بررسی بیان نسبی ژن *BIF-1* در تومور سرطان پستان و بافت های نرمال مجاور با استفاده از Real Time PCR

کژاله محمدی[۱]، مهدیه سلیمی [*۲]، سید عبدالحمید انگجی[۱]، فروزنده محجوبی[۲]، طیبه مجید زاده[۲]

۱) گروه ژنتیک، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، کرج، ایران

۲) گروه ژنتیک پزشکی، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۹۴/۱۰/۱۹ تاریخ پذیرش:۹۵/۴/۲۱

چکیده

مقدمه: سرطان پستان یک بیماری پیچیده به دلیل چندین تغییر ژنتیکی و اپی‌ژنتیکی است که نهایتا به تغییر فرآیند های سلولی از جمله تکثیر، آپوپتوز، آنژیوژنز (رگ زایی) و اکتساب یک فنوتیپ تهاجمی منجر می‌شود. *BIF-1* (BAX interacting factor) که یک ژن سرکوب گر تومور است، در تنظیم خمیدگی های غشای میتوکندری نقش دارد و حاوی دمین BAR است که به واسطه آن با BAX تعامل می یابد. هدف از مطالعه حاضر بررسی تفاوت بیان نسبی ژن *BIF-1* در بافت انسانی تومور مبتلایان به سرطان پستان در مقایسه با بافت نرمال اطراف تومور به روش Real-Time PCR می باشد.

مواد و روش ها: این مطالعه مورد شاهدی بر روی ۵۰ نمونه ی حاصل از زنان مبتلا به سرطان پستان و ۵۰ نمونه کنترل نرمال اطراف تومور که در سال ۱۳۹۳ به بیمارستان های میلاد و خاتم الانبیاء مراجعه کرده بودند، انجام شد. بعد از جمع‌آوری نمونه ها، استخراج RNA از بافت با استفاده از کیت استخراج TriPure RNA Isolation انجام شد. سپس سنتز cDNA از RNA های استخراج شده با استفاده از کیت Revert AID First strand cDNA synthesis Kit انجام گرفت. در نهایت بیان ژن *BIF-1* در ۵۰ بافت تومور سرطان پستان و ۵۰ بافت نرمال پستانی با استفاده از تکنیک SYBR Green Real-Time PCR مورد بررسی قرار گرفت.

یافته های پژوهش: نتایج ما نشان داد که ژن *BIF-1* در ۳۴ نمونه(۶۸ در صد) از بافت توموری مبتلایان به سرطان پستان نسبت به بافت نرمال مجاور تومور دچار کاهش بیان می باشد که این اختلاف از منظر آماری معنی‌دار تلقی می‌گردد(P=0.001) . این پایین بودن میانگین بیان در بافت توموری نسبت به بافت نرمال اطراف تومور تاییدکننده عملکرد سرکوبگری تومور ژن *BIF-1* است.

بحث و نتیجه‌گیری: با توجه به کاهش بیان ژن *BIF-1* در بافت های تومور در مقایسه با بافت نرمال پستانی می توان این ژن را به عنوان یک کاندید زیست نشانگر احتمالی مرتبط با سرطان پستان جهت بررسی های آتی معرفی نمود.

واژه های کلیدی: سرطان پستان ، *BIF-1* ، بیان ژن، Real-Time PCR

* **نویسنده مسئول:** گروه ژنتیک پزشکی، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، تهران، ایران

Email: salimi@nigeb.ac.ir

Copyright © 2017 Journal of Ilam University of Medical Science. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution international 4.0 International License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) which permits copy and redistribute the material, in any medium or format, provided the original work is properly cited.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-08]

[DOI: 10.29252/sjimu.25.3.138]

