باندهاي حاصله در ژل با نمونه كنترل، در اگزون شماره ۵ دو مورد و در اگزون شماره ۸ چهار مورد جهش تعيين گرديد.
نتيجه‌گيري: در اين مطالعه به علت محدود بودن تعداد بيماران و محدوديت زمان انجام تحقيق تنها جهش‌هاي ژن P ۵۳ در دو اگزون شماره ۵ و ۸ بيماران مبتلا به سرطان پستان فاميلي بررسي شد لذا پيشنهاد مي‌گردد، اين جهش‌ها در ديگر اگزونها و در مقياس بزرگتر بررسي گردد تا اولاً كدونهائي كه بيشترين درصد جهش را دارا هستند شناسايي شوند و ثانياً ارتباط اين جهش‌ها و مراحل مختلف سرطان پستان و به دنبال آن استفاده كلينيكي نتايج حاصل گردد.

واژه‌های کلیدی: سرطان پستان، جهش، ژن P ۵۳ ، PCR-SSCP

مقدمه :
سرطان پستان شايع‌ترين سرطان زنان است كه شيوعي بين ۱۲-۸% در مناطق مختلف جغرافيايي دارد [۱].
در اين سرطان تغييرات مختلف سيتوژنتيكي و جهش‌هاي ژني را مي‌توان مشاهده كرد كه بارزترين اختلال مشاهده شده در سطح سيتوژنتيكي حذف منطقه كروموزومي P ۱۳ ۱۷ است كه اين جايگاه، محل فيزيكي ژن مهار كننده تومور P ۵۳ است [۸، ۱۷]. مولكول P ۵۳ در بسياري از اعمال حياتي سلول از جمله تنظيم كپي‌برداري، تنظيم همانند سازي، تنظيم سيكل سلولي و مرگ برنامه‌ريزي شده سلول نقش اساسي دارد. [۵، ۱۶]

ژن P ۵۳ با طول kbp ۲۰ در جايگاه p ۱۳/۱ ۱۷ (بازوي كوتاه كروموزم شماره ۱۷) قرار داشته كه شامل ۱۱ اگزون بوده‌و mRNA آن پس از ترجمه پروتئيني با وزن مولكولي ۵۳ كيلو دالتون شامل ۳۹۳ اسيدآمينه راكد مي‌كند.
اگزون شماره ۱ و قسمت اعظم اگزون شماره ۱۱ كدكننده نمي‌باشند. ۵ منطقه حفاظت شده در اين ژن قرار دارد كه مناطق II-V اگزونهاي شماره ۵ تا ۸ را شامل شده و بيش از ۹۰% جهش‌هاي اين ژن در اين مناطق رخ مي‌دهند [۱۳، ۱۲]. تعدادي از كدونها بطور شاخص در سرطانهاي مختلف بيشتر متحمل جهش مي‌شوند كه اين كدونها را مناطق داغ جهش‌زا (Hot spots) مي‌گويند. علاوه بر جهش نقطه‌اي، حذف آللي P ۵۳ نيز در برخي موارد سرطان پستان گزارش شده است بطوريكه افراد مبتلا به سندروم لي ـ فرامنئي كه يكي از آللهاي P ۵۳ در اين افراد بطور زايشي جهش يافته يا حذف شده است چندين برابر افراد طبيعي مستعد ابتلاء به سرطانهاي مختلف خصوصاً سرطان پستان مي‌باشند[۹].
جهش در ژن P ۵۳ به عنوان كليد شروع سرطان پستان (بويژه نوع فاميلي آن) قلمداد مي‌گردد [۲]. اين جهش‌ها توزيع جغرافيايي خاصي داشته به طوريكه در بعضي مناطق تا ۸۰% موارد سرطان پستان با جهش در اين ژن همراه است [۴]. با توجه به اهميت موضوع و اينكه شناخت مكانيسم ژنتيكي سرطان پستان مي‌تواند در طراحي تست‌هاي غربالگري، تشخيص‌هاي كلينيكي و ارائه الگوي توارثي اين سرطان راهگشا باشد، در اين مطالعه جهش‌هاي ژن P ۵۳ در دو اگزون با اهميت اين ژن (اگزونهاي شماره ۵ و ۸) در ۳۲ بيمار مبتلا به سرطان پستان فاميلي مورد بررسي قرار گرفت.

