

مقاله پژوهشی

بررسی ارتباط سرطان سینه و پلی مورفیسم rs 3803662 از ژن TOX3 در جمعیت زنان ایرانی با روش Tetra Arms PCR

الهام سیاسی*، بهاره قانع، فاطمه اشرفی

گروه ژنتیک، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، تهران، ایران

* Email: emi_biotech2006@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۳/۲۰

تاریخ دریافت: ۹۷/۰۹/۰۱

چکیده

ژن *TOX3* نقش مهمی در خطر بروز سرطان سینه در زنان دارد. پلی مورفیسم‌هایی در این ژن شناسایی شده‌اند که می‌توانند با ایجاد سرطان سینه مرتبط باشند. هدف این مطالعه بررسی ارتباط سرطان سینه و پلی مورفیسم rs3803662 از ژن *TOX3* در جمعیت زنان ایرانی با روش Tetra Arms PCR بود. نمونه‌گیری از خون ۵۰ نفر فرد سالم و ۵۰ نفر بیمار مبتلا به سرطان سینه انجام شد. پس از استخراج ژنوم از نمونه‌ها فراوانی این پلی مورفیسم در ژن *TOX3* با روش Tetra Arms PCR بررسی شد. فراوانی ژنوتیپ‌های TT، TC و CC به ترتیب در افراد سالم 10%، 88% و 2% و در بیماران 6%، 50% و 44% بدست آمد. بین فراوانی حضور ژنوتیپ هموزیگوت مغلوب CC از پلی مورفیسم rs3803662 در ژن *TOX3* بین افراد سالم و مبتلا به سرطان سینه اختلاف معنادار مشاهده شد ($P < 0.05$). تحقیق حاضر برای اولین بار به بررسی ارتباط خطر ابتلا به سرطان پستان و حضور پلی مورفیسم rs3803662 از ژن *TOX3* در جامعه زنان ایرانی انجام گرفت. نتایج این پژوهش نشان داد که حضور پلی مورفیسم rs3803662 از ژن *TOX3* می‌تواند به عنوان مارکر ژنتیکی، با سرطان سینه در زنان ایرانی مرتبط باشد.

کلیدواژه‌ها: پلی مورفیسم rs3803662، ژن *TOX3*، سرطان سینه، Tetra Arms PCR.

مقدمه

سرطان پستان شایع‌ترین سرطان زنان در کشورهای پیشرفته و دومین سرطان شایع در ایران می‌باشد. میزان بروز سرطان پستان در نقاط مختلف دنیا متفاوت است و به علت دارا بودن رتبه دوم در

علل مرگ ناشی از سرطان، به‌عنوان یکی از مشکلات سلامتی در سراسر دنیا از جمله ایران شناخته شده است. [۱۴]. عوامل ژنتیکی و اپی ژنتیکی یا عوامل محیطی که موجب اختلال در فعالیت سلول‌ها می‌شوند و در هسته سلول اشکال وارد کنند سبب

این ژن از زیرخانواده عوامل رونویسی است و در تغییر دادن ساختمان کروماتین نقش دارد [۹]. جایگاه کروموزومی که در معرض جهش این ژن قرار دارد و اخیراً در معرض خطر ابتلا به سرطان پستان قرار گرفته است 16q12.1 می باشد و متشکل از ده اگزون است که در آن امکان بروز سه جهش Missense و یک جهش Deletion وجود دارد [۲]. مطالعات نشان داده است موتاسیون و پلی مورفیسم روی عملکرد *TOX3* در سرکوب تومور اثر می گذارد، بطوری که جهش و پلی مورفیسم در ژن *TOX3* با افزایش خطر ابتلا به سرطان پستان همراه است [۲۲ و ۲۳]. حضور پلی مورفیسم‌هایی در این ژن از جمله rs3803662، rs12443621 و rs8051542 با افزایش خطر ابتلا به سرطان پستان در ارتباط می باشد [۱۱ و ۱۳]. روش‌های متعددی برای بررسی SNP ها وجود دارد. یکی از کارآمدترین آن‌ها که در این مطالعه از آن استفاده شده است، روش Tetra ARMS-PCR می باشد. برتری این تکنیک نسبت به تکنیک‌هایی مانند SSCP، ARMS-PCR و PCR-RFLP عدم نیاز به آنزیم‌های محدود کننده و رادیوایزوتوپ‌ها می باشد. همچنین روش رایج و کم هزینه در تشخیص پلی مورفیسم‌ها می باشد.

هدف از این پژوهش بررسی ارتباط پلی مورفیسم rs3803662 در ژن *TOX3* با بیماری سرطان سینه در جمعیت زنان ایرانی با روش Tetra Arms PCR بود.

مواد و روش

۱- نوع مطالعه و جامعه آماری - در این مطالعه که بصورت موردی - شاهدی بود نمونه‌گیری از دو گروه بیمار و کنترل در بازه زمانی زمستان ۱۳۹۵ تا تابستان ۱۳۹۶ از بیمارستان شهید فیاض بخش کرج

این بیماری می شود [۱ و ۱۷]. سرطان پستان یک اختلال ژنتیکی از نوع هتروژن و ناهمگن است که در آن کنترل نرمال رشد سلول از بین رفته است. بنابراین نه تنها شناسایی راه درمان بلکه ارزیابی فاکتورهای ریسکی را نیز مشکل می سازد [۱۰]. ژنتیک سرطان هم اکنون یکی از تخصص‌های در حال گسترش است. در سطح مولکولی، سرطان به دلیل وقوع جهش یا جهش‌هایی در DNA اتفاق می افتد که باعث تکثیر بیش از حد سلول می شوند و بیشتر این جهش‌ها در سلول‌های سوماتیک رخ می دهند. جهش‌ها در دو گروه از ژن‌های سلولی مشاهده می شوند: آنکوژن‌ها و ژن‌های سرکوب‌گر توموری [۲۴]. برخی جهش‌های ژنتیکی، شانس ابتلا به سرطان سینه را افزایش می دهند. برخی از این جهش‌ها هنوز در مراحل تحقیقاتی قرار دارند و هنوز به اثبات نرسیده‌اند. برخی هم در سطح قابل قبولی شناخته شده و قابل مهار هستند. از جمله ژن‌هایی که جهش در آن‌ها خطر بروز سرطان پستان را افزایش می دهد عبارتند از: *BRCA1*، *BRCA2*، *P53*، *HER2*، *CHEK2*، *ATM*، *EGFR*، *PTN*، *CDH1*، *PALB2*، *CTPA* و *RECQL* [۵]. یکی از ژن‌های مهم دیگری که به عنوان بیومارکر سرطان سینه شناخته می شود ژن *TOX* است. که شامل چند زیرخانواده *TOX1*، *TOX2*، *TOX3*، *TOX4* می باشد. این ژن یک پروآنکوژن بوده که به دلیل مضاعف شدگی و تکرار زیاد در کروماتین در سرطان پستان بیش از حد بیان می شود. این ژن بیشتر در حالت متاستاتیک و تهاجمی سرطان سینه به عنوان ریسک فاکتور شناسایی به کار می رود [۱۵]. البته قابل ذکر می باشد که ژن *TOX3 High Mobility Group (Box Family Member 3)* نقش مهمی در تنظیم سلول‌های لنفوسیت T دارد. پروتئین کد شده توسط

DNA به منظور ارزیابی کمیت و کیفیت DNA و آگاهی از غلظت و درجه خلوص آن، از دستگاه نانو دراپ استفاده شد. ۱ میکرولیتر از DNA استخراج شده در دستگاه قرار داده شد و جذب نوری آن در طول موج‌های مختلف خوانده شد. نمونه‌هایی که نسبت جذب نوری ۲۶۰ به ۲۸۰ نانومتر بین ۱,۸ تا ۲,۱ و نسبت ۲۶۰ به ۲۳۰ نانومتر ۱,۷ تا ۱,۹ را داشتند، برای ادامه کار مناسب تشخیص داده شدند.