مقدمه

سرطان پستان معمولا در لوبول‌ها یا مجرا های یک یا هر دو پستان تومور های بدخیم ایجاد می‌کند. این سرطان بعد از سرطان ریه معمول‌ترین سرطان و دومین عامل مرگ و میر در زنان در ایالت متحده معرفی شده است (۱). سرطان های پستان یک گروه ناهمگن از تومور ها هستند که رفتار و پاسخ به درمان متنوع دارند (۲). آمار دقیقی از تعداد مبتلایان به سرطان پستان در ایران وجود ندارد، اما به طور مسلم سرطان پستان، شایع ترین نوع سرطان زنان در کشور است (۳). بر اساس مطالعات متعدد، وجود سابقه خانوادگی سرطان سینه و وضعیت فرزند آوری دو عامل مهم تاثیرگذار در بیماران ایرانی بر شمرده شده اند (۴). ژن ها از یک سو دلیلی برای وقوع سرطان و از سوی دیگر ابزاری برای درمان آن محسوب می‌شوند بنا بر این، اگر وقایع محیطی سبب ایجاد خطا هایی در ژن های کنترل کننده رشد شوند، سلول های آسیب دیده ممکن است تکثیر شده و منجر به ایجاد سرطان گردند (۵).

از جمله ژن های عامل ایجاد سرطان، ژن *BIF-1* انسانی است که روی کروموزوم 1p22 واقع شده و غالبا در بسیاری از تومور ها حذف شده است (۶). ژن *BIF-1* انسان، کد کننده یک پلی پپتید ۳۶۵ آمینو اسیدی است که شامل یک دومین N-)ترمینال BAR ((Bin/Amphiphysin/R_{VS}) که به چربی ها متصل شده و سبب انحنای غشاء می‌شود (۷) ، یک دومین کویل–کویل مرکزی و یک دومین -carboxy) C (terminal– ترمینال (Src-homology3 SH3(است(۸). دومین SH3 ، که شامل ۶۰ اسید آمینه است، به توالی غنی از پرولین در بسیاری از پروتئین های داخل سلولی متصل می شود(۹).

بخش N– ترمینال (۲۷–۱ اسید آمینه) *BIF-1*، برای اتصال آن به *BAX* مورد نیاز است. علاوه بر این، تعامل بین BIF-1 و *BAX* در سلول های پستانداران به وسیله یک تغییر ساختاری در پروتئین *BIF-1* در طول آپوپتوز افزایش یافته است (۸). از آن جا که سرطان پستان به عنوان دومین سرطان شایع و مهم ترین عامل مرگ و میر ناشی از سرطان در زنان جهان می‌باشد (۷) و پیشرفت‌های علمی در پیشگیری از سرطان پستان، تشخیص و درمان هنوز فاقد توانایی موثر در درمان این بیماری مخرب مخصوصا سرطان سینه از نوع سه گانه منفی یا Triple Negative فاقد هر سه گیرنده استروژن، پروژسترون و فاکتور رشد انسانی اپیدرمال هستند (۷). لذا یافتن راه کار هایی جهت تشخیص زود هنگام، اقدامات پیشگیرانه و روش‌های درمانی مناسب از اهمیت زیادی برخوردار است.

لذا بررسی و شناسایی زیست نشانگر های مرتبط با مقوله های تشخیصی، پیش‌آگهی یا پروگنوز، درمان و یا پیش بینی پاسخ به درمان از اهمیت بالایی برخوردار است. در مطالعه حاضر با توجه به عملکرد ژن *BIF-1* و نقش متصور سرکوب گری تومور آن بیان این ژن در بافت توموری و نرمال سرطان پستان مورد بررسی قرار گرفت هدف از این بررسی کاندید نمودن مارکری زیستی مرتبط با سرطان پستان می باشد.

