

بررسی بیوانفورماتیکی و سیتوژنتیک مولکولی ناحیه ۲۴cM-۲۰cM از کروموزوم ۱۵ دارای عدم تعادل آللیک در موش‌های مستعد سرطان رحم

احمد همتا Ph.D.*

- دانشگاه اراک، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی، کد پستی ۳۸۱۵۶-۸-۸۳۴۹
* پست الکترونیک نویسنده مسئول: a-hamta@araku.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۳/۲۱

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱۱/۱

چکیده

هدف: هدف از این تحقیق شناسایی ژن‌های ناحیه ۲ دارای عدم تعادل آللیک با استفاده از روش‌های بیوانفورماتیک و سپس انتخاب و مطالعه برخی از آن‌ها با استفاده از روش هیبریداسیون درجا بود.

مواد و روش‌ها: تومورهای تائید شده توسط متخصص پاتولوژی برای کشت سلولی مورد استفاده قرار گرفت. کروموزوم‌های متافازی با روش‌های متداول تهیه گردید. سپس پراب ژن‌های مربوطه نشاندار شده جهت انجام هیبریداسیون بر روی اسلایدها ریخته شد. سپس مرحله آشکارسازی پراب‌های نشاندار انجام شد. اسلایدها توسط میکروسکوپ فلورسانس و با استفاده از نرم افزار Laica CW4000 مورد مطالعه قرار گرفتند.

نتایج: با استفاده از پایگاه‌های اطلاعاتی در ناحیه مورد مطالعه ۱۰۴ ژن شناسایی گردید ولی بسیاری از آن‌ها دارای عمل‌کرد مشخص نبودند. بر اساس نتایج حاصل از روش هیبریداسیون درجا (FISH: Fluorescence in situ hybridization) مشخص شد که ژن‌های *Fermt2*, *Socs4* و *Dlgap5* دارای فزون‌یابی ژنی و *Lgals3* دارای کاهش تعداد نسخه ژنی بودند.

نتیجه‌گیری: احتمالاً دو ژن *Socs4* و *Dlgap5* از جمله ژن‌هایی می‌باشند که در بروز سرطان رحم نقش موثر دارند.

واژگان کلیدی: آدنوکارسینومای آندومتر، FISH، Paint، موش صحرائی

مقدمه

تاکنون بیش از ۲۰۰ نوع سرطان‌های مختلف شناسایی شده است و از جمله شایع‌ترین آن‌ها در خانم‌ها و در کشورهای صنعتی، سرطان رحم است. سرطان یک بیماری واحد که یک اندام خاص را درگیر نماید و یا علت مشخص داشته باشد نیست بلکه نامی است برای گروه بزرگی از بیماری‌ها که رشد غیرقابل کنترل سلول‌ها را همراه داشته و به شکل یک توده در می‌آید و یا اینکه به بافت‌های مجاور تهاجم کرده و در عمل طبیعی آن‌ها اختلال ایجاد می‌نماید و اگر درمان نشود کشنده است. مطالعه در مورد سرطان به‌منظور یافتن ژن‌های درگیر در بروز آن می‌تواند در یافتن راه‌های موثرتری در درمان این دسته از بیماری‌های ژنتیکی مهم می‌باشد. یکی از روش‌های متداول برای حصول چنین نتایجی مطالعه تغییرات ایجاد شده در ریخته ژنتیکی فرد بیمار می‌باشد. به عبارت دیگر بررسی کروموزومی سلول‌های توموری در کسب اطلاعات مورد نیاز، از مهم‌ترین و اصلی‌ترین راه‌های آزمایشگاهی است (۱). در سه دهه گذشته، محققین اطلاعات زیادی را درباره ژن‌ها و پروتئین‌ها و نقش آن‌ها در تولید سلول‌های طبیعی و سرطانی گزارش کرده‌اند. یکی از اکتشافات مهم آن‌ها نقش ژن‌ها جهش یافته در تولید سلول‌های سرطانی بوده است. عوامل محیطی که باعث موتاسیون‌های ژنتیکی می‌شوند در حال شناسایی هستند. همچنین با کمک از روش‌های مختلف مولکولی، می‌توان قدرت بیان ژن‌ها و پروتئین‌های معیوب را تعیین نمود. حتی پیدا کردن بیومارکرهای جدید که شاخص یک‌نوع سرطان هستند در تشخیص زودرس و معالجه به‌موقع بیماری سرطان کمک‌های شایان توجهی را می‌نماید (۲). سرطان یکی از شایع‌ترین و شدیدترین بیماری‌هایی است که در پزشکی بالینی دیده می‌شود. آمار نشان می‌دهد که بیش از یک سوم جمعیت به یکی از اشکال سرطان مبتلا می‌شوند. بیش از ۲۰ درصد مرگ‌ها در اثر سرطان اتفاق می‌افتد و در کشورهای توسعه یافته بیش از ۱۰ درصد کل هزینه مراقبت‌های پزشکی برای سرطان صرف می‌شود. سرطان در اثر عدم درمان به طور حتم به مرگ منجر خواهد شد (۳). در مطالعه قبلی (۴) در کروموزوم شماره ۱۵، موش‌های نژاد BDII چهار ناحیه دارای عدم تعادل آللیک (Allelic Imbalance) شناسایی گردید. ناحیه ۲ این کروموزوم از ۲۱ Mb تا ۲۴ Mb شامل می‌گردد. در آن مطالعه، ناحیه ۲ کروموزوم ۱۵ تومورهای Endometrial adenocarcinomas (EAC) دارای عدم تعادل آللیک را بین ۲۰ الی ۲۳ مگا جفت باز پیشنهاد شد و در آن ۳۷