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-05-26]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1381.1.2.5.4]

مواد و روشها:
در اين مطالعه توصيفي - تحليلي تعداد ۳۲ بيمار مبتلا به سرطان پستان با سابقه فاميلي ابتلاء به سرطان در شجره‌نامه كه به مؤسسه سرطان (انستيتو كانسر) بيمارستان امام خميني تهران مراجعه و تحت عمل بيوپسي قرار گرفته بودند مطالعه گرديدند.
نمونه‌هاي لازم كه بافت بيوپسي پستان بودند به صورت بلوكهاي پارافينه پاتولوژيكي و يا قسمت كوچكي از بافت تازه بيوپسي شده بيماران به آزمايشگاه ژنتيك دانشكده بهداشت دانشگاه تهران ارسال مي‌شد.
با روش معمول فنل، كلروفرم استخراج DNA انجام گرفت بدين ترتيب كه پس از پارافينه زدايي برشهاي بلوك پاتولوژيكي و يا خرد كردن بافتهاي تازه، آنها را در لوله آزمايش ريخته و به هر لوله آزمايش ۱/۵، ميلي‌ليتر با فرليز كننده (۱۰۰ mM, Tris-Hcl ۱۰۰ mM, Nacl ۱۰ mM, EDTA) ، ۰/۱ ميلي‌ليتر SDS ۱۰% و ۲۰ ميكروليتر پروتئيناز K (۲۵ mg/ml) اضافه به مدت ۲۴-۱۶ ساعت در ۴۸۰ c انكوبه مي‌گرديد.
پس از اين مدت به هر لوله ۱/۵ ميلي‌ليتر فنل به تعادل رسيده با Tris-Hcl افزوده و پس از مخلوط كردن و سانتريفوژ (دور ۴۰۰۰ به مدت ۱۲ دقيقه) محلول بالايي (Supernatant) جدا و مجدداً توسط فنل (يكبار) و مخلوط كلروفرم ايزوآميل الكل (۲۴:۱) دوبار شستشو مي‌گرديد. مجدداً پس از سانتريفوژ محلول بالايي جدا و به نسبت دو برابر حجم آن اتانل ۹۶% و به نسبت ۰/۱ حجم آن استات سديم M) ۳) اضافه و سپس به مدت ۲۴-۱۶ ساعت در ۲۰۰ C- نگهداري و پس از آن سانتريفوژ گرديد، رسوب DNA جدا و سه بار توسط اتانل ۷۵% شستشو و نهايتاً رسوب DNA در بافر (Tris- Hcl 10mM, EDTA 100mM) TE حل مي‌شد.
پس از تعيين درجه خلوص DNA با روش اسپكتروفتومتري (نسبت جذب نوري در ۲۶۰ به ۲۸۰ نانومتر) جهت تكثير اگزونهاي مورد نظر از روش PCR استفاده گرديد. پرايمرهاي استفاده شده براي اگزون شماره ۵ رشته‌هاي رهبر و پيرو به ترتيب ۵ GACTTTCAACCTCTGT CTCCT3 و ۵ CTGGGGACCCTGGGGAACCA3 و پرايمرهاي استفاده شده اگزون شماره ۸ براي رشته‌هاي رهبر و پيرو به ترتيب ۵CCTTACTGCCTCTTGCTTC3 و ۵TGAATCTGAGGCATAATCTGC3 بودند كه بر اساس توالي ۲۰ نوكلئوتيد سمت ۳ و ۵ اگزونهاي مورد نظر طراحي و ساخته شده بودند. ۵۰ ميكروليتر مخلوط واكنش PCR شامل ۳۰ Pmol از هر پرايمر، ۲۵۰ M از هر نوكلئوئيد (dNTP) ، ۱۰۰ ngr DNA ژنوميك و يك واحد آنزيم DNA پليمراز Taq در بافر PCR تهيه و به هر ميكروتيوب PCR اضافه گرديد. PCR در دو مرحله انجام شد بدين ترتيب كه براي اگزون شماره ۵ مرحله اول با شرايط ۹۴۰ c (۳ دقيقه) و ۵۴۰ c (۱ دقيقه) و ۷۲۰ c (۱ دقيقه) براي سه سيكل و مرحلة دوم براي ۳۲ سيكل با شرايط ۹۴۰ c، ۵۴۰ c و ۷۲۰ c هر كدام يك دقيقه انجام گرديد. براي اگزون شماره ۸ مرحله اول در سه سيكل با شرايط ۹۴۰ c به مدت ۲ دقيقه و ۵۵۰ c و ۷۲۰ c هر كدام يك دقيقه و براي ۳۲ سيكل مرحله دوم شرايط ۹۴ c، ۵۵۰ c و ۷۲۰ c هر كدام به مدت يك دقيقه انجام شد. به منظور