مواد و روش ها

پنجاه بافت توموری پستان به همراه پنجاه نمونهٔ نرمال مجاور تومور با کسب رضایت نامه کتبی از بیماران و با رعایت قوانین اخلاق در مطالعات تجربی پزشکی Helsinki و تبعیت از دستور العمل های مربوطه از بیمارستان های میلاد و خاتم الانبیاء دریافت و با رعایت اصول انتقال و نگه داری بافت تازه به پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری انتقال داده شد. روند نمونه گیری با انتقال نمونه به کرایو تیوپ های استریل اغاز و با انتقال کرایو تیوپ ها به تانک حاوی ازت مایع جهت انتقال به پژوهشگاه در مدت زمان کمتر از دو ساعت و نگه داری در فریزر با دمای ۷۰– درجه سانتی گراد ادامه یافت. تمامی دستور العمل های اخلاقی بانک های زیستی برای نگه داری و استفاده از نمونه های انسانی رعایت گردید.

استخراج RNA و سنتز cDNA: جهت استخراج RNA، ۱۰۰–۵۰ میلی گرم از هر یک از بافت ها بر روی یخ خشک بریده شد و با کوبیدن در هاون چینی با استفاده از ازت مایع به صورت پودر درآمد و در ۱ میلی لیتر از محلول(TriPure Isolation Reagent شرکت Roche) همگن و براساس دستورالعمل شرکت

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-08]

[DOI: 10.29252/sjimu.25.3.138]

سازنده، RNA از بافت ها استخراج گردید. RNA حاصله جهت سنجش کیفیت و کمیت به ترتیب درون ژل اگارز ۱ درصد ران شد و کیفیت RNA استحصال شده با بررسی کیفیت دو باند 18_S و 28s RNA ریبوزومی (rRNA) مورد بررسی قرار گرفت. سپس کمیت RNA با استفاده از روش کمی طیف‌سنجی جذبی اشعه ماوراء بنفش با سنجش غلظت و خلوص نمونه RNA استخراج شده مورد بررسی قرار گرفت. غلظت RNA استخراج شده از نمونه ها در محدوده‌ی 1000-4000 ng/µl اندازه گیری شد.

۱ میکرو لیتر از این RNA با استفاده از کیت Revert AID First Strand cDNA synthesis kit محصول شرکت (Fermentase) به cDNA تبدیل گردید .

کنترل داخلی و ژن مورد نظر: ژن خانه دار بتا اکتین که به طور معمول در مطالعات بیان ژن در در سرطان پستان استفاده می شود، به عنوان کنترل داخلی انتخاب گردید. پایداری بیان آن نرمال کردن بیان ژن *BIF-1* مورد بررسی قرار گرفت.

تمامی پرایمر ها توسط نرم افزار های طراحی Generunner v.3.05و توسط نرم افزار Primer Express 3.0 تأیید شد (جدول ۱).

بازده تکثیر هر پرایمر با استفاده از تهیه ی منحنی استاندارد از رقت های سریال یک دهم از cDNA و با استفاده از نرم افزار های ,REST, SPSS LinReg (Statistical Package for Social Science IL, USA, V.16, SPSS Inc, Chicago) مورد بررسی قرار گرفت.

جدول ۱، مشخصات پرایمر های استفاده شده در واکنش Time PCR

پرایمر	توالی	طول bp	محتوی GC	اندازه محصول PCR(bp)
BIF-1	**F:5'**CTAGAGGGAATCAGCAGTACACATG**3'**	۲۵	٪۴۸	174 bp
	R:5'AGGTGTCACAGAAGTCTGATTGTTG**3'**	۲۵	٪۴۴	
β-actin	**F:5'** GAGACCTTCAACACCCCAGCC **3'**	۲۱	٪۶۱	161bp
	R:5' AGACGCAGGATGGCATGGG **3'**	۱۹	٪۶۳	

میزان بیان و وضعیت بیان ژن *BIF-1*

در جدول۲، میزان بیان ژن *BIF-1* در بافت تومور در مقایسه با میانگین بیان در بافت نرمال مجاور و هم چنین وضعیت بیان ژن *BIF-1* در بافت تومور در مقایسه با میانگین بیان در بافت نرمال مجاور آن آمده است.