ژن شناسایی که ۱۸ تای آن‌ها ژن‌های شناخته شده دارای عمل کرد مشخص بوده و ۹ ژن در سرطان‌های مختلف دخالت می‌نموده است که به‌عنوان ژن‌های سرطانی نام‌گذاری شدند. ولی در این تحقیق برای افزایش دقت در انتخاب ژن‌های مستقر در ناحیه دارای AI، ژن‌های بین ۱۹ الی ۲۵ مگا جفت باز مورد بررسی و شمارش مجدد قرار گرفت. با توجه به کشف ژن‌های جدید از زمان چاپ مقاله تا تحقیق حاضر ملاحظه می‌گردد که تعداد ژن‌های این ناحیه ۱۰۸ ژن که دارای نام علمی و عمل کرد مشخص می‌باشند، تعیین و شناسایی شده است که از آن میان ۲۶ ژن به‌طور دقیق شناخته شده است و اطلاعات آن‌ها با توجه به پایگاه‌های اینترنتی مانند NCBI و همچنین محل سیتوژنتیک آن‌ها بر روی کروموزوم انسانی و عمل کرد ژن نیز تعیین گردید. همچنین با مطالعه مقالات مختلف نقش آن‌ها در بیماری‌های متفاوت به‌خصوص در سرطان نیز مورد بررسی قرار گرفت و هر یک از این ژن‌ها در یک یا چند سرطان (به‌جز سرطان آندومتر) دخالت داشته‌اند و لذا ژن‌های سرطانی نامیده می‌شوند. در این تحقیق ۱۲ عدد از این ژن‌های سرطانی که در ناحیه II کروموزوم ۱۵ موش‌های مبتلا به اندومتریوم آدنوکارسینومای آندومتر (EAC) شرکت داشتند، با استفاده از تکنیک روش هیبریداسیون در جا (FISH: Fluorescence in situ hybridization) و پینت (Paint) مورد بررسی و مطالعه قرار گرفتند.

مواد و روش‌ها

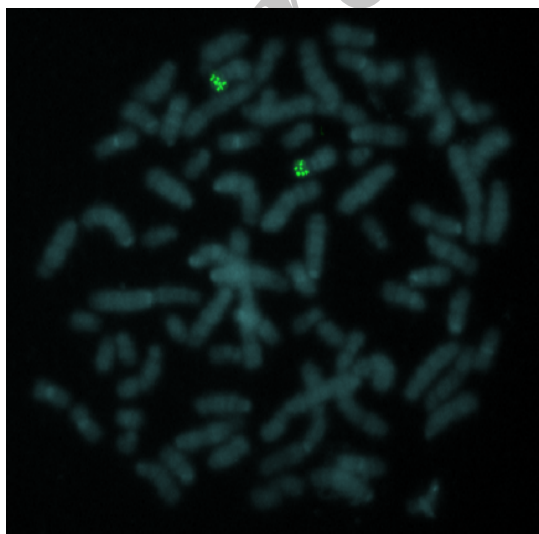
نژاد پرورشی BDII مستعد بروز EAC می‌باشد (۵). در این تحقیق موش‌های صحرایی ماده نژاد BDII/Han با رعایت قوانین حقوق حیوانات با موش‌های صحرایی نر از دو نژاد BN/Han و SPRD-Cu3/Han آمیزش داده شدند. به‌منظور تولید نسل F2 زاده‌های نسل F1 با هم و برای تولید زاده‌های بک کراس، نرهای نسل اول با موش‌های صحرایی ماده والد آمیزش داده شدند. برای مشخص شدن ظهور تومور در زاده‌های حاصل از آمیزش، حیوان‌ها به‌طور منظم مورد بررسی ظاهری قرار می‌گرفتند. هنگامی که تومور ظاهر می‌شد موش صحرایی با رعایت حقوق حیوانات و با استفاده از اتاقک کلروفورم بی‌هوش و کشته می‌شدند. در این تحقیق ۱۰ تومور و ۱۲ ژن مورد مطالعه قرار گرفت و از نظر پاتولوژیکی در همگی آن‌ها EAC تشخیص داده شدند.