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-05-26]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1381.1.2.5.4]

اطمينان از انجام موفق PCR محصولات در ژل آگاروز ۱% و در بافر TBE (M ۰/۵ M,EDTA ۰/۴۴۵ M,Boric Acid ۰/۴۴۵ Tris-base) الكتروفورز گرديد.

جهت انجام SSCP ،محصولات PCR نمونه‌هاي مختلف مطابق روش زير در ژل پلي‌آكريل آميد الكتروفوز و تعيين جهش گرديدند. بدين ترتيب كه ابتدا محصولات PCR به منظور تك رشته‌اي شدن به مدت ۵ دقيقه در c ۹۵۰ قرار گرفتند و سپس بلافاصله به ظرف يخ منتقل گرديدند. از ژل پلي‌آكريل آميد ۱۰% در سيستم الكتروفورز عمودي براي انجام SSCP استفاده گرديد، بدين منظور ۵ ميكروليتر محصول PCR و ۵ ميكروليتر با فر SSCP (فرماميد ۹۵%، هيدروكسيدسديم ۱۰ mM، برموفنل‌بلو ۰/۰۵% و گزيلين سيانول ۰/۰۵%) با هم مخلوط و به چاهك‌هاي ژل اضافه و الكتروفورز انجام شد (۱۵ ساعت با ولتاژ ۷۰ و در بافر* ۰/۶ TBE).

رنگ آميزي ژل با روش نيترات نقره انجام گرفت بدين صورت كه ژل در محلول A (اتانل ۱۰% و اسيد استيك ۰/۵%) به مدت ۵ دقيقه قرار داده شد سپس به مدت ۱۰ دقيقه به محلول B (نيترات نقره ۰/۱%) انتقال يافت آنگاه تا ظاهر شدن باندهاي ژل در محلول C] (۹/۴ ميلي‌ليتر (N ۱۰) NaoH ، ۲۵ ميلي‌ليتر (۱%) NaBH4 و يك ميلي ليتر فرمالدئيد در حجم ۲۰۰ ميلي‌ليتر [نگهداري و نهايتاً ژل به مدت ۵ دقيقه در محلول D (بي‌كربنات سديم ۰/۷۵%) قرار داده شد و پس از شستشو با آب مقطر باندها مورد بررسي و آناليز قرار گرفتند.

نتايج:

مشخصات هيستوپاتولوژيكي تومور، سن و جنس بيماران در جدول (شماره۱) آمده است تمامي بيماران داراي سابقه ابتلاء به سرطان در خانواده بودند. از ۳۲ بيمار داراي سرطان پستان مورد مطالعه ۶/۲۵% بيماران مرد و ۹۳/۷۵%، زن ، ۱۶/۱% سن زير ۳۲ سال و ۸۳/۹% سن بالاي ۳۲ سال و ۴۵/۱% دچار درگيري غدد لنفاوي بودند.

تشخيص پاتولوژيك بيماري در ۸۷/۵%، (*invasive ductal carcinoma) Inv.D.C*) ۹/۳۷%، (*invasive Lobular carcinoma) Inv.L.C* و ۳/۱% *Inf.D.C* (*infiltrating ductal carcinoma*) بود. درجه تفكيك و تمايز تومور در ۵۸/۶% درجه *III* و بقيه درجه *I-II* ، ۴۴% درگيري پستان سمت راست و ۵۶% درگيري پستان سمت چپ داشتند.

