بررسی شناسایی ژن پیش آگهی در مسیر mTOR برای درمان سرطان بر اساس آنالیز های بیوانفورماتیکی

۱-الهام علیپور ۲-مجتبی رنجبر۳- ضیاءالدین اولادی ۴- سمیه رهایی

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه زیست شناسی میکروبی، دانشکده زیست فناوری، دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل
۲- دانشیار گروه زیست شناسی میکروبی، دانشکده زیست فناوری، دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل
۳- استادیار دانشگاه علوم پزشکی مازندران، دانشکده پزشکی
۴- استادیار گروه زیست شناسی میکروبی، دانشکده زیست فناوری، دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل

Elham.alipour342@gmail.com (نویسنده‌ی اول)
Email: ranjbarf@ausmt.ac.ir(نویسنده دوم)

چکیده

مسیر سلولی PI3K /Akt /mTOR نقش مهمی را در تنظیم چرخه سلولی دارد. عمده ترین چالش بالینی سرطان تشخیص دیرهنگام و یا پیشرفت بیماری به سمت متاستاز است . لذا بیومارکرهای تشخیصی یا پیش آگهی کننده، از اهمیت بالینی برخوردار هستند. در این مطالعه ویژگی‌های فیزیکو شیمیایی و تکاملی ۴ ژن کلیدی مسیر سیگنالینگ mTOR شامل Akt , mTOR , P53 و PTEN مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج بیوانفورماتیکی توالی اسیدآمینه ها نشان داده است کمترین تغییرات در P53 است. بنابراین P53 یک ژن کلیدی است و می توانیم آن را به عنوان یک ژن پیش آگهی دقیق معرفی کنیم.

کلمات کلیدی: مسیر سلولی mTOR ، متاستاز، پیش آگهی، P53

۱. مقدمه و هدف

سرطان شامل مجموعه‌ای از بیماری های ژنتیکی است که با رشد و تکثیر غیر قابل کنترل سلول‌ها و انتشار آن‌ها در بدن همراه است و امروزه یکی از علل اصلی مرگ و میر در جهان است. با وجود پیشرفت در روش‌های تشخیص، بیش از نیمی از بیماران مبتلا به‌سرطان روده بزرگ تسلیم بیماری می‌شوند که دلیل آن تشخیص بیماری در مراحل پیشرفته است. به‌همین دلیل با توجه به کمبود روش های پیش آگهی و تشخیصی غیرتهاجمی و کم هزینه برای CRC (colorectal cancer)، شناسایی نشانگرهای زیستی جدید و بالقوه موثر در تحقیقات اخیر سرطان توجه بیش‌تری را به‌خود جلب کرده است[۱]. تومورهای سیستم عصبی مرکزی، به ویژه مغز، شامل طیف گسترده ای از سرطان های مختلف هستند که شایع ترین آنها سرطان بدخیم گلیوما (گلیوبلاستوما) و مدولابلاستوما است. مطالعات مختلف نشان داده اند که اختلال در مسیرهای پیام رسانی مولکولی یکی از موارد مهم در پیدایش و عود سرطان هاست. با توجه به عوارض شدید و ناتوان کننده ناشی از سرطان های سیستم عصبی و عدم جواب به درمان مؤثر در بیشتر موارد، نیاز به بررسی اندیکاسیون های درمانی دیگر احساس می شود. با شناخت بیشتر این مسیرها می توان درمان های هدفمندتر و مؤثرتری را جهت درمان این بیماری مهلک تعریف کرد. مسیرهای مختلف پیام رسانی داخل سلولی در تکثیر، تهاجم و متاستاز سرطان های CNS دخیل هستند. مسیر سیگنالینگ mTOR که با رشد، متابولیسم، بقا، رگ زایی، اتوفاژی و مقاومت شیمی درمانی در این سرطان ها ارتباط دارد، یکی از این مسیرهاست که نقش آن در سرطان های مختلف به اثبات رسیده است. افزایش فعالیت مسیر mTOR، سلول ها را به سمت تکثیر خارج از کنترل و در نهایت سرطانی شدن می برد. فعال شدن این مسیر از طریق گیرنده های تیروزین کینازی از جمله گیرنده فاکتور رشد شبه انسولینی (IGFR) ، گیرنده فاکتور رشد اپیدرمی (EGFR) و گیرنده فاکتور رشد اندوتلیال عروقی(VEGFR) و پروتئین های انکوژن از خانواده RAS آغاز می گردد که باعث فعال شدن PI_3 می شود. در این مسیر فسفو اینوزیتول ۳ کیناز (PI3K) با فسفریلاسیون AKT باعث القای فعالیت mTOR می شود؛ بدین ترتیب مسیر PI3K /Akt /mTOR به راه انداخته می شود. این مسیر سیگنالینگ به عنوان یک هدف درمانی در سرطان های مختلف از جمله تومورهای مغزی در نظر گرفته شده است و مهارگرهای آن به عنوان داروهای مؤثر در درمان این سرطان ها در حال توسعه هستند[۲]. مسیر PI3K/Akt /mTOR یک مسیر پیام رسانی داخل سلولی است که تنظیم کننده اصلی متابولیسم سلولی، رشد و بقای سلول محسوب می شود و سوخت وساز درون سلول، پیشبرد چرخه سلولی، آنژیوژنز و تهاجمی بودن را در پاسخ به محرک های مختلف داخل سلولی و خارج سلولی، مانند متابولیت ها، فاکتورهای رشد و هیپوکسی تنظیم می کند[۳]. همانطور که می دانیم در این مسیر تعداد زیادی ژن دخالت دارند اما ژن های AKT , mTOR , P53 و PTENجز ژن های کلیدی این مسیر می باشد. پروتئین PTEN (phosphatase and tensin homolog) یک آنزیم فسفاتازی بوده که باعث دفسفریله شدن PIP_3 و تبدیل آن به PIP_2 می شود و مانع ادامه فعالیت مسیر PIP3/AKT/mTOR و توقف چرخه ی سلولی آنها در فاز G1 ، افزایش آپوپتوز و کاهش تکثیر سلول های سرطانی می شود و بنابراین PTEN یک سرکوبگر تومور می باشد[۹]. پروتئین AKT یا PKB، یک کیناز متصل به خانواده AGC Kinase می باشد که بر روی چندین پروتئین تاثیر می گذارد. پروتئین AKT باعث فعال شدن فاکتور هسته ای کاپا-B (NF-KB) می شود که پروتئین مذکور منجر به بیان برخی ژن های رگ زایی از جمله COX-2 و INOS و ژن های پاسخ به anti-apoptosis از جمله $TRAF_2$، CIAPS و Bcl-XL و همچنین Cyclin D1 می شود. پروتئین AKT باعث از کار افتادن پروتئین $FOXO_2$ شده که در تنظیم چرخه سلولی و ایجاد