Olympus B51x و دوربین CCD تهیه گردید سپس آنالیز کروموزومها به وسیله نرم افزار لایکا Leica Q-FISH انجام شد. از آنجائی که پراب اختصاصی Paint برای کروموزوم ۱۵ موش صحرائی RNO15 وجود ندارد لذا از پراب های اختصاصی کروموزوم ۱۴ موش خانگی MMU14 (Bio.com. inc) برای این منظور استفاده شد.

نتایج

در این تحقیق پراب paint کروموزوم ۱۴ موش برای مجموعه ۱۰ تایی از تومورهای EAC به کار برده شد. بر اساس نتایج به دست آمده آرایش کروموزوم ۱۵ در هر یک از تومورها قابل شناسائی بود. نتایج نشان داد که اکثریت کروموزومهای پینت مثبت paint-positive به ظاهر کروموزومهای ۱۵ سالم بودند. همچنین کروموزومهای مشتق شده از کروموزوم ۱۵ (-RNO15 derived) نیز مشاهده گردید که به طور آشکار دچار حذف شدگی و جابجایی شده بودند (شکل ۴).

آنالیز اطلاعات بدست آمده از تکنیک FISH در این تحقیق نشان داد که برخی از ژن‌ها دارای افزایش تعداد نسخه‌های ژنی بودند و همچنین، ۳ تا از نمونه‌ها فزون‌یابی ژنی را برای یک یا چند ژن در کروموزوم ۱۵ موش‌های مبتلا به سرطان رحم نشان دادند (جدول ۱). گاهی این فزون‌یابی به صورت خوشه‌ای از سیگنال‌ها بوده و گاهی تعداد این نسخه‌های ژنی متعادل تر بوده و معمولا بین ۱۰ تا ۱۵ افزایش تعداد را نشان می‌داد که مثال‌هایی از آن در اشکال ۱ الی ۵ قابل مشاهده است.



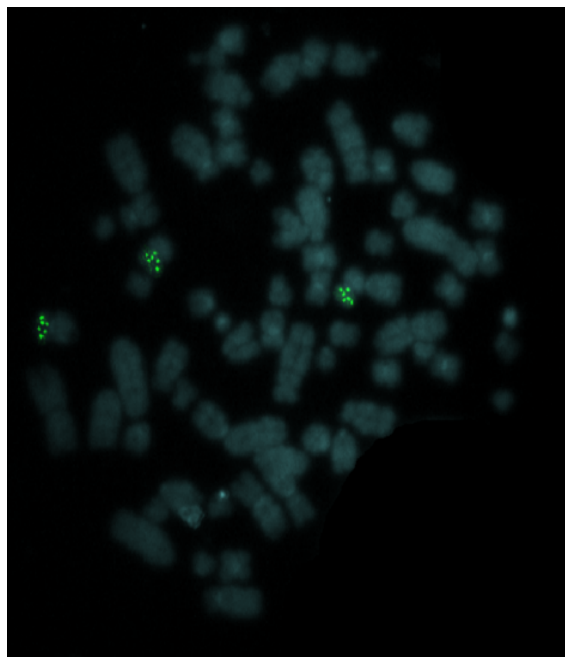
شکل ۱: سیگنال‌های به دست آمده از هیبریداسیون پراب‌های نشاندار ژن *Fermt2* بر کروموزوم‌های متافازی حاصل از تومور *NUT50*

تکنیک‌های **HSIF** و **niap**: برای تهیه کروموزوم‌های متافازی، به سلول‌های حاصل از کشت کلشیسین (۰/۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر) به مدت ۰۲ دقیقه اضافه گردید. هاروست سلول‌ها با تکان دادن شدید فلاسک‌های کشت انجام گردید و سپس سلول‌ها توسط عمل سانتریفوژ ته‌نشین شدند.