۵- واکنش Tetra Arms PCR - برای انجام

واکنش Tetra Arms PCR از پرایمرهای اختصاصی شامل ۱ جفت پرایمر خارجی و ۲ پرایمر داخلی برای هر یک از الل‌های غالب و مغلوب پلی‌مورفیسم rs3803662 ژن *TOX3*، که در جدول ۱ آورده شده است، استفاده شد (که با سفارش به شرکت تکاپوزیست تهیه شده بود). مواد مورد نیاز برای واکنش PCR (که تهیه شده از شرکت ویرا ژن (آمپلیکون المان) بود) و برنامه دستگاه PCR به ترتیب در جدول‌های ۲ و ۳ آورده شده است (لازم به ذکر است که برای تشکیل باند مناسب برای محصول PCR شرایط دمایی اتصال (annealing) در محدوده ۵۵ تا ۶۸ درجه سانتی‌گراد و با روش Touch down PCR و شیب دمایی انجام شد که تعداد سیکل و درجه حرارت هر مرحله در جدول ۳ مشخص شده است). واکنش Tetra PCR Arms روش تکثیری قدرتمند برای مشخص کردن جهش‌های نقطه‌ای است. در این روش از پرایمرهای جهش‌یافته و طبیعی در دو میکروتیوب جداگانه استفاده می‌شود. اگر عمل پلیمریزاسیون در لوله حاوی پرایمر طبیعی انجام شود، نشان دهنده عدم جهش نقطه‌ای در باز مورد نظر است و اگر عمل پلیمریزاسیون در لوله حاوی پرایمر

انجام شد. نمونه‌ها از تعداد ۵۰ خانم مبتلا به سرطان سینه که بوسیله معاینه پزشک متخصص زنان و زایمان و انجام ماموگرافی بیمار تشخیص داده شدند بوده و گروه کنترل ۵۰ نفر با جنسیت و سن مشابه افراد بیمار بدون هیچ گونه علایمی از بیماری، بودند.

۲- روش نمونه‌گیری - میزان ۵ سی سی از خون

افراد گروه بیمار و افراد کنترل سالم در لوله‌های Venoject آماده با حجم 5CC (کمپانی graner/UK)، که حاوی مقدار مشخص ۱ سی سی از ضد انعقاد سیترات سدیم برای جلوگیری از لخته شدن خون و در پوش دار بودند، جمع آوری گردید. نمونه‌گیری از افراد به صورت خون وریدی - سیاهرگی انجام شده است و پس از انجام نمونه‌گیری و تا زمان رسیدن به آزمایشگاه نمونه‌های گرفته شده در جعبه حاوی یخ‌های پک شده نگهداری شدند.

۳- استخراج DNA از نمونه‌های خون - پس از

انتقال خون حاوی سیترات سدیم به آزمایشگاه، ژنوم هر یک از نمونه‌ها با استفاده از روش استخراج DNA با استفاده از کیت Cinnapure (که از شرکت سیناژن تهیه شده بود) جداسازی شد. قابل ذکر است که پس از استخراج DNA نمونه‌های مذکور در دمای ۴۰- تا ۷۰- نگهداری شدند.

۴- کیفیت و کمیت سنجی DNA استخراج شده

۴-۱- الکتروفورز بر روی آگارز - برای اطمینان از کیفیت سنجی DNA خالص شده، ۳ میکرولیتر از DNA بر روی ژل آگارز الکتروفورز شد.

۴-۲- تعیین غلظت DNA استخراج شده با

استفاده از دستگاه نانودراپ - پس از استخراج

جهش یافته انجام شود، نشان دهنده حضور جهش نقطه ای در باز مورد نظر است.

جدول ۱- پرایمر های مورد استفاده برای تعیین پلی مورفیسم rs3803662 در ژن TOX3

نام پرایمرها برای تکثیر پلی مورفیسم مورد نظر	توالی ۵-۳	طول قطعه تکثیر یافته محصول PCR (bp)
TOX3 در ژن rs3803662		
Forward inner primer (C)	5-AGGT GACACT ATAGAATACTCTCCTTAATGCCTCTATAGCTGT aC-3	259
Reverse inner primer (T)	5-GT ACGACT CACT ATAGGGACCACAGT TTT AT TCTT CGCT AAaC-3	357
Forward outer primer	5-AGGT GACACT ATAGAAT AGT CCT TGGCT GT TCTGT GAa-3	622
Reverse outer primer	5-GT ACGACT CACT ATAGGGAT CCCC AAGGAGACAAAGGT Aa-3	585

جدول ۲- مواد مورد نیاز جهت انجام PCR (حجم ۲۰ میکرولیتر)

محتویات واکنش	حجم (میکرولیتر)	غلظت
Master Mix PCR 2x	۱۰	۱/۵ میلی مول / MgCl ₂
Forward Primer	۱	۱۰ پیکو مول
Reverse Primer	۱	۱۰ پیکو مول
Sterile water	۵	-
DNA	۳	۱۰۰ نانوگرم

جدول ۳- برنامه دمایی PCR ویژه ژن TOX3

مراحل Annealing	زمان	دما (درجه سانتی گراد)	تعداد سیکل
-	۵ دقیقه	۹۵	۱ سیکل
Denaturation	۳۰ ثانیه	۹۵	۳ سیکل
Annealing	۳۰ ثانیه	۶۸	
Extention	۴۵ ثانیه	۷۲	
Denaturation	۳۰ ثانیه	۹۵	۱۰ سیکل
Annealing	۳۰ ثانیه	۶۶	
Extention	۴۵ ثانیه	۷۲	
Denaturation	۳۰ ثانیه	۹۵	۱۵ سیکل
Annealing	۳۰ ثانیه	۶۲	
Extention	۴۵ ثانیه	۷۲	
Denaturation	۳۰ ثانیه	۹۵	۲۰ سیکل
Annealing	۳۰ ثانیه	۵۸	
Extention	۴۵ ثانیه	۷۲	
Denaturation	۳۰ ثانیه	۹۵	۱۰ سیکل
Annealing	۳۰ ثانیه	۵۵	
Extention	۴۵ ثانیه	۷۲	
-	۱۰ دقیقه	۷۲	۱ سیکل

بایونیر) برای تعیین توالی فرستاده شدند. تعیین توالی انجام شد و در نهایت بلاست انجام گرفت.

۹ - آنالیزهای آماری - جهت مطالعه و بررسی ارتباط حضور پلی مورفیسم rs3803662 در ژن *TOX3* و بروز سرطان سینه در بین نمونه‌های بیماران و گروه کنترل، از برنامه آماری SPSS با شماره ورژن ۲۳ با آزمون X^2 در سطح ۰,۰۵ برای بررسی تفاوت‌های فراوانی ژنوتیپی و آللی استفاده شد.

نتایج

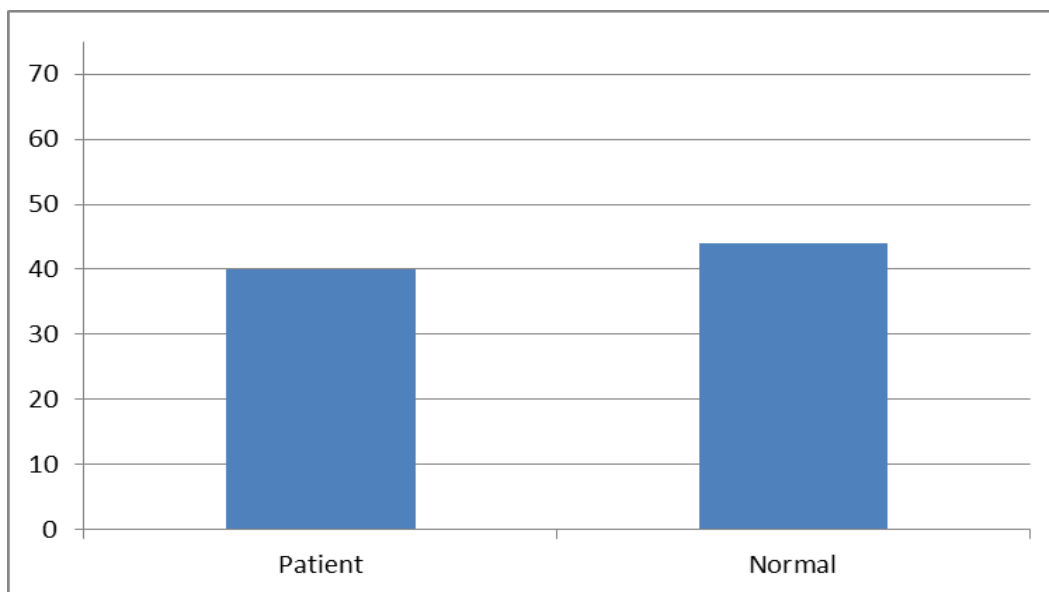
۱- نمونه‌گیری و اطلاعات بیماران - برای انجام این پژوهش ۵۰ نمونه خون افراد بیمار و ۵۰ نمونه خون افراد سالم جمع‌آوری شد و استخراج DNA بر روی آن‌ها انجام شد. از نظر میانگین سنی، گروه بیمار و گروه نرمال بین ۳۰ تا ۶۰ سال بودند. میانگین سنی برای گروه بیمار ۴۴/۱۶ و برای گروه نرمال ۴۰/۲۳ محاسبه شد که در دو گروه تقریباً یکسان بود (نمودار ۱). میانگین درجه پیشرفت تومور پستان در افراد بیمار محاسبه شد. افراد بیمار از همه نوع رنج پیشرفت تومور بوده است بیشترین افراد با گرید ۲ و کمترین افراد با گرید ۴ بودند.