آپوپتوز نقش دارند. پروتئین AKT باعث از کار افتادن مهار کننده پروتئین هدف راپامایسین در پستانداران می شود. پروتئین کلیدی بعدی mTOR بوده که بر روی ۲ پروتئین تاثیر می گذارد که اولی بر روی پروتئین های درگیر در کنترل ترجمه ای پروتئین ریبوزومی S6کیناز و دومی بر روی پروتئین ۱ متصل به فاکتور آغاز یوکاریوتی ۴ به نام 4E-BP1 را فسفریله کرده که این پروتئین به عنوان بازدارنده ترجمه پروتئین محسوب می شود و در اثر فعالیت mTOR و از کار افتادن پروتئین مذکور، پروتئین دخیل در ترجمه از جمله P70S6K1 به حالت فعال در آمده و باعث ترجمه پروتئین می شود [۴]. یکی دیگر از پروتئین های مهم مسیر می توان به P53 اشاره کرد که یک بازدارنده تومور بوده و در مسیرهای سلولی تعمیر DNA ، چرخه سلولی، آپوپتوز و رگ زایی و پیری نقش دارد و از آن به عنوان یک مکانیسم دفاعی بر علیه تکثیر و سرطان نام برده می شود این پروتئین توسط پروتئین MDM_2 کنترل شده و از کار می افتد. پروتئین MDM_2 نیز توسط پروتئین AKT فعال می شود. با توجه به مطالب مطرح شده و شناسایی ژن های کلیدی این مسیر هدف از مطالعه مذکور آپلود ایزوفرم های پروتئین های کلیدی AKT، mTOR, P53 و PTEN از پایگاه NCBI و بررسی ویژگی‌های فیزیکو شیمیایی و تکاملی آنها می باشد.