جدول ۲، مقایسه میزان بیان و وضعیت بیان ژن *BIF-1* در بافت تومور و بافت نرمال مجاور

ردیف	میزان بیان ژن *BIF-1* در بافت تومور در مقایسه با میانگین بیان در بافت نرمال مجاور	وضعیت بیان ژن *BIF-1* در بافت تومور در مقایسه با میانگین بیان در بافت نرمال مجاور	ردیف	میزان بیان ژن *BIF-1* در بافت تومور در مقایسه با میانگین بیان در بافت نرمال مجاور	وضعیت بیان ژن *BIF-1* در بافت تومور در مقایسه با میانگین بیان در بافت نرمال مجاور
۱	۰/۱۱	Down regulation	۲۶	۰/۴۱	Down regulation
۲	۰/۱۲	Down regulation	۲۷	۰/۶۴	Normal
۳	۰/۰۰۰۱	Down regulation	۲۸	۰/۴۱	Down regulation
۴	۰/۴۱	Down regulation	۲۹	۰/۰۷	Down regulation
۵	۰/۰۰۴	Down regulation	۳۰	۰/۹۶	Normal
۶	۱/۸۸	Normal	۳۱	۰/۴۱	Down regulation
۷	۰/۰۰۳	Down regulation	۳۲	۰/۲۶	Down regulation
۸	۰/۱	Down regulation	۳۳	۰/۰۰۰۸	Down regulation
۹	۰/۱۹	Down regulation	۳۴	۳/۱۴	Over exp.
۱۰	۰/۴۱	Down regulation	۳۵	۳/۲۱	Over exp.
۱۱	۰/۴۱	Down regulation	۳۶	۰/۲۶	Down regulation
۱۲	۰/۴۱	Down regulation	۳۷	۰/۷	Normal
۱۳	۰/۰۷	Down regulation	۳۸	۰/۶۶	Normal
۱۴	۰/۵۷	Normal	۳۹	۱/۰۳	Normal

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-08]

[DOI: 10.29252/sjimu.25.3.138]

۱۵	۰/۱۹	Down regulation	۴۰	۰/۱۲	Down regulation
۱۶	۰/۵۹	Normal	۴۱	۰/۲۵	Down regulation
۱۷	۰/۰۲	Down regulation	۴۲	۰/۴۱	Down regulation
۱۸	۰/۰۰۰۳	Down regulation	۴۳	۰/۱	Down regulation
۱۹	۰/۰۲	Down regulation	۴۴	۰/۴۳	Down regulation
۲۰	۱/۰۰۰۶	Normal	۴۵	۳/۹۸	Over exp.
۲۱	۰/۰۰۳	Down regulation	۴۶	۰/۷۸	Down regulation
۲۲	۳/۸۶	Over exp.	۴۷	۰/۰۰۶	Down regulation
۲۳	۰/۰۷	Down regulation	۴۸	۰/۰۶	Down regulation
۲۴	۲/۷۴	Over exp.	۴۹	۰/۲۴	Down regulation
۲۵	۲/۳۹	Over exp.	۵۰	۱/۴۷	Normal

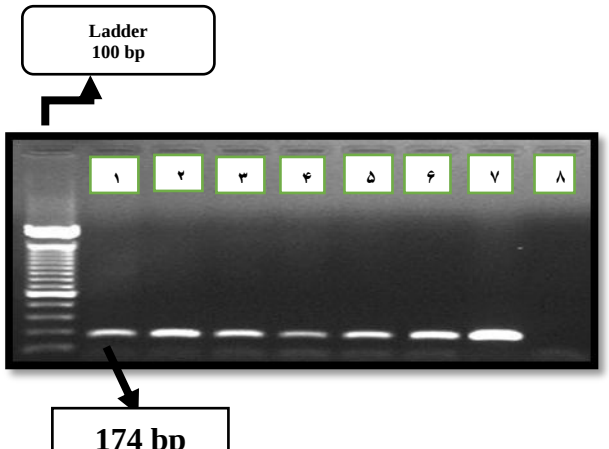
Real Time PCR کمی

واکنش Q RT PCR با استفاده از کیت SYBR Green I 480 Master mix (Roche Applied Science) شرکت Roche در واکنش های ۱۰ میکرولیتری انجام شد(جدول ۳). غلظت نهایی هر یک از پرایمرهای رفت و برگشت ژن‌های *BIF-1* و بتا اکتین ۰/۳ میکرومولار بود.