۲- نتایج محصول PCR Tetra Arms - پس از انجام کامل PCR و الکتروفورز، رنگ آمیزی با رنگ اتیدیوم برامید انجام شد. محصول بدست آمده با دستگاه UV duc خوانده شد. نتایج در شکل ۱ و ۲ آورده شده است.

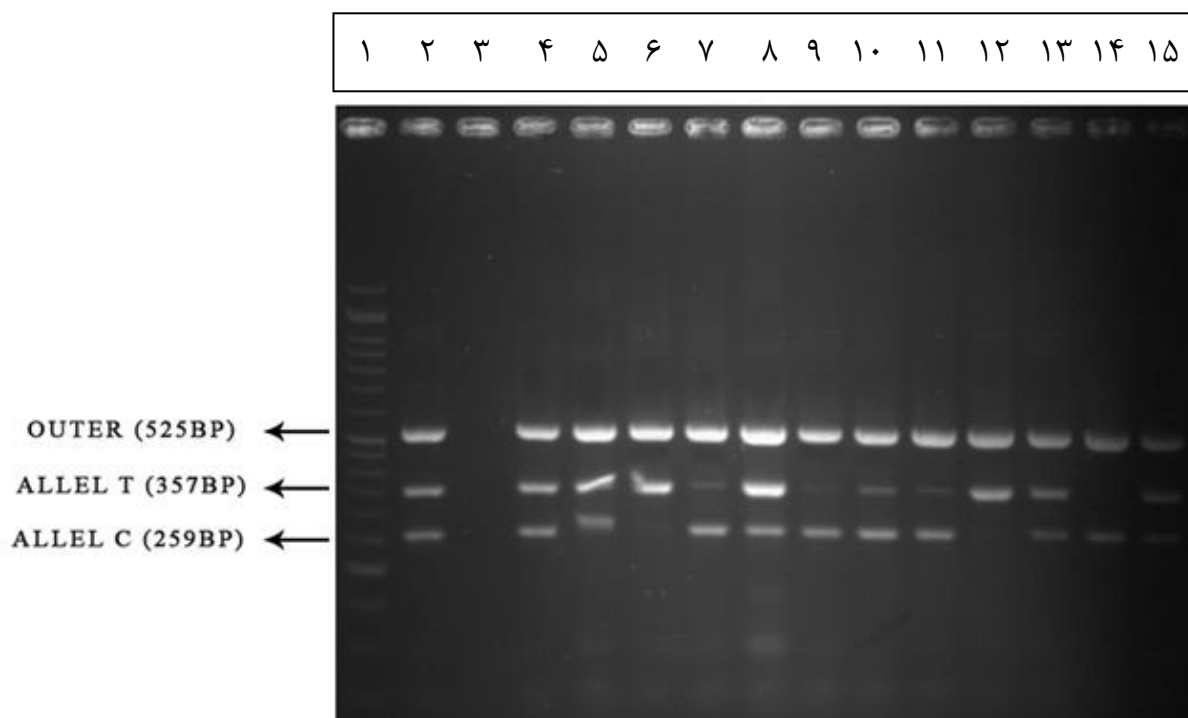
۶- ارزیابی محصول PCR - برای ارزیابی محصول PCR، مقدار ۵ میکرولیتر از محصول PCR، هم زمان با شناساگر زیستی (۵۰ bp) بر روی ژل آگاروز الکتروفورز شد. برای رنگ‌آمیزی از رنگ اتیدیوم بروماید استفاده گردید. سپس جهت مشاهده باندها ژل در دستگاه UV-Doc قرار داده شد و عکس برداری شد.

۷- تعیین اندازه قطعات تکثیر شده - برای تشخیص اندازه باند حاصل از PCR و اطمینان از تکثیر قطعه مورد نظر نیاز به استفاده از یک نشانگر اندازه یا سایز مارکر (Ladder) است. این نشانگر در کنار محصولات PCR در یکی از چاهک‌ها بارگذاری شد (با اندازه ۵۰ bp). بعد از این که ژل رنگ‌آمیزی شد و درون دستگاه UV قرار داده شد، باندهای OUTER با اندازه ۵۲۵ bp (کنترل) و باندهای دو آل T و C، به ترتیب با اندازه ۳۵۷ bp و ۲۵۹ bp بررسی شدند. قابل ذکر است که برای هر سری از نمونه‌ها از یک مارکر ۵۰ bp، یک کنترل مثبت که از نمونه‌های کاری بوده و حاوی تمامی ژن‌ها بود و از قبل با انجام سکانس تأیید شده بود و از آب مقطر به عنوان کنترل منفی، استفاده شد.

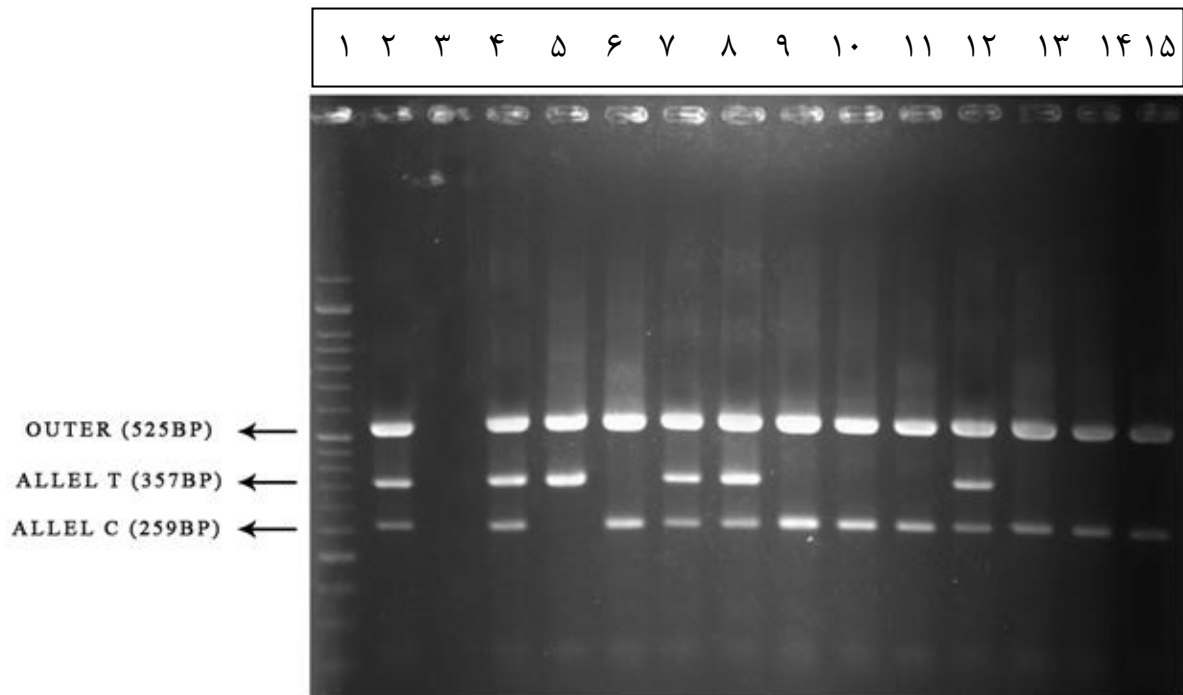
۸- تایید صحت نتایج ژنوتایپینگ - برای صحت عملکرد روش کار و به منظور تعیین سکانس و تأیید محصول PCR چندین نمونه از هموزیگوت غالب و هموزیگوت مغلوب و هتروزیگوت‌ها انتخاب شده و پس از خالص‌سازی با کیت سینا کلون، از طرف شرکت تکاپوزیست به کشور کره جنوبی (به شرکت