استخراج DNA بطور موفقيت‌آميزي انجام گرفت و نتيجه تعيين درجه خلوص DNA (نسبت جذب نوري در ۲۸۰ nm ۲۶۰ nm)در تمامي موارد در حد قابل قبول (۱/۷-۱/۳)بود. براي اطمينان از انجام PCR ، محصولات PCR در آگاروز ۱% الكتروفورز گرديدند (شكل شماره ۱) همانگونه كه ملاحظه مي‌گردد PCR با موفقيت بسيار خوبي انجام گرفته است.

شكل شماره ۲ نمونه‌اي از الكتروفورز SSCP اگزون شماره ۵ پس از رنگ‌آميزي با نيترات نقره مي‌باشد. باندهاي شماره ۲ و ۹ كه متعلق به دو بيمار مبتلا به سرطان پستان فاميلي مي‌باشند، بطور مشخصي حركت متفاوتي از نمونه كنترل و نيز نمونه‌هاي ديگر بيماران دارند كه نشان دهنده تغيير نوكلئوئيدي (موتاسيون نقطه‌اي) در اين دو بيمار مي‌باشد. بالاخره نتيجه SSCP ، ۳۲ بيمار مورد مطالعه نشان

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-05-26]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1381.1.2.5.4]

داد كه در اگزون شماره ۵ دو مورد و در اگزون شماره ۸ چهار مورد جهش اتفاق افتاده است. نتايج با آزمون آماري **FISHER EXACT** جهت تعيين ميزان ارتباط جهش‌هاي شناخته شده و فاكتورهاي متعدد دخيل در سرطان پستان بررسي و مقايسه گرديد. بين جهش در اگزونهاي شماره ۵ و ۸ ژن P ۵۳ و سن بيماران ارتباط معني‌داري يافت نشد (۰/۵۲ =P) همچنين ارتباط جهش‌هاي ذكر شده و درگيري غدد لنفاوي (۰/۷۵ =P) ، تشخيص پاتولوژيك (۰/۲۷ =P) ، درجه تمايز تومور (۰/۳ =P) و درگيري پستان سمت راست يا چپ (۰/۳۷ =P) در حد معني‌داري نبود .

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-05-26]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1381.1.2.5.4]

بحث:

اين پژوهش بخشي از يك طرح تحقيقاتي كلي مي‌باشد كه به منظور تعيين جهش‌هاي ژن P ۵۳ در مبتلايان به سرطان پستان فاميلي در جامعه ايراني توسط وزارت بهداشت و درمان مصوب شده بود. نتيجه اين تحقيق نشان داد كه در ۳۲ بيمار مبتلا به سرطان پستان فاميلي مطالعه شده در اگزون شماره ۵ دو جهش (۶/۲۵%)و در اگزون شماره ۸ چهار جهش (۱۲/۵%) اتفاق افتاده است. در مطالعات قبلي ميزان جهش تعيين شده براي اگزون شماره ۵ در مبتلايان به سرطان پستان فاميلي در جوامع مختلف، متفاوت بوده است. بطوريكه بر اساس مطالعات گزارش شده در بخشي از جامعه ژاپن آن را ۷% (۱ و ۱۲)، در جامعه هلند ۱۷% (۴) و در استراليا ۱۲% (۱۰) اعلام نموده‌اند. در مورد اگزون شماره ۸ در بخشي از جامعه ژاپن ميزان جهش آن را در مبتلايان به سرطان پستان فاميلي ۲۸% (۱ و ۱۲) و در بخش ديگري از جامعة ژاپن ۵/۲% (۱ و ۱۲) و در بخشي از جامعة استراليا ۲۴% (۱۰) و در هلند ۱۷% (۴) گزارش كرده‌اند.