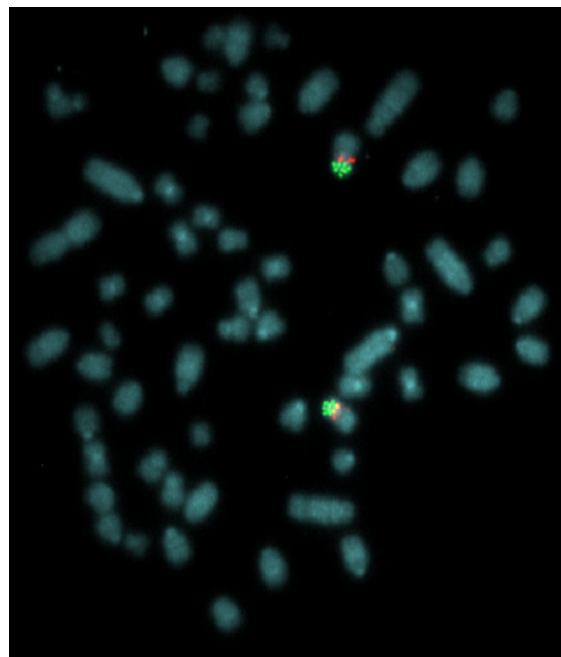
پلیت سلولی حاصل در ۰/۰۷۵ مول کلرید پتاسیم مجددا معلق گردید و ۱۵ دقیقه در هوای آزمایشگاه قرار گرفت. عمل تثبیت سلول‌ها با فیکساتیو کارنوی انجام گرفت. اسلایدهای تهیه شده در هوای آزمایشگاه خشک شد و در الکل ۷۰ درصد و در ۲۰- تا زمان استفاده نگهداری گردید.

تکنیک FISH به روش پینکل (۶) و با کمی اصلاحات انجام گرفت. کلون‌های BAC حامل ژن‌های مورد مطالعه با استفاده از برنامه بک-فایندر در پایگاه اطلاعاتی Ratmap به آدرس اینترنتی (<http://ratmap.org/bacfinder/bacfinder/>) تعیین گردید و سپس از BACPACorders@chori.org خریداری شد. کلون‌های بک توسط بیوتین و دایگوکسینان (Boehringer Mannheim, Mannheim, Germany) و با استفاده از روش نیک ترنسلیشن nick translation و در درجه حرارت ۱۶ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۹۰ دقیقه نشاندار شدند (Nick Translation System, GibcoBRL, Life Technologies, Gaithersburg, MD). پراب‌ها همراه با DNA موش صحرائی سونیکیت شده رسوب داده شده و دوباره در ۲۰ میلی لیتر بافر هیبریداسیون شامل فرماید ۵۰ درصد، سولفات دکستران ۱۰ درصد و 2X SSC حل گردید. پراب‌ها برای مدت ۵ دقیقه در ۷۵ درجه سانتی‌گراد دناتورده شدند و به‌طور دوتایی به اسلایدهای حاوی کروموزوم‌های متافازی که قبلا در فرماید ۷۰ درصد و 2X SSC برای ۲ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد دناتورده شده بودند، اضافه گردید. هیبریداسیون پراب‌ها در اتاق مرطوب و در درجه حرارت ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت انجام شد و به دنبال آن در فرماید ۵۰ درصد و 2X SSC به مدت ۱۵ دقیقه و در درجه حرارت ۴۵ درجه سانتی‌گراد شستشو داده شد.

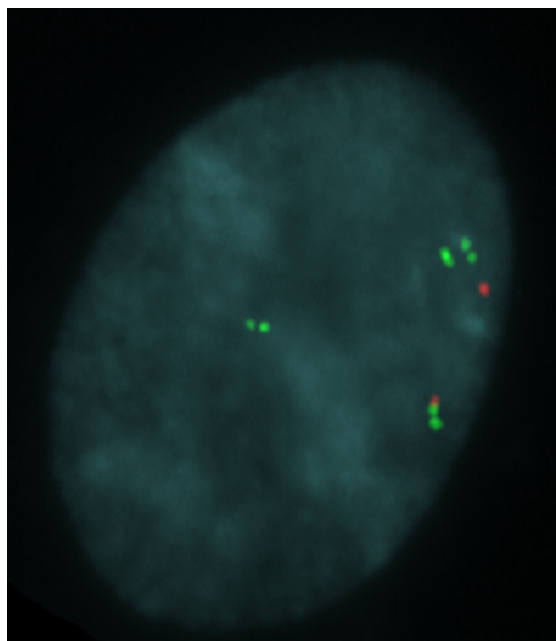
آشکارسازی پراب‌ها توسط اضافه کردن FITC کنجوگیت با آودیسن و رودامین آنتی دایگوکسی ناین (Oncor, Gaithersburg, MD) انجام گرفت. نهایتا کروموزوم‌ها توسط DAPI رنگ آمیزی و تصاویر دیجیتالی متافازهای رنگ آمیزی شده با FITC، DAPI و رودامین توسط میکروسکوپ فلورسانس