نمودار ۱- میانگین سنی دو گروه بیمار و نرمال



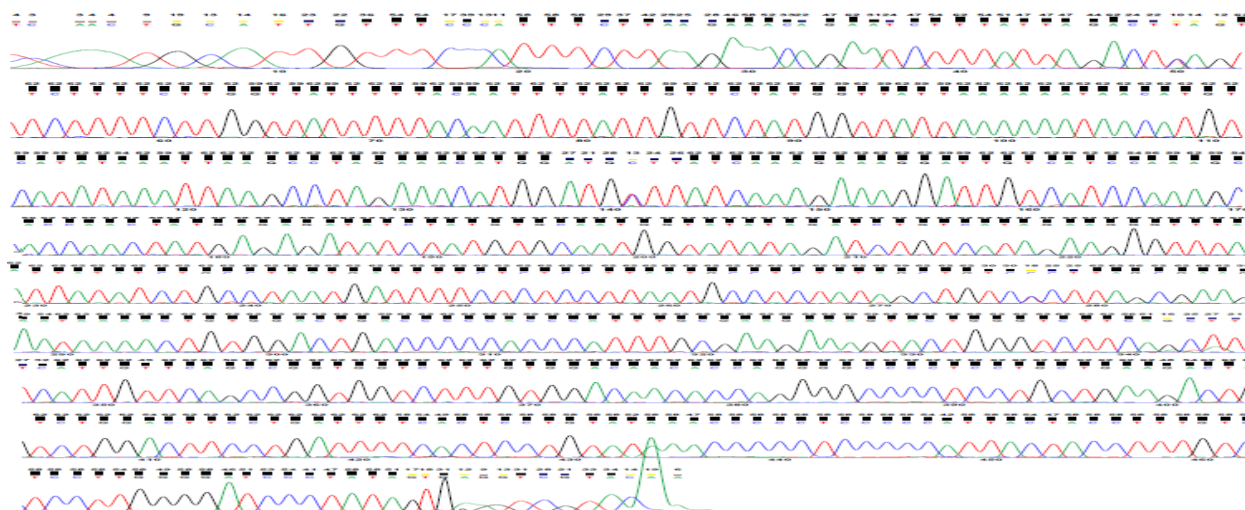
شکل ۱- نمونه‌های ژنوتیپ‌های بررسی شده با Tetra Arms PCR در افراد سالم- به ترتیب از چپ به راست چاهک شماره ۱: نشانگر زیستی 50 bp، چاهک شماره ۲: نمونه کنترل مثبت و چاهک شماره ۳: نمونه کنترل منفی، چاهک‌های شماره ۴، ۵، ۷، ۸، ۹، ۱۰، ۱۱، ۱۳ و ۱۵: افراد هتروزیگوت (TC) با طول 357bp و 259bp و چاهک‌های شماره ۶ و ۱۲: افراد هموزیگوت غالب (TT) با طول 357bp و چاهک شماره ۱۴: هموزیگوت مغلوب (CC) با طول 259bp می‌باشد.



شکل ۲- نمونه های ژنوتیپ های بررسی شده با Tetra Arms PCR در افراد بیمار- به ترتیب از چپ به راست، چاهک شماره ۱: نشانگر زیستی ۵۰ bp، چاهک شماره ۲: نمونه کنترل مثبت و چاهک شماره ۳: نمونه کنترل منفی، چاهک های شماره ۴، ۷، ۸ و ۱۲: افراد هتروزیگوت (TC) با طول ۳۵۷ bp و ۲۵۹ bp و چاهک های شماره ۲: فرد هموزیگوت غالب (TT) با طول ۳۵۷ bp و چاهک شماره ۶، ۹، ۱۰، ۱۱، ۱۳، ۱۴ و ۱۵: هموزیگوت مغلوب (CC) با طول ۲۵۹ bp می باشد.

۴- آنالیزهای آماری- برای بررسی در دو گروه بیمار و سالم و مقایسه تفاوت های فراوانی ژنوتیپی و آلی برای پلی مورفیسم مورد مطالعه از آزمون X^2 با سطح معنی دار $P < 0.05$ استفاده شد. نتایجی که با تست های آماری به دست آمد، نشان داد که برای پلی مورفیسم rs3803662 از ژن TOX3 ژنوتیپ هموزیگوت مغلوب (CC) بین گروه بیمار و کنترل با $P=0.044$ محاسبه شد که می تواند نشانگر وجود ارتباط معنی داری بین حضور پلی مورفیسم مذکور در جمعیت بیمار و ارتباط آن با بروز سرطان سینه در زنان ایرانی باشد (جدول ۴ و نمودار ۲).

۳- تعیین توالی یابی به جهت تایید محصول حاصل از Tetra-Arms PCR- در مطالعه حاضر به منظور تایید محصول PCR از هر یک از حالت های هموزیگوت و هتروزیگوت به همراه پرایمرها، جهت سکانس از طریق شرکت تکاپو زیست به کشور کره ارسال شد. سپس نتایج توسط نرم افزار Mega آنالیز و بلاست شد تا حالت های هموزیگوت و هتروزیگوت تایید شوند. در شکل ۳ و ۴ و ۵ نتایج سکانس سه نمونه (هتروزیگوت (TC)، (هموزیگوت مغلوب (CC) و (هموزیگوت غالب (TT) که با بلاست مورد تایید قرار گرفته، آورده شده است.

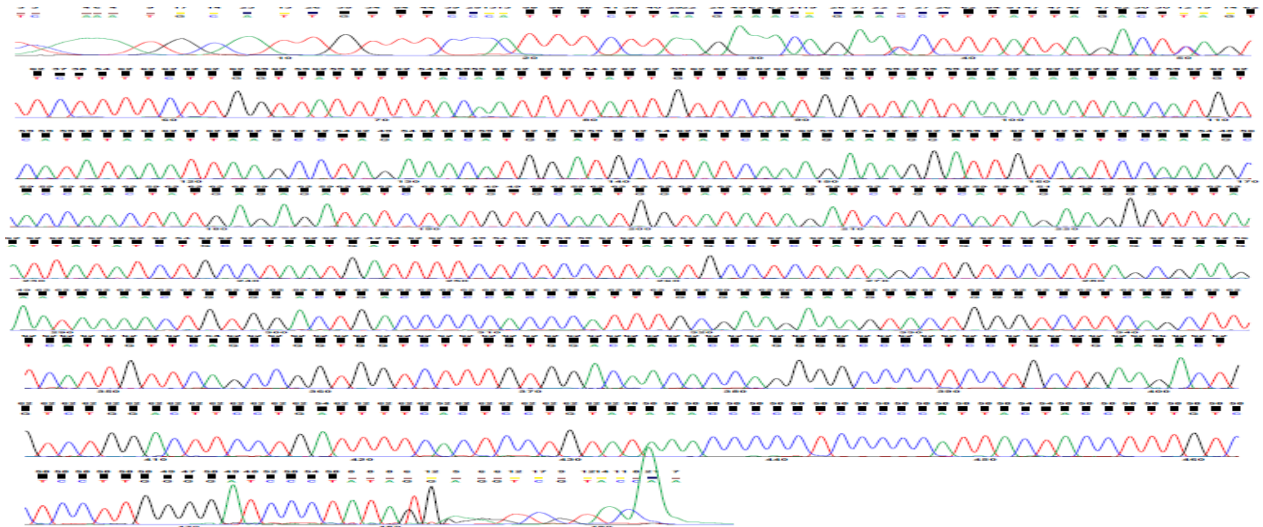


TCAACTGCATTGTTCCCATTTCTTAAGAAACAGAATCTTTATTAGACTTAGTTCTTTTCTGGTTATTTTACA
 ATTTTATTGTTCTATGGTTATTAATAAATAACATGTCATATAAATTAAGCCTAGAAACATGGATGCTTATCAAA
 GAAAGGATTGTCATCCAAAGCACCAACTATGAGAGATATCTATGTGCAATGGTATATAGATCTGTCATAGAAG
 GGTTTAAATTATATCTGCCTAATGATTTTCTCTCCTTAATGCCTCTATAGCTGTCCCTTAGCGAAGAATAAACT
 GTGGACTGACCCCAACCCATTTGCGAAGAAAGTACTGGGTCTTCAGCTTTCATTGTTTCAGCCGGTGGTCTTTGT
 GGACAACACCAGGGGCCCTCCTGCTGAAGACTGTCTGGACTTCCTGATTTTCACTCCTGTATAAACCCCTCC
 CCCATTACTACCTTGTCTCCTTGGGGATCCCTATAGTGAGGTCGTACAA