۲. تئوری و پیشینه تحقیق

کاووسی و همکاران در سال ۲۰۱۹ با مطالعه و بررسی میزان بیان ژن PTEN و ارتباط آن با تغییرات تک نوکلئوتیدی rs10490920 در سرطان پستان نشان دادند که میزان بیان ژن PTEN در نمونه های افراد بیمار به طور معنی داری کاهش یافته است. در بررسی پلی مورفیسم نیز مشخص شد که فراوانی آلل های هموزیگوت طبیعی و جهش یافته در بیماران مبتلا به سرطان پستان نسبت به گروه کنترل، ۲ درصد بیشتر است[۵].

زمانی و همکاران در سال ۲۰۲۰ با مطالعه و بررسی اثر آگونیست و آنتاگونیست گیرنده ی آدنوزین نوع A1 بر بیان ژن P53 و مسیرها و میزان آپوپتوز در گلیوبلاستومای چند شکلی U87Mg نشان دادند تیمار سلول های U87Mg با DPCPX باعث افزایش بیان ژن P53 می شود. بیان کاسپاز ۷ به عنوان یک کاسپاز اجرایی و کاسپاز ۱ به عنوان کاسپاز مسیر میتوکندریایی آپوپتوز افزایش یافت، اما تغییر بیانی در ژن کاسپاز ۸ دیده نشد. نتایج MTT و فلوسایتومتری نشان داد که DPCPX علاوه بر سرکوب تکثیر سلولی باعث تحریک آپوپتوز در سلول های U87Mg میشود. سرکوب گیرنده های آدنوزین A1 با تحریک بیان ژن های دخیل در مسیر آپوپتوزی به خصوص ژن های مسیر میتوکندریایی باعث سرکوب تکثیر سلولی و القای آپوپتوز در سلول های U87Mg می شود[۶].

مطالعات صورت گرفته توسط صدیقی و همکاران در سال ۲۰۲۰ بر روی سندروم های پولیپوز هامارتوم حاکی از آن است که پس از بررسی ها و بازبینی های انجام شده توسط متخصصین آسیب‌شناسی تفاوت های اساسی در پولیپ های هامارتوم دیده می‌شود. چنین به نظر می‌رسد که پولیپوز هامارتوم دارای ژنتیک هتروژن (ناهمگونی) بوده و آلل‌های مختلف (با میزان نفوذ متفاوت) در ایجاد آن نقش داشته باشند. برای مثال اختلال در عملکرد PTEN منجر به افزایش فعالیت مسیر پیام رسانی AKT و mTOR می‌شود. بنابراین ممکن است مهار کننده‌های mTOR در اختلالات مربوط به PTEN به کار گرفته شوند. پروتئین کد شده توسط ژن درگیر در سندروم پتز–جگر PJS (STK11/LKB1) در بالا دست ژن PTEN قرار داشته و تنظیم کننده منفی مسیرmTOR می‌باشد. بنابراین منطقی به‌نظر می‌آید که مهار mTOR بتواند در بهبود شرایط کمک کننده باشد. نشان داده شده که تیازولیدیندیون‌ها و استاتین‌ها باعث تنظیم افزایشی PTEN شده و می‌توانند به‌عنوان یک واسطه درمانی و یا پیشگیرانه مورد

استفاده قرار گیرند. به‌طور مشابه مشاهده گردیده که BMP2 می‌تواند باعث پایداری پروتئین PTEN گردیده و ممکن است نقشی دوگانه در PHTS و پولیپوزهایی که مسیر BMP در آن‌ها دخیل است، داشته باشد[۷].

مجیری و همکاران در سال ۲۰۲۱ با بررسی بیان ژن های PTEN ، CDK4 و mTOR و میزان تزاید سلولی در رده ی سلولی سرطان پستان (T47D) تحت تأثیر تیمار با عصاره ی هسته ی انگور به این نتایج دست یافتند. میزان حیات سلولی در گروه تیمار به صورت معنی داری کمتر از گروه شاهد گزارش شد. بر اساس نتایج روش Real time-PCR ، بیان نسبی ژن PTEN به طور معنی داری بیشتر از گروه شاهد بود و همچنین، از میزان بیان ژن های mTOR و CDK4 کاسته شد. تیمار با عصاره هسته انگور (GSE)، می تواند به طور چشمگیری بیان ژن سرکوب کننده ی تومور PTEN را افزایش دهد و در نهایت، منجر به کاهش رشد سلول های سرطانی T47D و مهار تشکیل کلونی در این رده ی سلولی می شود[۸].