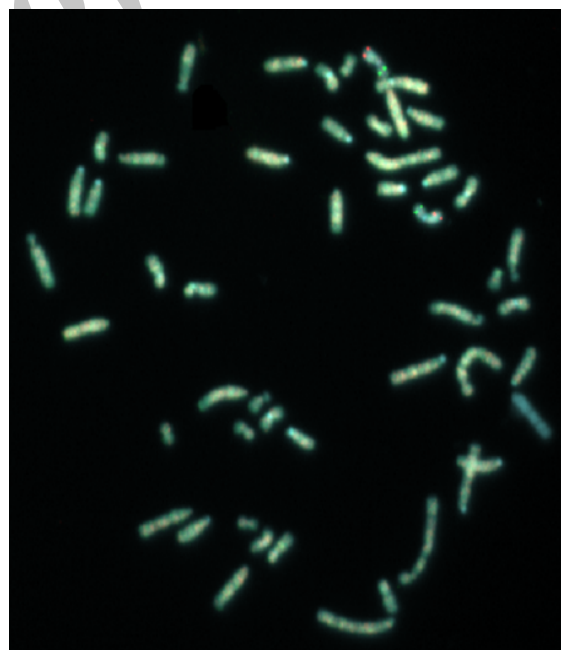
شکل ۴: سیگنال‌های به‌دست آمده از هیبریداسیون پراب‌های نشاندار ژن *Lgals3* بر کروموزوم‌های متافازی حاصل از تومور *NUT100*.



شکل ۲: سیگنال‌های به‌دست آمده از هیبریداسیون پراب‌های نشاندار ژن *Dlga5* (green) و ژن *Gata4* (red) بر کروموزوم‌های متافازی حاصل از تومور *Rut30*.



شکل ۵: سیگنال‌های به‌دست آمده از هیبریداسیون پراب‌های نشاندار ژن *Rb1* (green) و ژن *Ptger2* (red) بر سلول‌های اینترفازی حاصل از تومور *Rut*.



شکل ۳: سیگنال‌های به‌دست آمده از هیبریداسیون پراب‌های نشاندار ژن *Fgf14* (red) و ژن *Gmfb* (green) بر کروموزوم‌های متافازی حاصل از تومور *NUT55*.

نتایج بدست آمده از انجام روش FISH بر ۱۰ تومور بدست آمده از آمیزش رت‌های نژاد BDII با رت‌های نژاد SPRD و BN، با استفاده از ۱۲ ژن مستقر در ناحیه ۲ دارای عدم تعادل آللیک در جدول شماره ۱ خلاصه شده است.

معمولا در تومورها فقدان سیگنال، تنها در زیر گروهی از جمعیت سلولی دیده شد ولی به‌طور کلی در مجموعه توموری مورد مطالعه در اکثریت سلول‌ها در بین زاده‌های *NUT100* و *NUT130* کاهش نسخه‌های ژنی مشاهده گردید.

جدول ۱: نتایج به دست آمده از انجام هیبریداسیون درجا (FISH) با استفاده از پراب‌های نشاندار ۱۲ ژن مهم در ناحیه دارای عدم تعادل آللیک بر روی کروموزوم شماره پانزده رت های نژاد BDII مبتلا به تومور آدنوکارسینومای آندومتر.