بنابراين فراواني جهش‌هاي P ۵۳ در سرطان پستان توزيع جغرافيايي دارد و مي توان نتيجه‌گيري نمود عوامل محيطي كه در اتيولوژي سرطان پستان نقش دارند بر نحوه جهش‌زايي ژنها نيز مؤثرند براي مثال در شمال ژاپن ميزان كل جهش P ۵۳ در مبتلايان به سرطان پستان ۸۱% در حاليكه در جنوب اين كشور اين ميزان، ۲۱% گزارش شده است (۱،۱۲). لذا با توجه به وجود قوميت‌هاي مختلف در ايران اولاً لازم است ميزان جهش‌ها در جامعة ايراني و در ثاني در قوم‌هاي مختلف (همانند بسياري از كشورها) به طور دقيق تعيين گردد.

مطالعه جهش‌هاي P ۵۳ توسط تكنيكهاي مختلف انجام مي‌گيرد كه متداولترين آنها عبارتند از شكست RNA's ، الكتروفورز ژل با شيب واسرشتي ، برش شيميايي جفت شدگي ناجور ، تجزيه و تحليل هترو و دوبلكس ، آزمايش پروتئين ناقص شده و چند شكلي فضايي تك رشته‌اي (SSCP) . از اين ميان روش PCR-SSCP متداولترين روشي است كه جهت تعيين جهش‌هاي ژن P ۵۳ توسط محققين استفاده مي‌شود (۳). اساس اين روش آن است كه قطعات با طول كمتر از ۳۰۰ جفت باز چنانچه حتي يك نوكلئوئيد نسبت به حالت طبيعي تغيير كرده باشد در شكل سه بعدي تك رشته‌اي DNA (Single strand) حركتي متفاوت از حالت طبيعي در ژل خواهد داشت، با توجه به اينكه طول قطعات اگزونهاي مورد مطالعه كمتر از ۳۰۰ جفت باز بوده و نيز سادگي، سريع و ارزان بودن اين روش و دقت بالاي آن (ميزان دقت روش مذكور جهت تعيين جهش ۹۰% مي‌باشد) (۳). از اين روش جهت تعيين جهش‌هاي ژن P ۵۳ استفاده گرديد. براي حصول اطمينان قطعي از جهش بايد محصولات PCR اگزونهاي جهش يافته در روش SSCP ، تعيين توالي شده و نوع تغيير نوكلئوئيدي به طور دقيق مشخص گردد اما در زمان انجام اين طرح امكان اين مرحله ميسر نبود. به هر حال نتيجه اين تحقيق ميزان جهش‌هاي موجود در اگزون شماره ۵ و ۸ ژن P ۵۳ در ۳۲ بيمار مبتلا به سرطان پستان فاميلي مورد مطالعه را مشخص نمود اما با توجه به محدود بودن تعداد بيماران و رسالت اين بخش از تحقيق كه وظيفه تعيين جهش در همين تعداد بيماران را به عهده داشت جهت نتيجه‌گيري كلي بايد منتظر ارائه نتايج پايان طرح شد و با استفاده از نتايج مطالعات انجام شده در نقاط مختلف جغرافيايي جهان كدونهاي حساس به جهش (Hot Spots) شناسايي شده و در طراحي تست‌هاي غربالگري و تشخيص‌هاي كلينيكي استفاده گردد.

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-05-26]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1381.1.2.5.4]

جدول شماره ۱: مشخصات هیستوپاتولوژي، سن، جنس و سابقه فاميلي ابتلاء به سرطان ۳۲ بيمار مبتلا به سرطان پستان