۳. مواد و روش‌ها

در این مطالعه ۴ ژن کلیدی مسیر سیگنالینگ mTOR از پایگاه اطلاعاتی NCBI دریافت و به فرمت FASTA ذخیره شد. آنالیزهای مقایسه‌ای و بیوانفورماتیکی توسط نرم‌افزارهای برخط در وب سایت expasy توسط نرم‌افزار protparam محاسبه شد و طی آن خصوصیات بیوشیمیایی پروتئین‌ها نظیر تعداد آمینواسیدها، وزن مولکولی، نقطه‌ی ایزوالکتریک، شاخص ناپایداری و شاخص آلیفاتیک بررسی شد. برای تعیین ساختار دوم پروتئین ها به منظور بررسی درصد آلفا هلیکس، مارپیچ بتا، سوپرکویل از وب سایت sopma استفاده شد.

۴. نتایج وبحث

۴,۱ آنالیز ساختار فیزیکوشیمیایی ژن های Akt , mTOR , P53 و PTEN

تعیین خصوصیات فیزیکوشیمیایی پروتئین ها می‌تواند برای شناخت بهتر پروتئین ها و شناسایی آنها بسیار سودمند باشد. بررسی ساختار بیوشیمیایی پروتئین های AKT نشان می‌دهد که تعداد اسیدآمینه ها در این پروتئین از ۲۹۳ اسید امینه تا ۱۸۷۳ اسید آمینه گزارش شده است. وزن مولکولی شماره های دسترسی مورد مطالعه از ۲۱ تا ۳۳ کیلو دالتون بوده است. نقطه‌ی ایزوالکتریک نقطه ای از pH است که در آن بار الکتریکی برابر صفر است. این مطلب در خالص سازی پروتئین اهمیت دارد به طوری که انحلال پروتئین ها در این pH کمترین حد است. نقطه‌ی ایزوالکتریک در نمونه های ژن AKT با شماره های دسترسی AAH95401.1 و AAH01134.1 قلیایی می باشند و با شماره ی دسترسی ABC33805.1 اسیدی است (جدول ۱).

بررسی ساختار پروتئین mTOR نشان می‌دهد که تعداد اسیدآمینه ها در این پروتئین از ۳۲۹ اسید آمینه تا ۱۷۰۸ اسید آمینه بوده است. وزن مولکولی شماره های دسترسی مورد مطالعه از ۱۹ تا ۹۸ کیلو دالتون بود. کمترین مقدار نقطه‌ی ایزوالکتریک در

این پروتئین ۶/۵۲ و بیشترین مقدار ۷/۵۶ است. نقطه‌ی ایزوالکتریک در شماره دسترسی BAH12314.1 اسیدی و در شماره های دسترسی AAS79796.1 و BAG58742.1 خنثی می باشند(جدول ۱).

بررسی ساختار بیوشیمیایی در پروتئین P53 نشان می‌دهد که تعداد اسیدآمینه ها در این پروتئین در تمام شماره دسترسی ها ۳۹۳ اسید آمینه بوده و وزن مولکولی تمام شماره های دسترسی ۴۳ کیلو دالتون بوده است. نقطه‌ی ایزوالکتریک این پروتئین از ۶/۳۳ تا ۶/۸۷ می باشد. نتایج نشان داد نقطه‌ی ایزوالکتریک در تمام شماره های دسترسی پروتئین P53 بصورت اسیدی می باشد (جدول ۱).

بررسی ساختار بیوشیمیایی شماره های دسترسی پروتئین PTEN نشان می‌دهد که تعداد اسیدآمینه در شماره های دسترسی مورد مطالعه در این پروتئین از ۱۲۹ تا ۴۰۳ اسید آمینه می باشد. وزن مولکولی شماره های دسترسی AAD38372.1 و MG595967.1 ۴۷ کیلو دالتون و شماره دسترسی AYE20597.1 ۱۵ کیلو دالتون می باشد. کمترین نقطه‌ی ایزوالکتریک در شماره های دسترسی این پروتئین ۵/۸۳ و بیشترین مقدار ۶/۰۴ می باشد. نتایج آنالیز نقطه ایزوالکتریک در هر سه شماره دسترسی پروتئین PTEN نشان داد که دارای نقطه ایزوالکتریک اسیدی می باشد (جدول ۱).