ژن	تومور	Mb	NUT72	NUT31	NUT55	NUT46	RUT2	NUT50	NUT76	RUT30	NUT100	NUT130
1	<i>Ptger2</i>	20/2	-	-	-	-	-	-	-	ND	-	-
2	<i>Psmc6</i>	21/2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	<i>Fermt2</i>	21/4	-	-	-	-	-	A	A	-	-	-
4	<i>Bmo4</i>	22/3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	ND
5	<i>Gmfb</i>	22/7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	<i>Cdkn3</i>	22/7	-	ND	-	-	-	-	-	-	ND	-
7	<i>Cgrrf1</i>	22/7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	<i>Samd4a</i>	22/9	-	-	-	-	-	-	-	-	ND	-
9	<i>Socs4</i>	23/3	A	-	-	-	A	a	a	-	-	-
10	<i>Dlgap5</i>	23/4	a	-	-	A	A	-	A	A	-	-
11	<i>Lgals3</i>	23/4	-	-	-	a	ND	-	-	-	b	b
12	<i>Ktn1</i>	24/3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A = فزونی یابی ژن												
a = افزایش نسخه ژن												
- = سیگنال های طبیعی =												
b = کاهش نسخه ژن												
ND = اطلاعاتی موجود نیست												

آللیک که در ناحیه ۲۵Mb-۱۹Mb امتداد داشت، با استفاده از تکنیک FISH مورد بررسی قرار گرفت. آنالیز اطلاعات به دست آمده با استفاده از این روش نشان داد که، ژن های *Dlgap5*، *Socs4* و *Fermt2* به ترتیب بیشترین درجه فزونی یابی ژنی، در بین تومورهای زاده‌های مختلف حاصل از آمیزش را به خود اختصاص داده‌اند.

نقش ژن *Dlgap5* در تنظیم چرخه سلولی همچنین در hepatocellular carcinoma گزارش شده است (۸) علاوه بر آن، دخالت این ژن در سرطان روده (۹) و سرطان پستان (۱۰) ثابت شده است. از آنجائی که دخالت این ژن در سرطان‌های مختلف گزارش شده است و همچنین نتایج این تحقیق که هم‌فزونی‌یابی این ژن را در تومورهای آدنوکارسینومای آندومتر نشان داده است لذا به نظر می‌رسد این ژن به‌عنوان یک ژن کاندیدا در بروز سرطان آندومتر بایستی مورد بررسی دقیق تر قرار گیرد.

ژن *Socs4* نیز در این تحقیق رفتار مشابهی را نشان داد. محصول ژنی آن در تنظیم انتقال سیگنال سیتوکینین‌ها دخالت دارد؛ همچنین گزارش شده است که در سرطان پستان بیان این ژن افزایش می‌یابد (۱۱). علاوه بر این، تحقیقات نشان داده است که این ژن در سرطان سلول‌های سنگفرشی شش‌ها نیز دخالت دارد (۱۲). لذا با توجه به عمل کرد این ژن در

در جدول فوق مشاهده می‌گردد که ژن های *Dlgap5*، *Socs4* و *Fermt2* به ترتیب بیشترین درجه فزونی یابی ژنی را در بین تومورهای زاده‌های مختلف حاصل از آمیزش به خود اختصاص داده‌اند. همچنین کاهش نسخه‌های ژنی مربوط به ژن *Lgals3* در تومورهای حاصل از دو گروه از زاده‌ها (NUT100 و NUT130) مشاهده گردید.

بحث

یافته‌های روش CGH بر روی تومورهای EAC نشان داد که RNO15 به کرات دچار انحرافات کروموزومی شده است به طوری که حذف در بازوی کوتاه و محل قرارگیری تغییرات copy number changes در بازوی بلند کروموزوم به وقوع پیوسته است (۷). در مطالعه قبلی یک مجموعه ۳۶ تائی از مارکرهای میکروساتلیت که طول کروموزوم ۱۵ رت (RNO15) را می‌پوشاند برای بررسی عدم تعادل آللیک (AI) Allelic imbalance مورد استفاده قرار گرفت (۷). در آن مطالعه چهار ناحیه کروموزومی که تحت تاثیر AI قرار گرفته بودند شناسائی گردید. دو ناحیه در بخش دیستال بازوی کوتاه، یک ناحیه در بخش میانی کروموزوم ۱۵ که احتمالاً شامل سانترومر نیز می‌گردید و ناحیه چهارم در قسمت دیستال بازوی بلند کروموزوم واقع شده بود.

در تحقیق حاضر ۱۲ ژن مستقر در ناحیه ۲ دارای عدم تعادل

نتیجه گیری

آنالیز با روش CGH نشان داد بود که کروموزوم ۱۵ محل تغییرات copy number در تومورهای EAC می باشد (۵) این تغییرات توسط روش FISH مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و نشان داده شد که چندین مکانیسم مختلف (مانند جابجایی یک جانبه و فزونی یابی ژنی و افزایش نسخه ژنی همچنین کاهش نسخه های ژنی) در کروموزوم فعال گردیده است.