جدول۳، برنامه حرارتی مورد استفاده در واکنش‌های Real Time RT-PCR برای ژن *BIF-1* و *β-ACTIN*

مرحله	دما	مدت زمان	تعداد چرخه
واسرشته سازی	۹۵	۱۰‘	۱
واسرشته سازی	۹۵	۲۰“	
اتصال آغازگرها	۶۲	۱۵“	۴۰
بسط آغازگرها	۷۲	۱۵“	
مرحله تطویل نهایی	۷۲	۵‘	۱

اندازه گیری میزان فلورسانت توسط دستگاه rotor-gene 6000 ساخت شرکت corbet و آنالیز داده ها توسط نرم افزار های REST, LinReg انجام شد. جهت تایید صحت انجام واکنش PCR و تکثیر قطعات، محصول واکنش Real Time RT-PCR روی ژل آگارز ۲٪ ارزیابی و صحت اندازه قطعه حاصل از تکثیر توسط نشانگر وزنی M100bp مورد ارزیابی قرار گرفته شد. نتایج تایید تکثیر *BIF-1* در بافت توموری روی ژل آگارز ۲٪ در شکل ۱ به تصویر کشیده شده است.



شکل۱، نتایج تایید تکثیر ***BIF-1*** در بافت توموری بر روی ژل آگارز ۲٪ (چاهک اول نشانگر وزنی و ۶-۱ بافت توموری و ۷ بافت سالم و ۸ کنترل منفی) را نشان می‌دهد.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-08]

[DOI: 10.29252/sjimu.25.3.138]

آنالیز داده ها

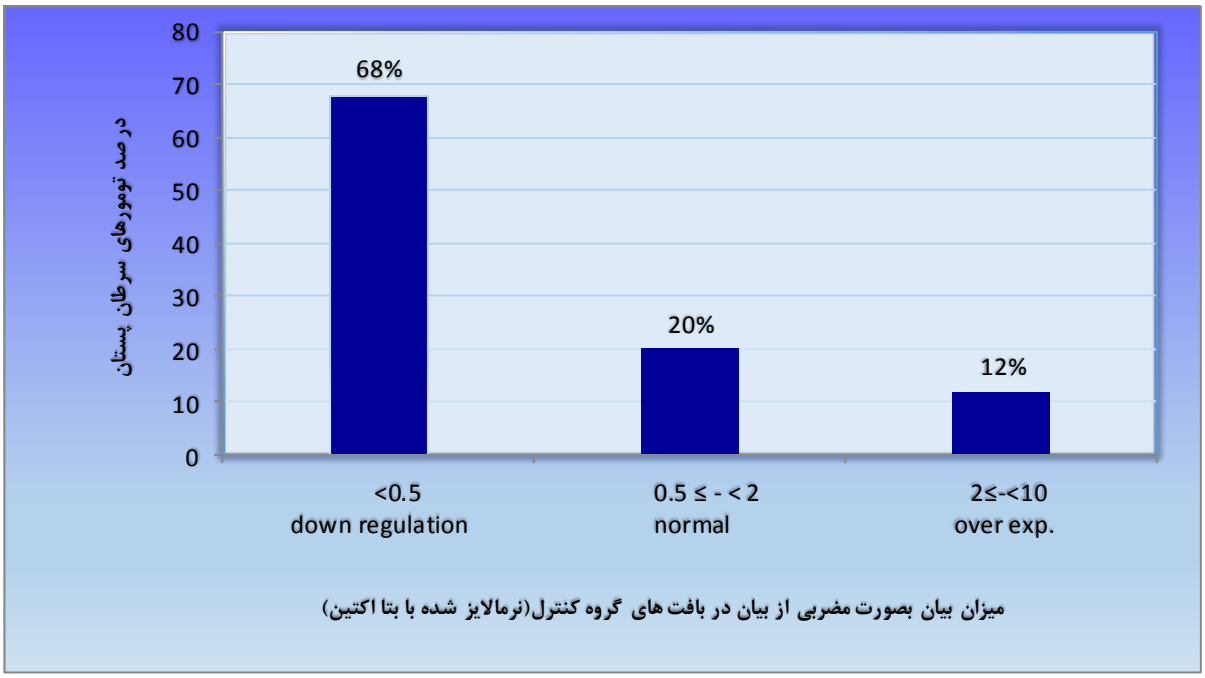
داده های خام حاصل از Real Time RT-PCR با استفاده از نرم افزار لینرگ تجزیه و تحلیل شد و کارآیی تکثیر و اعداد CT برای هر واکنش به دست آمد. **CT (cycle threshold)** به تعداد سیکل هایی اطلاق می شود که لازم است تا سیگنال فلورسنت از سطح سیگنال زمینه یا threshold گذر کند. سطح CT با میزان نوکلئیک اسید هدف در نمونه نسبت عکس دارد، به عبارتی هر چه سطح CT کمتر باشد نمایانگر بالاتر بودن میزان اسید نوکلئیک هدف در نمونه است و برعکس. سپس تغییرات بیانی ژن های مورد مطالعه با استفاده از خروجی لینرگ توسط نرم افزار REST بررسی شد. حدود اطمینان درتمامی آزمایشات ۹۵٪ در نظر گرفته شد و $P< 0.05$ معنی دار محسوب گردید.