Homo sapiens TOX high mobility group box family member 3 (TOX3), RefSeqGene on chromosome 16
 Sequence ID: [NG_012623.1](#) Length: 116797 Number of Matches: 1

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
845 bits(457)	0.0	468/473(99%)	1/473(0%)	Plus/Plus
Query 1	TCAACTGC-ATTGTTTCCCATTTCTTAAGAAACAGAATCTTTATTAGACTTAGTTCTTTT	59		
Sbjct 97	TCAAATGCAATTGTTTCCCATTTCTTAAGAAACAGAATCTTTATTAGACTCAGTTCTTTT	156		
Query 60	CTTGGTTATTTTACAATTTTATTGTTCTATGGTTATTAATAAATAACATGTCATATAAA	119		
Sbjct 157	CTTGGTTATTTTACAATTTTATTGTTCTATGGTTATTAATAAATAACATGTCATATAAA	216		
Query 120	TTAAGCCTAGAAACATGGATGCTTATCAAAGAAAGGATTGTCATCCAAAGCACCAACTAT	179		
Sbjct 217	TTAAGCCTAGAAACATGGATGTTTATCAAAGAAAGGATTGTCATCCAAAGCACCAACTAT	276		
Query 180	GAGAGATATCTATGTGCAATGGTATATAGATCTGTCATAGAAGGGTTAATTATATCTGC	239		
Sbjct 277	GAGAGATATCTATGTGCAATGGTATATAGATCTGTCATAGAAGGGTTAATTATATCTGC	336		
Query 240	CTAATGATTTTCTCTCCTTAATGCCTCTATAGCTGTCCCTTAGCGAAGAATAAACTGTG	299		
Sbjct 337	CTAATGATTTTCTCTCCTTAATGCCTCTATAGCTGTCTTCTTAGCGAAGAATAAACTGTG	396		
Query 300	GACTGACCCCAACCCATTTGCGAAGAAAGTACTGGGTCTTCAGCTTTCATTGTTTCAGCCG	359		
Sbjct 397	GACTGACCCCAACCCATTTGCGAAGAAAGTACTGGGTCTTCAGCTTTCATTGTTTCAGCCG	456		
Query 360	GTGGTCTTTGTGGACAACACCAGGGGCCCTCCTGCTGAAGACTGTCTGGACTTCCTGAT	419		
Sbjct 457	GTGGTCTTTGTGGACAACACCAGGGGCCCTCCTGCTGAAGACTGTCTGGACTTCCTGAT	516		
Query 420	TTTCACTCCTGTATAAACCCCTCCCCATTACTACCTTTGTCTCCTTGGGGA	472		
Sbjct 517	TTTCACTCCTGTATAAACCCCTCCCCATTACTACCTTTGTCTCCTTGGGGA	569		

شکل ۳- نتایج تعیین توالی نمونه فرد هتروزایگوت TC

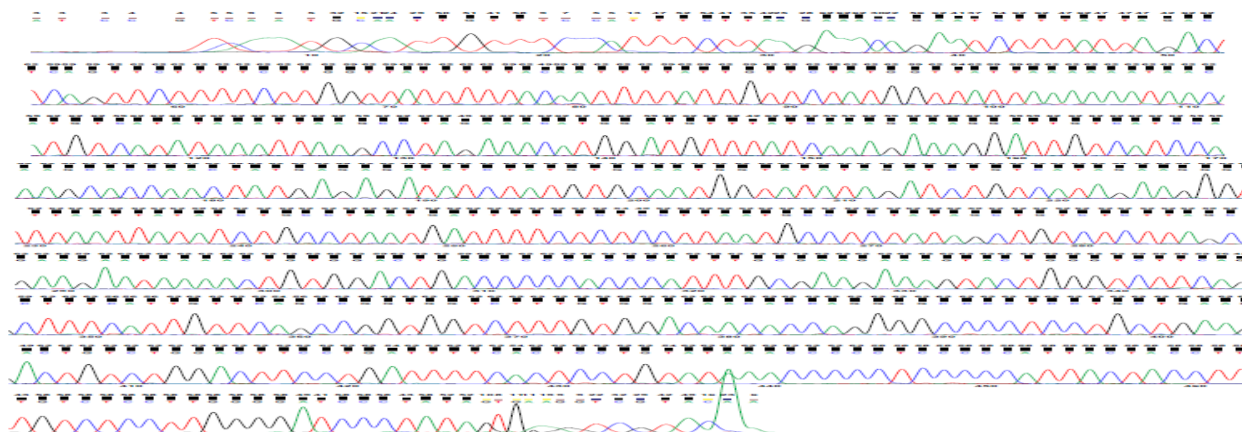


TCAAATGCATTGTTCCCATTTCTTAAGAAACAGAACCTTTATTAGACTTAGTTCTTTTCTTGGTTATTTTACAA
 ATTTTATTGTTCTATGGTTATTAATAAATAAACATGTCATATAAATTAAGCCTAGAAACATGGATGCTTATCAAA
 GAAAGGATTGTCATCCAAAGCACCAACTATGAGAGATATCTATGTGCAATGGTATATAGATCTGTCATAGAAG
 GGTTAATTATATCTGCCTAATGATTTTCTCTCCTTAATGCCTCTATAGCTGTCCCTTAGCGAAGAATAAACT
 GTGGACTGACCCCAACCAATTTGCGAAGAAAGTACTGGGTCTTCAGCTTTCATTGTTTCAGCCGGTGGTCTTTGT
 GGACAACACCAGGGGCCCTCCTGCTGAAGACTGTCTGGACTTCCTGATTTTCACTCCTGTATAAACCCCTCC
 CCATTACTACCTTGTCTCCTTGGGGATCCCTATAGGAGGTCGTACCAA

Homo sapiens TOX high mobility group box family member 3 (TOX3), RefSeqGene on chromosome 16
 Sequence ID: [NG_012623.1](#) Length: 116797 Number of Matches: 1

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
845 bits(457)	0.0	468/473(99%)	1/473(0%)	Plus/Plus
Query 1	TCAAATGC-ATTGTTCCCATTTCTTAAGAAACAGAACCTTTATTAGACTTAGTTCTTTT	59		
Sbjct 97	TCAAATGCAATTGTTTCCCATTTCTTAAGAAACAGAAATCTTTATTAGACTCAGTTCTTTT	156		
Query 60	CTTGGTTATTTTACAATTTTATTGTTCTATGGTTATTAATAAATAAACATGTCATATAAA	119		
Sbjct 157	CTTGGTTATTTTACAATTTTATTGTTCTATGGTTATTAATAAATAAACATGTCATATAAA	216		
Query 120	TTAAGCCTAGAAACATGGATGCTTATCAAAGAAAGGATTGTCATCCAAAGCACCAACTAT	179		
Sbjct 217	TTAAGCCTAGAAACATGGATGTTTATCAAAGAAAGGATTGTCATCCAAAGCACCAACTAT	276		
Query 180	GAGAGATATCTATGTGCAATGGTATATAGATCTGTCATAGAAGGGTTAATTATATCTGC	239		
Sbjct 277	GAGAGATATCTATGTGCAATGGTATATAGATCTGTCATAGAAGGGTTAATTATATCTGC	336		
Query 240	CTAATGATTTTCTCTCCTTAATGCCTCTATAGCTGTCCCTTAGCGAAGAATAAACTGTG	299		
Sbjct 337	CTAATGATTTTCTCTCCTTAATGCCTCTATAGCTGTCTTCTTAGCGAAGAATAAACTGTG	396		
Query 300	GACTGACCCCAACCAATTTGCGAAGAAAGTACTGGGTCTTCAGCTTTCATTGTTTCAGCCG	359		
Sbjct 397	GACTGACCCCAACCAATTTGCGAAGAAAGTACTGGGTCTTCAGCTTTCATTGTTTCAGCCG	456		
Query 360	GTGGTCTTTGTGGACAACACCAGGGGCCCTCCTGCTGAAGACTGTCTGGACTTCCTGAT	419		
Sbjct 457	GTGGTCTTTGTGGACAACACCAGGGGCCCTCCTGCTGAAGACTGTCTGGACTTCCTGAT	516		
Query 420	TTTCACTCCTGTATAAACCCCTCCCCATTACTACCTTTGTCTCCTTGGGGGA	472		
Sbjct 517	TTTCACTCCTGTATAAACCCCTCCCCATTACTACCTTTGTCTCCTTGGGGGA	569		

شکل ۴- نتایج تعیین توالی نمونه فرد هموزیگوت مغلوب CC.