نتایج این تحقیق نشان می دهد چند ژن مهم در بروز EAC در ناحیه ۲ دارای AI کروموزوم ۱۵ رت های مبتلا به EAC قرار گرفته است. تحقیقات دقیق تر نیاز می باشد تا نوع تغییرات و چگونگی آن ها را نشان دهد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از کمک های مالی معاونت محترم پژوهشی دانشگاه اراک و همچنین از آقای دکتر فرامرز اسدی و دکتر علی رضا شهرجردی از دانشگاه بمبئی هند برای در اختیار قرار دادن برخی از BAC های مورد استفاده در این تحقیق و همین طور کمک های آقای فراهانی و سرکار خانم محمدی در انجام امور آزمایشگاهی، تشکر و سپاسگزاری می گردد. شماره قرارداد این طرح ۹۰/۳۶۰۸ و تاریخ آن ۹۰/۴/۲۵ بوده است.

منابع

- Holland, J.F, Frei, E, et al. Holland-Frei cancer medicine 6th Ed. New york, BC Decker inc; 2003 Chapter 6&7.
- Schwab M. "Oncogene amplification in solid tumors." *Seminars in Cancer Biology*. 1999; 9(4): 319-325.
- Thompson & Thompson Genetics in Medicine, 7th Ed. By Robert L. Nussbaum, MD, Roderick R. McInnes, MD, PhD, FRS(C) and Huntington F. Willard, PhD; 2011.
- Hamta A, Talebbeigy F. Recurrent Regional Allelic Imbalance in Chromosome 15 in Rat Endometrial Adenocarcinomas. *Yakhteh Medical Journal*. 2010; 12(1): 59-72.
- Helou K, Walentinsson A, Levan G, Stahl F. "Between rat and mouse zoo-FISH reveals 49 chromosomal segments that have been conserved in evolution." *Mammalian Genome* 2001; 12(10): 765-771.
- Pinkel D, Landegent J, Collins C, Fuscoe J, R, et al. Fluorescence in situ hybridization with human chromosome-specific libraries: detection of trisomy

سرطان های ذکر شده و گزارش فزونی یابی آن ژن در تحقیق حاضر، این ژن می تواند به عنوان یک ژن کاندید برای تحقیقات بیشتر مورد بررسی قرار گیرد.

بر اساس برخی از تحقیقات محصول ژن *Fermt2* در گردآوری و انباشتن آکتین و شکل سلولی دخالت داشته و این ژن در سرطان مثانه (۱۳) و همچنین در آدنوکارسینومای شش ها (۱۴) دخالت دارد.

در کروموزوم های متافازی به دست آمده از کشت سلولی تومورهای مشاهده شده در زاده های RUT2 شکستگی در کروموزوم ۱۵ نشان داد که بخش اصلی حاصل از این شکستگی به کروموزوم مارکری متصل گردیده است (جابجایی) (شکل ۴). در حال حاضر اهمیت این کروموزوم مارکر در فرایند تشکیل سرطان نمی تواند حدس زده شود و نیاز به مطالعات بیشتر و دقیق تری دارد. با این وجود، یک احتمال آن است که افزایش نسخه های ژنی مشاهده شده در این تحقیق، احتمالاً در تشکیل و پیشرفت سرطان EAC نقش کلیدی دارد. احتمال دیگر آن است که شکستگی که در این کروموزوم های مارکر به وجود می آید موجب غیر فعال شدن یک ژن سرکوبگر توموری گردیده است که در این جایگاه سیتوژنتیکی قرار گرفته و در حال حاضر ناشناخته است.

فزونی یابی های ژنی و همچنین افزایش نسخه های ژنی مشاهده شده در این تحقیق در حالی گزارش می گردد که در مطالعه نواربندی کروموزوم ۱۵ در نمونه های مطالعه شده هیچ گونه تغییر قابل گزارشی مشاهده نشد، لذا این فزونی یابی های ژنی به صورت مخفی در کروموزوم گزارش می گردد.

