



## بررسی جهش ژن KRAS در نمونه های پارافینی با استفاده از روش Pyrosequencing

سحرناز سرلک<sup>۱</sup>، مینا گل محمدی<sup>۱</sup>، کاوه بقائی<sup>۱</sup>، محمد یعقوب طالقانی<sup>۱</sup>، احسان ناظم الحسینی مجرد<sup>۲</sup>، حمید اسدزاده عقدائی<sup>۱</sup>

۱- مرکز تحقیقات علوم پایه و اپیدمیولوژی بیماری های گوارش، پژوهشکده گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۲- مرکز تحقیقات بیماری های گوارش و کبد، پژوهشکده گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

**مقدمه:** در هر دونوع تومور خوش خیم و بدخیم، بافت ناهمگنی شامل سلول های توموری، سلول های های نوپلاستیک مزانشیمی و سلول های التهابی وجود دارد. انکوژن KRAS که در تنظیمات سلولی و همچنین در مسیرهای پیام رسانی RAS/MAPK نقش دارد، در ۳۵٪ تا ۴۵٪ از سرطانهای کولورکتال دچار جهش میشود. در این ژن، کدونهای ۱۲ و ۱۳ دو منطقه ای هستند که مسئول تقریباً ۹۵٪ از انواع جهش های نقطه ای تک نوکلئوتیدی هستند. جهش های نقطه ای در این کدون ها به عنوان مارکر پیش بینی کننده ی عدم پاسخ به آنتی بادی گیرنده فاکتور رشد اپیدرمی شناخته میشوند.

**مواد و روشها:** در این مطالعه، از Pyrosequencing بعنوان یک روش تعیین توالی DNA با حساسیت و اختصاصیت بسیار بالا به منظور تشخیص یک اقلیت آلل جهش یافته در گستره ژن KRAS در میان جمعیت فراوان از آلل های نوع وحشی، استفاده شده است. تکنولوژی Pyrosequencing یک روش غیر الکتروفورزی تعیین توالی DNA است که امکان بررسی سریع و همزمان رخدادهای تعیین توالی را به ما میدهد. به کمک این تکنولوژی جهش های غالب کدونهای ۱۲ و ۱۳ در KRAS بررسی شد. این آزمون با ۲۸۵ نمونه سرطان کولورکتال انجام شد.

**نتایج:** در ۳۵ نفر (۱۴٪) از کل بیماران، ژن KRAS جهش یافته بود به طوریکه کدون های ۱۲ و ۱۳ بیشترین نرخ جهش را داشتند (به ترتیب ۸۰٫۶٪ و ۱۹٫۳٪). در مورد کدون ۱۲، ۱۹ بیمار (۶۵٫۵٪) تبدیل اسید آمینه گلیسین به آسپارتیک اسید G12D(c.35G>A) و ۱۰ بیمار (۳۴٫۵٪) تبدیل اسید آمینه گلیسین به والین G12V(c.35G>T) را داشتند. همچنین تمامی ۶ بیمار جهش یافته در کدون ۱۳، تبدیل اسید آمینه گلیسین به آسپارتیک اسید G13D(c.35G>A) را داشتند.

**نتیجه:** شیوع گزارش شده در این مطالعه در مقایسه با گزارش های دیگر در ایران که اکثراً از روش تعیین توالی سنگر استفاده کرده بودند میزان پایین تری است. روش Pyrosequencing روشی ساده حساس و معتبر جهت بررسی جهش در نمونه های بافت پارافینی می باشد.

واژگان کلیدی: KRAS، Pyro-Sequencing، FFPE