نسبت میزان بیان ژن ها: با استفاده از فرمول $2^{-\Delta\Delta CT}$ داده ها به صورت مضربی از میزان بیان ژن درج شده و توسط ژن کنترل داخلی *β-ACTIN* و در مقایسه با مجاور نرمال متوازن و تفسیر گردید. بیان RNA با میزان دو برابر و یا بیشتر به عنوان افزایش بیان و بین ۰/۵ و ۲ برابر به عنوان نرمال و ۰/۵ برابر و کم تر به عنوان کاهش بیان منظور گردید.

$$\Delta\Delta CT = [(CT_{BIF\text{-}1(tumor)} - CT_{\beta\text{-}ACTIN(tumor)}) - (CT_{BIF\text{-}1(normal)} - CT_{\beta\text{-}ACTIN(normal)})]$$

یافته های پژوهش:

همان طور که در نمودار ۱ مشخص است، نتایج حاکی از آن است که ژن BIF-*1*در ۳۴ نمونه (۶۸ در صد) از مبتلایان به سرطان پستان در مقایسه با بافت نرمال کاهش بیان داشته این در حالی است که ۱۶ نمونه (۳۲ درصد) نمایانگر میزان بیان طبیعی این ژن و تنها ۶ نمونه (۱۲ درصد) افزایش بیان را نشان دادند. این اختلاف از نظر آماری معنی دار بود($P=0.001$) . پایین بودن میانگین بیان در بافت توموری نسبت به بافت نرمال اطراف تومور تایید کننده عملکرد سرکوب گری تومور ژن *BIF-1* می باشد.