ATCCGTCAATGCAATTGTTTCCATTCTTAAGAAACAGAATCTTTATTAGACTCAGTTCTTTTCTGGTTATTTT
 TACAATTTTATGTTCTATGGTTATTAATAAATAACATGTCATATAAATTAAGCCTAGAAACATGGATGTTTAT
 CAAAGAAAGGATTGTCATCCAAAGCACCAACTATGAGAGATATCTA TGTGCAATGGTATATAGATCTGTCATA
 GAAGGGTTAATTATATCTGCCTAATGATTTTCTCTCCTAATGCCTCTATAGCTGTCTCTTAGCGAAGAATAA
 AACTGTGGACTGACCCCCACCCATTTGCGAAGAAAGTACTGGGTCTTCAGCTTTCATTGTTTCAGCCGGTGGTCT
 TTGTGGACAACACCAGGGGCCCTCCTGCTGAAGACTGTCTGGACTTCTGATTTTCACTCCTGTATAAACCCC
 CTCCTTACTACTTGTCTCCTTGGGGATCCCTATAGTGAAGGTCGTACAA

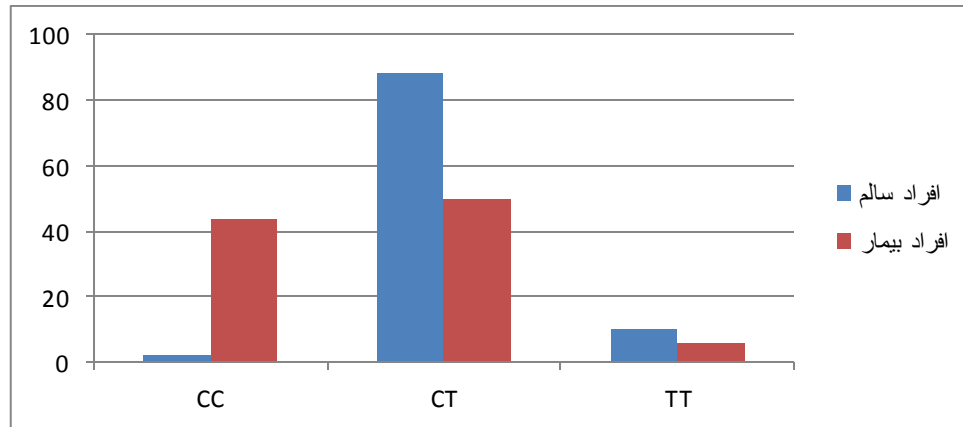
Homo sapiens TOX high mobility group box family member 3 (TOX3), RefSeqGene on chromosome 16
 Sequence ID: NG_012623.1 Length: 116797 Number of Matches: 1

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
861 bits(466)	0.0	469/470(99%)	1/470(0%)	Plus/Plus
Query 8	AATGCAATTGTTT-CCATTCTTAAGAAACAGAATCTTTATTAGACTCAGTTCTTTTCTT	66		
Sbjct 100	AATGCAATTGTTTCCCATTCTTAAGAAACAGAATCTTTATTAGACTCAGTTCTTTTCTT	159		
Query 67	GGTTATTTTACAATTTTATTGTTCTATGGTTATTAATAAATAACATGTCATATAAATTA	126		
Sbjct 160	GGTTATTTTACAATTTTATTGTTCTATGGTTATTAATAAATAACATGTCATATAAATTA	219		
Query 127	AGCCTAGAAACATGGATGTTTATCAAAGAAAGGATTGTCATCCAAAGCACCAACTATGAG	186		
Sbjct 220	AGCCTAGAAACATGGATGTTTATCAAAGAAAGGATTGTCATCCAAAGCACCAACTATGAG	279		
Query 187	AGATATCTATGTGCAATGGTATATAGATCTGTCTAGAAAGGGTTAATTATATCTGCCTA	246		
Sbjct 280	AGATATCTATGTGCAATGGTATATAGATCTGTCTAGAAAGGGTTAATTATATCTGCCTA	339		
Query 247	ATGATTTTCTCTCCTTAATGCCTCTATAGCTGTCTCTTAGCGAAGAATAAACTGTGGAC	306		
Sbjct 340	ATGATTTTCTCTCCTTAATGCCTCTATAGCTGTCTCTTAGCGAAGAATAAACTGTGGAC	399		
Query 307	TGACCCCCACCCATTTGCGAAGAAAGTACTGGGTCTTCAGCTTTCATTGTTTCAGCCGGTG	366		
Sbjct 400	TGACCCCCACCCATTTGCGAAGAAAGTACTGGGTCTTCAGCTTTCATTGTTTCAGCCGGTG	459		
Query 367	GTCTTTGTGGACAACACCAGGGGCCCTCCTGCTGAAGACTGTCTGGACTTCTGATTTT	426		
Sbjct 460	GTCTTTGTGGACAACACCAGGGGCCCTCCTGCTGAAGACTGTCTGGACTTCTGATTTT	519		
Query 427	CACTCCTGTATAAACCCCCTCCCCATTACTACCTTTGTCTCCTTGGGGA	476		
Sbjct 520	CACTCCTGTATAAACCCCCTCCCCATTACTACCTTTGTCTCCTTGGGGA	569		

شکل ۵- نتایج تعیین توالی نمونه فرد هموزیگوت غالب TT.

جدول ۴- وضعیت آماری آلل‌های پلی مورفیسم rs3803662 در افراد سالم و بیمار

ژنوتایپ	فراوانی گروه سالم	فراوانی گروه بیمار	آلل	فراوانی آلل‌ها در گروه سالم	فراوانی آلل‌ها در گروه بیمار	P.value
هموزیگوت غالب (TT)	۵ (٪۱۰)	۳ (٪۶)	T	۲۸ (٪۵۶)	۴۹ (٪۹۸)	۰,۰۸۲
هتروزیگوت (TC)	۴۴ (٪۸۸)	۲۵ (٪۵۰)	-	-	-	-
هموزیگوت مغلوب (CC)	۱ (٪۲)	۲۲ (٪۴۴)	C	۴۷ (٪۹۴)	۴۵ (٪۹۰)	۰,۰۴۴
فراوانی کل	۵۰ (٪۱۰۰)	۵۰ (٪۱۰۰)	-	-	-	-



نمودار ۲- مقایسه فراوانی افراد بیمار و سالم بر حسب درصد فراوانی

بحث

امروزه وجود پلی‌مورفیسم‌های ژنی در بافت‌های سرطانی سینه مورد بحث در جوامع علمی است. در خصوص حضور پلی‌مورفیسم‌هایی در ژن *TOX3* اعم از rs3803662، rs12443621 و rs8051542 مطالعات نشان داده است که می‌توانند با افزایش خطر ابتلا به سرطان پستان در ارتباط باشند (۱۷). حضور این پلی‌مورفیسم‌ها از جمله rs3803662 در ژن *TOX3* در بافت‌های سرطانی سینه مشخص شده و نقش ارتباط احتمالی آن در بروز و تکامل بدخیمی‌های سینه مورد تایید قرار گرفته است. بنابراین تشخیص و حضور این پلی‌مورفیسم می‌تواند به عنوان عاملی برای بروز سرطان سینه مطرح باشد و با بررسی مولکولی در این زمینه می‌توان از پیشرفت سرطان سینه و عواقب مهم آن جلوگیری کرده و به درمان سریع‌تر آن اقدام نمود [۸] و [۱۸]. با اهمیتی که این موضوع در سلامت زنان دارد،

سرطان پستان شایع‌ترین سرطان زنان ایران است و طی سال‌های گذشته نیز رو به فزونی گذاشته است [۲۰]. ژن‌ها در شدت بیماری کاملاً تأثیرگذار هستند. بدین معنی که در بدن انسان ژن‌هایی وجود دارند که آنها، تومورزا نامیده می‌شوند. این ژن‌ها وقتی در بدن انسان فعال شوند سبب پیدایش تومورها می‌شوند، چون به روش‌های مختلف تکثیر سلولی را سبب می‌شوند. این آنکوژن‌ها در حدود ۳۰ تا ۳۵ درصد از سرطان‌های پستان فعال می‌شوند [۴ و ۲۵]. ژن‌هایی که در ایجاد سرطان پستان نقش دارند، تا حدودی شناخته شده‌اند ولی مطالعات درباره این ژن‌ها همچنان ادامه دارد و وجود آنها ممکن است ریسک ابتلا به سرطان پستان را افزایش دهد. موتاسیون‌های خاصی از این ژن‌ها در زنان بعضی نژادها نسبت به سایرین بیشتر دیده می‌شود [۵].