اخیرا در مهندسی ژنتیک، برای تولید پروتئینی با کاربرد بیولوژیکی مطلوب به بررسی خصوصیات آنها اعم از پایداری، شاخص آلیفاتیک و شاخص GRAVY پرداخته می‌شود. شاخص ناپایداری پروتئین ها بیانگر میزان پایداری آنها در لوله‌ی آزمایش است به طوری که اگر این عدد پایین تر از ۴۰ باشد به عنوان یک پروتئین پایدار در نظر گرفته می‌شود. آنالیز اعداد پایداری شماره های دسترسی ۴ پروتئین Akt , mTOR, P53, PTEN نشان داد که پایدارترین پروتئین PTEN با شماره های دسترسی AAD38372.1 وMG595967.1 با مقدار ۴۴/۲۱ می باشد. به علاوه ناپایدارترین پروتئین با بیشترین شاخص ناپایداری هم مربوط به پروتئین P53 با شماره دسترسی AAA59988.1 است که این عدد ۷۳/۵۹ می باشد. نتایج بیوانفورماتیکی توالی اسیدآمینه ها در۴ ژن کلیدی مورد بررسی نشان داده است کمترین تغییرات در P53 است. بنابراین P53 یک ژن کلیدی است و می توانیم آن را به عنوان یک ژن پیش آگهی دقیق معرفی کنیم و بیشترین تغییرات در AKT و mTOR وجود دارد (جدول ۱).

شاخص آلیفاتیک یک پروتئین به عنوان میزان نسبی زنجیره های آلیفاتیک (آلانین، والین، ایزولوسین و لوسین) یک پروتئین تعریف می‌شود و ممکن است به عنوان یک فاکتور مثبت در جهت افزایش مقاومت به گرما در پروتئین های کروی در نظر گرفته شود که در اینجا بیشترین شاخص آلیفاتیک مربوط به شماره دسترسی BAG58742.1 پروتئین mTOR برابر با ۱۱۶/۵۰ می‌باشد (جدول ۱).

شاخص GRAVY بیانگر حلالیت پروتئین است که هر چه این شاخص منفی تر باشد پروتئین آب‌گریزتر است. طبق جدول آب گریزترین پروتئین، P53 با شماره دسترسیAAD28535.1 است و مقدار آن ۰/۷۶۵- می باشد و آب دوست ترین پروتئین، mTOR با شماره دسترسی BAG58742.1 و مقدار ۰/۳۶۱ می باشد (جدول ۱).

جدول ۱. شاخص‌های مورد بررسی ۴ پروتئین مورد مطالعه

Protein name	Amino acid residues	Molecular weight	pI	(Asp + Glu)	(Arg + Lys	Instability index	Aliphatic index	GRAVY
AAH95401.1 AKT	293	33242.10	9.66	29	38	54.01	73.48	-0.454
AAH01134.1 AKT	292	33128.00	9.34	29	38	53.87	73.73	-0.443
ABC33805.1 AKT	1873	210742.94	5.74	225	188	53.49	91.07	-0.207
AAS79796.1 mTOR	1708	192217.55	7.22	198	196	48.67	95.11	-0.293
BAH12314.1 mTOR	883	98857.37	6.52	85	81	53.61	98.72	0.005
BAG58742.1 mTOR	329	37115.97	7.56	27	28	50.43	116.50	0.361
AAA59988.1 P53	393	43653.18	6.33	50	46	73.59	59.08	-0.756
AAD28535.1 P53	393	43711.31	6.87	49	48	70.76	59.08	-0.765
AAD28628.1 P53	393	43712.25	6.47	50	47	72.42	59.08	-0.764
AAD38372.1 PTEN	403	47166.29	5.94	62	54	44.21	66.97	-0.690
MG595967.1 PTEN	403	47219.34	6.04	62	55	44.21	66.97	-0.707
AYE20597.1 PTEN	129	15193.15	5.83	21	17	59.01	77.91	-0.663