سابقه خانوادگی	پستان‌درگیر	درگیری غدد لنفاوی	درجه تمایز	قطر تومور Cm	نوع تومور	سن	جنس	شماره بیمار
+	L	+	III	۲	inv.D.C	۲۳	F	۱
+	R	+	II	۱/۳	inv.D.C	۴۳	F	۲
+	L	-	III	۴/۵	inv.D.C	۳۸	F	۳
+	L	-	?	۲	inv.D.C	؟	M	۴
+	R	+	?	۱/۳	inv.D.C	۴۰	F	۵
+	L	+	III	۲/۵	inv.D.C	۳۴	F	۶
+	R	-	III	۲/۵	inv.D.C	۴۵	F	۷
+	R	+	III	؟	inv.D.C	۵۶	F	۸
+	R	؟	?	؟	inv.D.C	۷۵	M	۹
+	R	-	III	۱/۵	inv.D.C	۵۰	F	۱۰
+	R	-	I-II	؟	inv.D.C	۴۴	F	۱۱
+	L	-	II-III	۲/۵	inv.D.C	۵۰	F	۱۲
+	L	-	II-III	۱	inv.D.C	۵۳	F	۱۳
+	L	-	III	۲/۵	inv.D.C	۴۲	F	۱۴
+	L	-	II-III	۳	inv.D.C	۴۸	F	۱۵
+	L	-	II-III	؟	inv.D.C	۳۰	F	۱۶
+	R	-	II-III	۴	F	۴۰	F	۱۷
+	R	-	II-III	۲/۵	inv.D.C	۶۷	F	۱۸
+	R	-	III	۲	inv.D.C	۶۵	F	۱۹
+	L	-	II	۴	inv.D.C	۴۲	F	۲۰
+	R	-	II	؟	inv.D.C	۴۸	F	۲۱
+	R	-	III	؟	inv.D.C	۴۵	F	۲۲
+	L	-	II	؟	inv.D.C	۳۴	F	۲۳
+	L	-	III	۲	inv.D.C	۳۸	F	۲۴
+	R	-	III	۲/۲	inv.D.C	۳۶	F	۲۵
+	L	-	III	۱/۹	inv.D.C	۴۱	F	۲۶
+	L	-	III	۷/۵	inv.D.C	۳۴	F	۲۷
+	L	+	III	۷	inv.D.C	۷۵	F	۲۸

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-05-26]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1381.1.2.5.4]

۲۹	*F*	۷۲	*inv.D.C*	۳	*II*	-	*L*	+
۳۰	*F*	۴۹	*inv.D.C*	۳/۵	*II*	-	*R*	+
۳۱	*F*	۵۲	*inv.D.C*	؟	?	-	*R*	+
۳۲	*F*	۳۶	*inv.D.C*	۳/۵	*III*	+	*R*	+

F (Famle), M(Male)inv. D.C (invasive ductal carcinoma)inv. L.C (invasive lobular carcinoma, inf.D.C(infiltrating ductal carcinoma, L(Left), R(Right)

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-05-26]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1381.1.2.5.4]

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-05-26]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1381.1.2.5.4]

PCR شكل شماره ۱: الكتروفوز تعدادي از محصولات
P اگزون ۸ ژن ۵۳

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-05-26]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1381.1.2.5.4]

اگزون شماره ۵ ژن **SSCP** شکل شماره ۲: نمونه ژل نمونه‌هاي ۲ و ۹ حرکتي متمايز از ديگر **P** ۵۳ نمونه‌ها و نمونه کنترل داشته جهش تلقي مي‌شود.

C= Control **M= Marker V**

۱ـ مهدي پور پروين جنبه‌هاي ژنتيك سرطان پستان چاپ اول موسسه نشر، كلمه تهران ۱۳۷۶، ۱۴۲-۱۳۹

۲- Bchn M and Schverman M, Ggenetic alterations in breast cancer, Gene chromosome cancer.(1998); 14:227-251

3-_ Bich L, and Lide reav R Sensitive detection of P53 gene Mutant enriched PCR- SSCP technique. Nucleic acid reserch (1995); 2615:1356- 58.

4-) Broved C Verdier F and Sovssi T P53 gene mutation. Nucleic acid research (1996); 24:147-250.

5-) Chen A, Neubauer, W and kurisu FM etal.loos of heterozygosity on the short arm of chromosom 17 is associated with high proliterative capacity and DNA aneuploidy in primary human breayt cancer. ploc. Natl. Acad. Sci. USA, (1996); 88(9):572-585.