ارتباط معنی دار بین حضور پلی مورفیسم rs3803662 از ژن TOX3 و بروز سرطان سینه در جمعیتی از زنان ایرانی مشاهده شد. در مطالعه‌ای دیگر در سال ۲۰۱۰ توسط لانگ و همکاران بر روی فاکتورهای ژنتیکی مرتبط با سرطان سینه که در ۶۱۷۳ فرد بیمار و ۶۳۴۰ نمونه کنترل از زنان آسیایی انجام شد، ۴ پلی مورفیسم جدید علاوه بر پلی مورفیسم‌های قبلی در لوکوس 16q12.1 (مرتبط با ژن TOX3) شناسایی شد که ارتباط معناداری با ریسک ابتلا به سرطان سینه در جمعیت زنان آسیایی داشتند [۱۲]. شان و همکاران در سال ۲۰۱۲ در تونس تحقیقی را در جمعیت عرب با تعیین توالی کل ژنوم در لوکوس مرتبط با سرطان سینه انجام دادند. نتایج آنها حضور ۹ پلی مورفیسم از جمله rs3803662 را که با سرطان سینه ارتباط داشتند مشخص نمود [۱۹]. همچنین بایراکتار و همکاران در سال ۲۰۱۳ چندین پلی مورفیسم مرتبط با سرطان سینه را با روش تعیین توالی کل ژنوم بررسی نمودند. نتایج مطالعه آن‌ها نشان داد لوکوس‌های 16q12 و 17q23 لوکوس‌های حساس به سرطان سینه هستند و در پیش آگهی و امکان بقای بیماران می‌توانند نقش داشته باشند [۳]. در تحقیقی که توسط هی و همکارانش در سال ۲۰۱۴ در جنوب چین انجام شد، ارتباط ۵ پلی مورفیسم از ژن TOX3 با سرطان سینه بررسی شد و مشخص گردید که ۲ پلی مورفیسم rs4784227 و rs8051542 ارتباط معنی‌داری با سرطان سینه دارند ولی ارتباط ۳ پلی مورفیسم rs12443621 و rs3112612 و rs3803662 و سرطان سینه در جمعیت زنان جنوب چین معنی‌دار نبود. آن‌ها چنین نتیجه گرفتند که اختلاف نتایج آن‌ها با سایر مطالعات می‌تواند به علت اختلاف نژاد در جمعیت‌های مختلف و وجود فاکتورهای هتروژنتیکی متفاوت در ایجاد سرطان سینه باشد [۷]. همچنان که در تحقیق حاضر که جمعیتی از زنان ایرانی

هدف از این مطالعه بررسی بروز سرطان سینه و ارتباط آن با حضور پلی مورفیسم rs3803662 در ژن TOX3 بوده است. به همین علت بررسی فراوانی این پلی مورفیسم در زنان بیمار ایرانی در این تحقیق مورد مطالعه قرار گرفت و نتایج نشان داد بین حضور ژنوتایپ مغلوب در گروه بیمار و وجود بیماری ارتباط معناداری وجود دارد (P=0.044). در نتیجه می‌توان از آن به عنوان مارکر ژنتیکی در غربالگری افراد بیمار استفاده نمود. تحقیقاتی در سال‌های اخیر بر روی ژن TOX3 در جمعیت‌های مختلف انجام شده و مطالعاتی نیز در خصوص حضور پلی مورفیسم‌هایی در این ژن صورت گرفته است که در این تحقیق سعی شده است با مقایسه نتایج مطالعات گذشته، با مطالعه حاضر که در جمعیتی از کشور ایران انجام شده، این ریسک فاکتور (پلی مورفیسم rs3803662 در ژن TOX3) در زنان ایرانی مبتلا به سرطان پستان با سایر جمعیت‌ها مقایسه شود.

در تحقیقی که توسط ادفری و همکاران در سال ۲۰۱۰ برای بررسی ارتباط تغییرات ژنتیکی با سرطان سینه و میزان پیش آگهی این بیماری انجام شد، مشخص شده است که پلی مورفیسم‌های معمول در ژن TOX3 ریسک فاکتور سرطان سینه هستند و حضور این پلی مورفیسم‌ها در خانم‌ها می‌تواند در نتایج ماموگرافی به تشخیص و پیش آگهی ابتلا به سرطان سینه موثر می‌باشد [۱۶]. ادلر و همکاران در سال ۲۰۱۰ در مطالعه‌ای با تعیین توالی کل ژنوم از لوکوس 16q12.1 و ارتباط پلی مورفیسم‌های آن ناحیه با سرطان سینه نشان دادند در جمعیتی از زنان اروپایی و جنوب آسیا، ۱۱ واریانت از ژن TOX3 می‌تواند با سرطان سینه ارتباط داشته باشد که در میان آنها پلی مورفیسم rs3803662 بیشترین ارتباط معنی‌دار را با سرطان سینه نشان داد [۲۱]. در تحقیق حاضر نیز نتایج مشابه مطالعه ادلر

نتایج مشابه نتایج تحقیقاتی که در گذشته در این زمینه انجام گرفته بود، به دست آمد. به این ترتیب که در جمعیتی از زنان ایرانی مورد مطالعه بین حضور پلی‌مورفیسم rs3803662 از ژن *TOX3* و سرطان سینه ارتباط معنی‌دار مشاهده شد که در تایید نتایج به دست آمده در جمعیت زنان آسیایی می‌باشد.

تشکر و قدردانی

از کلیه مسئولین محترم در دانشکده علوم زیستی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال و مسئولان محترم آزمایشگاه پاسارگارد به خصوص آقای دکتر امینی که در انجام کارهای آزمایشگاهی این پایان‌نامه کمال همکاری را مبذول فرموده‌اند، تشکر و قدردانی می‌نماید.

منابع

- [1] Abbasi B., Ansari N., Fardad F., Nasiripour S., Ramim T. 2016. Breast cancer epigenetics: review article. *Tehran University Medical Journal*, 74(8): 535-544.
- [2] Aliahmad P., Kaye J. 2008. Development of all CD4 T lineages requires nuclear factor TOX. *Journal of Experimental Medicine*, 205 (1): 245-266.
- [3] Bayraktar S., Thompson P.A., Yoo S., Do K., Sahin A., Arun B. 2013. The Relationship Between Eight GWAS-Identified Single-Nucleotide Polymorphisms and Primary Breast Cancer Outcomes. *The Oncologist*, 18: 493-500.
- [4] Cybulski C., Carrot-Zhang J., Kluźniak W., Rivera B., Kashyap A., Wokołorczyk D. 2015. Germline RECQL mutations are associated with breast cancer susceptibility. *Nat Genet*, 47(6): 643-6.
- [5] Dapic V., Carvalho M.A., Monteiro A.N.A. 2005. Breast Cancer Susceptibility and the DNA Damage Response. *Cancer Control*, 12(2): 127-136.
- [6] Han Y.J., Zhang J., Zheng Y., Huo D., Olopade O.I. 2016. Genetic and Epigenetic Regulation of *TOX3* Expression in Breast Cancer. *PLoS One*, 11(11): 1-14.
- [7] He X., Yao G., Li F., Li M., Yang X. 2014. Risk-Association of Five SNPs in *TOX3*/