۴,۲ آنالیز هم ردیفی ژن های Akt , mTOR , P53 و PTEN

توالی های پروتئین ها با طول تقریبا یکسان برای آنالیز هم ردیفی مورد استفاده قرار گرفته اند. از بررسی هم ردیفی دو توالی با شماره های دسترسی BAG58742.1 و BAH12314.1 پروتئین mTOR شاهد حذف بخش هایی از توالی با شماره دسترسی BAG58742.1 نسبت به توالی با شماره دسترسی BAH12314.1 در طی تکامل می باشیم. علاوه بر حذف توالی در BAG58742.1 شاهد تغییر در ۳ اسید آمینه در این توالی نسبت به توالی BAG58742.1 می باشیم. هم ردیفی ۲ توالی AKT با شماره های دسترسی AAH95401.1 و AAH01134.1 نشان دهنده یک حذف و یک جایگزینی در اسید آمینه توالی با شماره دسترسی AAH01134.1 نسبت به توالی با شماره دسترسی AAH01134.1 بود. نتایج هم ردیفی ۳ توالی P53 با شماره های دسترسی AAA59988.1 و AAD28535.1 و AAD28628.1 گویای آن بود که هیچ تغییری در توالی P53 با شماره دسترسی AAD28628.1 روی نداده و کاملا حفاظت شده است. در حالیکه شاهد تنها یک تغییر از نوع جایگزینی در جایگاه های مختلف در ۲ توالی با شماره دسترسی های AAA59988.1 و AAD28535.1 بودیم. نتایج هم ردیفی ۳ توالی PTEN با شماره های دسترسی AYE20597.1 و AAD38372.1 و MG595967.1 نشان داد دو توالی PTEN با شماره های دسترسی AAD38372.1 و MG595967.1 در تمام اسیدآمینه ها به هم شبیه اند و تنها تفاوت در دو اسیدآمینه آرژنین و سیستئین هست. آرژنین دارای زنجیره جانبی بار مثبت و سیستئین دارای زنجیره جانبی گوگرد دار محتمل در ایجاد پیوند دی سولفیدی می باشد.

۴,۳ آنالیز ساختار دوم ژن های Akt , mTOR , P53 و PTEN

بررسی ساختار دوم پروتئین‌های AKT, mTOR, P53 و PTEN نمونه های مورد بررسی نشان داد ساختار دوم این پروتئین‌ها از رندوم کویل و مارپیچ آلفا بیشتری تشکیل شده است. بررسی ساختار دوم پروتئین‌های نمونه های مورد بررسی نشان داد ساختار دوم پروتئین P53 با شماره دسترسی AAD28628.1 از رندوم کویل بیشتری و ساختار دوم پروتئین mTOR با شماره دسترسی BAH12314.1 از مارپیچ آلفا بیشتری تشکیل شده است و ساختار دوم پروتئین PTEN با شماره دسترسی AYE20597.1 از صفحات بتا بیشتری تشکیل شده است (جدول۲).

جدول ۲. نتایج آنالیز ساختار دوم ۴ پروتئین مورد مطالعه

Protein name	Alpha helix (%)	Extanded strand (%)	Beta turn (%)	Random coil (%)
AAH01134.1AKT	30.38%	14.73%	2.74%	52.22%
AAH95401.1AKT	29.11%	6.85%	4.11%	53.42%
ABC33805.1 AKT	41.64%	6.35%	2.56%	49.44%
AAS79796.1 mTOR	45.14%	9.72%	3.10%	42.04%
BAG58742.1 mTOR	48.58%	6.80%	4.30%	40.32%

BAH12314.1 mTOR	52.28%	6.69%	3.34%	37.69%
AAA59988.1 p53	19.85%	18.07%	3.56%	58.52%
AAD28535.1 p53	19.59%	17.30%	3.05%	60.05%
AAD28628.1 p53	19.59%	16.54%	3.05%	60.81%
AYE20597.1 PTEN	22.83%	23.33%	4.22%	49.63%
MG595967.1 PTEN	23.08%	22.08%	5.46%	49.38%
AYE20597.1PTEN	39.53%	19.38%	7.75%	33.33%

۴,۴ بررسی حضور یا عدم حضور پیوند دی سولفیدی

نتایج شناسایی پیوند دی سولفیدی در پروتئین های مذکور نمونه های مورد بررسی در وب سایت softberry نشان داد در این پروتئین‌ها، اسیدآمینه‌ی سیستئین وجود دارد اما ، اسید آمینه ها با هم پیوند دی‌سولفیدی تشکیل نمی دهند.