6- Davidoff AM and Humphrey PA., etal. Genetic basis for P53 overexpression in human breast cancer proc. Natl. Acad. Sci. USA.(1991); 88(11):724-32

7) Faid D and Easton DF. the genetics of breast and orarian cancer. Br. J. cancer. (1995); 72: 805-12

8) Frebourg J, kassel J and lam KT. etal. Germ- line mutation of the P53 Tumor supressor gene in patients with high risk for cancer inactivato the P53 protein. proc. Natl. Acad. sci. USA. 1992; 89(14):1240-52.

9) Frebovry T and Barbier N etal. Germ-line P53 mutation in families with li-fraumeni syndrome, Am. J. Hum. Genet (1995); 56:608-615.

10- Greenblatt MS, Bennett W.P , Hollstein M and Harris M. Mutations in the P53 tumor suppessor gene, cancer Reserch (1994); 54:4855-78

11- Hartmann A and Blaszyk A etal. P53 gene mutation inside and outiside of exsons 5-8: The patterns differ in breast cancer. oncogene (1995); 10:681-88

12) Kleihues P and Schavble B etal. tumors aassocaited with P53 germline mutations A synopsis of 91 families. AM. J pathology (1997); 150:1-9.

13) Levine A Momand J and Finalay CA. the P53 Tumour suppressor gene. Nature (1991); 351:453-55.

14) Moline R Segui MA and Climent MA etal. P53 on coprotein as a prognostic Indicator in patients with breast cancer. Anti- cacer Research (1998); 18:507-512

15) Moll UM Riou G and levine AJ. Tow distinct Mechanisms alter P53 in breast cancer: mutation and nuclrar exclusion. proc - Natl. Acad. USA (1992); 89(15):1320-28.

16) Polya K YongXia J and Kenneth W etal. A model for P53- induced apoptosis. Nature (1997); 389:300-305

17)Tornalet S Bates S and gred P. A high-resolution analysis of chromatin stucture along P53 sequences. molecular carcinogenesis (1996); 17:192-201.

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-05-26]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1381.1.2.5.4]

Detection of P 53 gene mutations in exons 5 and 8 in patients of familial breast cancer with PCR-SSCP methode.

M.R Mirzaei (1) , **P.Mehdipour** (2) , **M.Atri** (3) , **H.Teimouri** (4) , **GH.Asadi** (1)

1- Department of biochemisty-genetics, Rafsanjan School of Medicine, RAFSANJAN-IRAN
2- Department of Genetics, Faculty of healths, medical University of Tehran, TEHRAN-IRAN
3- Cancer institute, Imam Khomini Hospital, TEHRAN-IRAN
4- Department of biochimistry-Genetics, Gorgan School of Medicin GoRGAN-IRAn

Background: **Breast cancer is one of the most common cancer of women in the world. Although different genetic alteration has been reported in this malignancy, but P 53 gene mutations has more frequency. P 53 gene is one of the most important suppressor genes and it play a central role in breast cancer and detecting of mutations in this gene would be very helpful in understanding of genetic mechanisms in intiation and progress of this cancer.**

Materials - Methods: **32 patients with familial breast cancer were selected and biopsy of breast as sample were studied. DNA extraction were performed by phenol-chloroform method and polymerase chain reaction (PCR) for amplification of exons 5 and 8 were carried out. Inorder to detection of mutations SSCP (single strand conformation polymorphism) method was used and SSCP polyachrilamid gels were staind by silver nitrate. Abnormal band incompare with controls were selected as matation.**

Results: **2 mutations in exon 5 and 4 mutations in exon 8 were detected by analysing of SSCP gels. There were not found any statistical differences relationship between breast cancer and different tumour establisher agents.**

Discussion: **Mutation of P 53 gene has been known as starter of breast cancer in the different population. In some area mutation of P 53 gene is cause of breast cancer with 80% frequency.**

Due to some limitation in our study, such as: number of patients and exons that were studied, could not conclude an exact interpretation between P 53 gene mutation and breast cancer.

In order to reveal dominant P 53 gene mutations in iranian people, we recommend to perform this study on more patients with breast cancer and all exons of P 53 gene in Iran.

Key words: **Breast cancer, P53 gene, Mutation, PCR-SSCP**

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-05-26]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1381.1.2.5.4]

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2026-05-26]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1381.1.2.5.4]