مورد مطالعه قرار گرفتند مشابه سایر تحقیقات انجام شده در بین جمعیت زنان اروپایی و آسیایی، ارتباط معنی‌دار بین حضور پلی‌مورفیسم rs3803662 از ژن *TOX3* و سرطان سینه مشاهده شد که می‌تواند نشانگر تفاوت نژادی با جمعیت چین و تشابه بیشتر زنان ایرانی با جمعیت اروپایی باشد. زانگ و همکاران در سال ۲۰۱۵ روی ۷۲۷۵ فرد بیمار و ۱۲۸۶۸۶ نمونه کنترل مطالعه‌ای را انجام دادند و به بررسی ارتباط ۳ پلی‌مورفیسم از ژن *TOX3* با سرطان سینه در جمعیت‌های مختلف پرداختند. نتایج آنها نشان داد بین حضور ۳ پلی‌مورفیسم rs3803662 و rs8051542 و rs1244621 و سرطان سینه در جمعیتی از زنان اروپایی ارتباط معنی‌دار وجود دارد، در حالی که در جمعیت زنان آسیایی فقط بین حضور ۲ پلی‌مورفیسم rs3803662 و rs8051542 و سرطان سینه ارتباط معنی‌دار بود و در جمعیت زنان افریقایی هیچ یک از ۳ پلی‌مورفیسم با سرطان سینه ارتباط معنی‌دار نشان ندادند. در آن تحقیق با متانالیز نتایج مشخص شد این ۳ پلی‌مورفیسم دارای ریسک متفاوتی در ارتباط با سرطان سینه در جمعیت‌های مختلف هستند و نتایج در اقوام متفاوت می‌تواند متفاوت از هم باشد [۲۶]. تحقیق زانگ و همکاران می‌تواند توجیه‌کننده تفاوت نتایج بین حضور پلی‌مورفیسم rs3803662 از ژن *TOX3* و ارتباط آن با سرطان سینه در جمعیت زنان ایرانی با سایر جمعیت‌ها باشد. همچنین وانگ و همکاران در سال ۲۰۱۶ در تحقیقی مشابه روی ۴۴۸۲۰ فرد بیمار و ۵۸۳۱۶ نمونه کنترل، مشخص نمودند پلی‌مورفیسم rs3803662 از ژن *TOX3* به عنوان یک مارکر، سبب افزایش ریسک ابتلا به سرطان سینه در جمعیتی از زنان آسیایی می‌گردد [۲۲].

در این تحقیق که حضور پلی‌مورفیسم rs3803662 از ژن *TOX3* با روش Tetra Armes PCR انجام شد،

- LOC643714* with Breast Cancer in Southern China. *International Journal of Molecular Sciences*, 15: 2130-2141.
- [8] Jiang C., Yu S., Qian P., Guo R., Zhang R., Zhi A.O. 2016. The breast cancer susceptibility-related polymorphisms at the *TOX3/LOC643714* locus associated with lung cancer risk in a Han Chinese population. *Oncotarget*, 7(37): 59742-59753.
- [9] Jones J.O., Chin S., Wong-Taylor L., Leaford D., Ponder B., Caldas C., Maia A. 2013. *TOX3* Mutations in Breast Cancer. *PLOS ONE*, 8(9): 1-5.
- [10] Keyhanian S.H., Jannat-Alipoor Z., Lohrasbi E., Fotoukian Z., Saravi M.M. 2015. Evaluation of Biologic Markers Frequency and Their Correlation with Some Determinant Prognostic Factors in Women with Breast Cancer Referred to Oncology Clinic of Imam Sajjad Hospital of Ramsar during 2002-2012. *Scientific Journal of Ilam University of Medical Sciences*, 22(7): 115-128.
- [11] Li J, Humphreys K., Heikkinen T., Aittomäki K., Blomqvist C., Pharoah P.D. 2011. Combined analysis of genome-wide association studies in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 126(3): 717-27.
- [12] Long J., Cai Q., Shu X., Qu Sh., Li C., Zheng Y. 2010. Identification of a Functional Genetic Variant at 16q12.1 for Breast Cancer Risk: Results from the Asia Breast Cancer Consortium. *PLoS Genetics*, 6(6): 1-9.
- [13] Low S., Takahashi A., Ashikawa K., Inazawa J., Miki Y., Kubo M. T. 2013. Genome-Wide Association Study of Breast Cancer in the Japanese Population. *PLOS ONE*, 8(10): 1-8.
- [14] Mokarian F., Abdeyazdan N., Motamedi N., Tabesh P., Mokarian, Sh., Hashemi F. 2012. Risk Factors of Metastasis in Women with Breast Cancer. *Journal of Isfahan Medical School*, 29(171.3): 2785-2796.
- [15] Moshki M., Taymoori P., Khodamoradi S., Roshani D. 2016. Relationship Between Perceived Risk and Physician Recommendation and Repeat Mammography in the Female Population in Tehran, Iran. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 17: 161-166.
- [16] Odefrey F., Stone J., Lyle C., Gurrin L.C., Byrnes G.B., Apicella C. 2010. Common Genetic Variants Associated with Breast Cancer and Mammographic Density Measures That Predict Disease. *Molecular and Cellular Pathobiology*, 9: 1449-1458.
- [17] Onsory Kh., Ranapoor S. 2011. Breast Cancer and the Effect of Environmental Factors Involved. *New Cell Mol Biotech*, 1(4): 59-70.
- [18] Ruiz-Narváez E.A., Rosenberg L., Cozier Y.C., Cupples L.A., Adams-Campbell L.L., Palmer J.R. 2010. Polymorphisms in the *TOX3/LOC643714* locus and risk of breast cancer in African-American women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 19(5): 1320-1327.
- [19] Shan J., Mahfoudh W., Dsouza S.P., Hassen E., Bouaouina N., Abdelhak S. 2012. Genome-Wide Association Studies (GWAS) breast cancer susceptibility loci in Arabs: susceptibility and prognostic implications in Tunisians. *Breast Cancer Res Treat*, 135: 715-724.
- [20] Tavakol por V., Tavakol por S. 2014. Study of breast cancer genes, The first national congress of biology and nature science in Iran (2014), 33-39.
- [21] Udler M.S., Ahmed Sh., Healey C.S., Meyer K., Struewing J., Maranian M. 2010. Fine scale mapping of the breast cancer 16q12 locus. *Human Molecular Genetics*, 19 (12): 2507-2515.
- [22] Wang Q., Wang N.Y., Cao X.M., Sun X., Shen D., Yuan M., Chen J.F. 2016. Increased risk of breast cancer in individuals carrying the TNRC9 rs3803662 C>T polymorphism: a meta-analysis of case-control studies. *Genet Mol Res*, 15(3): 1101-1022.
- [23] Yang Y., Wang W., Liu G., Yu Y., Liao M. 2016. Association of single nucleotide polymorphism rs3803662 with the risk of breast cancer. *SCIENTIFIC REPORTS*, 6(29008): 1-6.
- [24] Yasaei V., Dalton A., Hornby D.P. 2004. New genetic mutations in major breast cancer genes (BRCA1/BRCA2) in Iranian woman with breast cancer. *Research in medical*, 28(2): 101-108.
- [25] Yu X, Li Z. 2015. TOX gene: a novel target for human cancer gene therapy. *American journal of Cancer research*, 5(12): 3516-3524.
- [26] Zhang L., Long X. 2015. Association of three SNPs in *TOX3* and breast cancer risk: Evidence from 97275 cases and 128686 controls. *Scientific Reports*, 5(12773): 1-12.

Titel: Study of relation on breast cancer and rs3803662 polymorphism of *TOX3* gene in Iranian female population by Tetra Arms PCR

Siasi E*, Ghane B., Ashrafi F.

Department of Genetics, Faculty of science, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

* Email: emi_biotech2006@yahoo.com

Received: 22 November 2018

Accepted: 10 June 2019

Abstract

TOX3 gene plays an important role in the risk of breast cancer in females. Polymorphisms were identified in this gene, that can associated with breast cancer. The aim of this study was relation between breast cancer and rs3803662 polymorphism of *TOX3* gene in Iranian females by Tetra Arms PCR. Blood samples were collected from 50 normal groups and 50 Breast cancer Patients. Then was extracted DNA from samples. Genotype frequency of this polymorphism in *TOX3* gene were determined by using Tetra Arms PCR. Genotyp frequency for TT, TC and CC in normal groups was 10%, 88% and 2%, and For patient groups was 6% , 50% and 44%, respectively. Frequency of CC recessive homozygous genotype of rs3803662 polymorphism in *TOX3* gene between normal groups and breast cancer patients was statistical significant difference ($P < 0.05$). This research for first time was studied relation between the risk of breast cancer and presence of rs3803662 polymorphism in *TOX3* gene in Iranian females. The results of this study was showed that presence of rs3803662 polymorphism in *TOX3* gene, as genetic marker, can associated with breast cancer in Iranian female.

Keywords: Breast Cancer, rs3803662 Polymorphism, *TOX3* Gene, Tetra Arms PCR.