وقوع یک فزونی یابی ژنی مخفی در کروموزوم ۱۵ بسیار مهم به نظر می رسد. فزونی یابی ژنی معمولاً همراه با برخی علائم سیتوژنتیکی خاص به وقوع می پیوندد؛ به عنوان مثال وجود homogeneously staining regions (hsr) یا نواحی رنگ آمیزی شده به طور یکنواخت در کروموزوم متافازی نواربندی شده به روش G-banding و یا مشاهده دابل ماینوت (dmin) از جمله علائم سیتوژنتیکی است که می تواند نشانه فزونی یابی ژنی باشد (۱۵). اما فزونی یابی ژنی مشاهده شده در کروموزوم ۱۵ (تحقیق حاضر) کاملاً متفاوت به نظر می رسد. چنانچه در بیشتر موارد این فزونی یابی منجر به هیچ گونه تغییر آشکاری در مورفولوژی کروموزوم ۱۵ نگردیده است.

- 21 and translocations of chromosome 4. Proc Natl Acad Sci U S A. 1988 December; 85(23): 9138-9142.
7. Hamta A, Adamovic T, Helou K, Levan G. "Cytogenetic aberrations patterns in spontaneous endometrial adenocarcinomas in a rat model as revealed by chromosome banding and comparative genome hybridization." *Cancer Genet Cytogenet* 2005; 159(2): 123-8.
8. Tsou AP, Yang CW, Huang CY, Yu RC, et al. Identification of a novel cell cycle regulated gene, HURP, overexpressed in human hepatocellular carcinoma. *Oncogene*. 2003; 16; 22(2): 298-307.
9. Loo LW, Cheng I, Tiirikainen M, Lum-Jones A, et al. cis-Expression QTL analysis of established colorectal cancer risk variants in colon tumors and adjacent normal tissue. *PLoS One*. 2012; 7(2):e30477. Epub. 2012; Feb 17.
10. Fuja TJ, Lin F, Osann KE, Bryant PJ. Somatic mutations and altered expression of the candidate tumor suppressors CSNK1 epsilon, DLG1, and EDD/hHYD in mammary ductal carcinoma. *Cancer Res*. 2004; Feb 1; 64(3): 942-51.
11. Sasi W, Jiang WG, Sharma A, Mokbel K. Higher expression levels of SOCS 1,3,4,7 are associated with earlier tumour stage and better clinical outcome in human breast cancer. *BMC Cancer*. 2010 Apr; 30: 10:178.
12. Sriram KB, Larsen JE, Savarimuthu Francis SM, Wright CM, et al. Array-comparative genomic hybridization reveals loss of SOCS6 is associated with poor prognosis in primary lung squamous cell carcinoma. *PLoS One*. 2012; 7(2): e30398. Epub. 2012; Feb 17.
13. Talaat S, Somji S, Toni C, Garrett SH, et al. Kindlin-2 expression in arsenite- and cadmium-transformed bladder cancer cell lines and in archival specimens of human bladder cancer. *Urology*. 2011 Jun; 77(6): 1507.e1-7.
14. An Z, Dobra K, Lock JG, Strömblad S, et al. Kindlin-2 is expressed in malignant mesothelioma and is required for tumor cell adhesion and migration. *Int J Cancer*. 2010 Nov 1; 127(9): 1999-2008.
15. Schwab M. "Oncogene amplification in solid tumors." *Seminars in Cancer Biology*. 1999; 9(4): 319-325.

Bioinformatics and Molecular Cytogenetic Study of a Small Region of Chromosome 15 Including Allelic Imbalances in Uterine Cancer Prone Inice

Hamta A. Ph.D. *

- Biology Department, Faculty of Sciences, Arak University, Arak 38156-8-8349, Iran

* Email corresponding author: a-hamta@araku.ac.ir

Received: 20 Jan. 2013

Accepted: 11 Jun. 2013

Abstract

Aim: Previous studies using LOH technique on BDII rats showed four distinct Allelic imbalance on chromosome 15. In this research we have studied region 2 including Allelic imbalance by bioinformatic approaches and FISH (Florescence in situ hybridization) technique.

Material and Methods: The confirmed tumors by an expert pathologist were used for cell culture. Metaphase chromosomes were prepared by conventional methods. The corresponding genes labeled probe for hybridization was poured onto slides. The labeled probe was then subjected to detected phase. Slides were studied under a fluorescence microscope using software CW4000 Laica.

Results: Using some of the database we could register 104 genes. But most of them did not have a clear function. According of FISH results, *Dlgap5*, *Fermt2* and *Socs4* had amplification and *Lgals3* had copy number reduction.

Conclusion: according to our results, the *Dlgap5* and *Socs4* are probably involve in EAC

Keywords: Endometrial adenocarcinomas, FISH, Paint, Rat