۵. پیشنهادات

P53 یک عامل رونویسی سرکوب کننده ی توموری است که در ۵۰ درصد از تومورهای انسانی جهش یافته است. افزایش بیان و غلظت آن باعث توقف تکثیر سلولی و تحریک آپوپتوز می شود. طبق مطالعات ما ژن P53 به عنوان یکی از ژن های کلیدی برای پیش آگهی سرطان در نظر گرفته می شود و احتمالا جهش در این ژن می تواند یکی از دلایل عدم کنترل سرطان باشد. ما در این مطالعه ژن های Akt , mTOR , P53 و PTEN را مورد بررسی قرار دادیم. ژن های مذکور تغییراتی داشتند و با توجه به تغییرات صورت گرفته، چون ژن P53 بیشتر حفاظت شده است می تواند به عنوان یک ژن کلیدی در پیش آگهی مسیر سیگنالینگ mTOR به کار رود. به طوری که جهش در این ژن می تواند باعث نقص در کنترل سرطان شود. از آنجاییکه پروتئین P53 چرخه ی سلولی را کنترل می کند، جهش در این ژن باعث می شود کنترل چرخه سلولی از مدار اصلی خود خارج شود و تکثیر بی رویه داشته باشد درنتیجه باعث سرطان می شود. در افرادی که میزان بیان ژن P53 در آنها کنترل می شود، تغییر میزان بیان ژن آن نشان دهنده ی این است که احتمالا فرد دچار سرطان می شود. مخصوصا در خانواده هایی که مستعد سرطان هستند ژن P53 به عنوان یک ژن پیش آگهی و نشان گر برای بروز سرطان می باشد. در واقع ما با توالی یابی ژن P53 می توانیم تغییر میزان بیان آن را دریابیم که نشان دهنده ی این است که پروتئین آن تولید خوبی نداشته است.

۶. منابع

۱. *Gholaminejad, S., Deilami Khiabani, Z., Salehzadeh, A., & Jalali, A. (2021). Investigation of Long Non-coding RNA CRNDE Expression in Iranian Patients with Colorectal cancer. Journal of Cell & Tissue, 11(4), 293-301.*
۲. *Amaro-Gahete, F. J., De-la-O, A., Jurado-Fasoli, L., Dote-Montero, M., Gutierrez, A., Ruiz, J. R., & Castillo, M. J. (2019). Changes in physical fitness after 12 weeks of structured concurrent exercise training, high intensity interval*

training, or whole-body electromyostimulation training in sedentary middle-aged adults: a randomized controlled trial. Frontiers in physiology, 10, 451.

۳. *Alemi, F., Raei Sadigh, A., Malakoti, F., Elhaei, Y., Ghaffari, S. H., Maleki, M., ... & Majidinia, M. (2022). Molecular mechanisms involved in DNA repair in human cancers: An overview of PI3k/Akt signaling and PIKKs crosstalk. Journal of Cellular Physiology, 237(1), 313-328.*

۴. *Vahabi, M., Safarian, S., Zargar, S. J., & Aliasghari, L. (2014). Quantitative Study of the Genes Involved in Survival and Autophagy Pathways in T-47D Cell Line with Emphasis on Upgrading Cold Resistance of the Cells in the Presence of DMSO. Cellular and Molecular Researches (Iranian Journal of Biology), 27(3), 438-452.*

۵. کاووسی مهسا, فرهمندپوریا فرهاد, & مسلمی الهام. بررسی میزان بیان ژن *PTEN* و ارتباط آن با تغییرات تک نوکلئوتیدی *rs10490920* در سرطان پستان.

۶. زمانی رارانی, شریفیان دستجردی, زین العابدین, والیانی, زمانی رارانی, محمد, ... & مهاجر انصاری. (۲۰۲۱). بررسی اثر آگونیست و آنتاگونیست گیرنده‌ی آدنوزین نوع *A1* بر بیان ژن و *P53* مسیرها و میزان آپوپتوز در گلیوبلاستومای چند شکلی *U87Mg*. *مجله دانشکده پزشکی اصفهان*, ۳۸(۶۰۱), ۸۷۵-۸۸۱.

۷. *Sedighi, S., Jokar, M. H., & Moradzadeh, M. (2020). Hamartomatous Polyposis Syndromes: Management and Surveillance Strategies. SSU_Journals, 28(6), 2720-2733.*

۸. مجیری, ساجدی, نیکبخت, & سلیمانی. (۲۰۲۱). بیان ژن‌های *PTEN*، *CDK4* و *mTOR* و میزان تزاید سلولی در رده‌ی سلولی سرطان پستان *(T47D)* تحت تأثیر تیمار با عصاره‌ی هسته‌ی انگور. *مجله دانشکده پزشکی اصفهان*, ۳۹(۶۴۶), ۷۹۲-۷۹۷.