نمودار ۱، بیانگر میزان بیان ژن *BIF-1* در تومور های پستانی مورد بررسی است. نمودار ۱، بررسی نتایج سنجش بیان ژن *BIF-1* در تومور های پستان: نتایج با استفاده از فرمول $2^{-\Delta\Delta CT}$ با ژن کنترل داخلی *(ACTIN)* نرمالایز گشته و در مقایسه با میانگین میزان بیان در بافت های نرمال کنترل محاسبه گردید.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-08]

[DOI: 10.29252/sjimu.25.3.138]

بحث و نتیجه‌گیری

سرطان، رشد کنترل نشده ی سلول هایی است که قادر به دریافت پیام توقف رشد نیستند؛ بنا بر این، مهم ترین هدف سلول های سرطانی تکثیر شدن است. سلول های نرمال دارای یک چرخه ی تقسیم، پیری و در نهایت انتخاب شدن برای مرگ هستند اما سلول - های سرطانی قادرند این چرخه ی نرمال را کنار گذاشته و به رشد خود ادامه دهند. مکانیسم های زیادی وجود دارند که می توانند به رشد کنترل نشده ی سلول ها کمک کنند. یکی از این مکانیسم ها وراثت می باشد(۱۰).

برخی از افراد به دلیل اختلالات ژنتیکی مستعد ابتلاء به سرطان هستند. با این حال، وراثت تنها دلیل ایجاد این نا هنجاری های ژنتیکی نمی باشد. از آن جا که شرایط و محیط زندگی انسان ها به صورت استریل و عاری از هر گونه عوامل بیماری زا و حمله های محیطی نمی باشد، ممکن است ساختار ژنتیکی سلول ها در اثر عوامل محیطی نظیر تابش پرتو، مواد شیمیایی، مصرف الکل و غیره تحت تاثیر قرار گیرد (۱۱).

اختلال بیان ژن *BIF-1* در سلول های سرطانی، در مقایسه با بافت سالم مجاور، در بسیاری از انواع سرطان از جمله سرطان کولورکتال (۸)، پروستات (۱۲)، سرطان لوزالمعده (۱۳)، سرطان مهاجم مثانه (۱۴) و سرطان معده (۱۵) مشاهده شده است.

نتایج ما نشان داد که ژن *BIF-1* به طور معنی داری در ۶۸ درصد از نمونه های بافت تومور پستانی در مقایسه با بافت نرمال پستان دچار کاهش بیان می‌باشد.

برخی از محققین به نتایجی شبیه نتایج مطالعه حاضر دست پیدا کرده اند، به عنوان مثال در مطالعه ای برای اولین بار گزارش شد که پروتئین *BIF-1* در ۱۷٪ (۳۳/۱۹۲ بیمار) از کل مبتلایان به سرطان پروستات مورد بررسی از نظر بیان خاموش گزارش شد. این یافته ها نشان دهنده فعالیت سرکوب گری تومور و طرفدار آپوپتوز بودن *BIF-1* است (۹). کاهش بیان BIF-۱ در سلول های اپیتلیال در سرطان معده بدخیم در مقایسه با سلولهای مخاط نرمال نشان می دهد که از دست رفتن بیان *BIF-1* ممکن است در تومور زایی معده به وسیله مهار آپوپتوز به واسطه *BIF-1* نقش بازی کند (۱۶).

از طرفی تاکاهاشی و همکاران در سال ۲۰۰۷ در یک مطالعه نشان دادند که سرکوب *BIF-1* در موش باعث ترویج پیشرفت تومور می شود (۱۶). هم چنین کاپولا و همکاران در مطالعه بررسی بیان *BIF-1* در سرطان کولون، نشان دادند که ژن *BIF-1* در ۲۲/۵٪ از مبتلایان به سرطان کولون بیان نشده بود اما در همه نمونه های نرمال، بیان ژن *BIF-1* مشهود بود و این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار بود(P=0.002) (۱۷). این یافته ها تایید کننده نتایج مطالعه حاضر است و در نهایت فعالیت سرکوب کنندگی *BIF-1* به وسیله افزایش آپوپتوزیس را تایید می‌کند.

یافته های حاصل از مطالعه حاضر نیز همسو با نتایج به دست آمده از مطالعه بررسی تغییر بیان این ژن بر روی بافت های سرطانی مختلف از جمله پروستات، معده و کولون می‌باشد.

با این حال نقش پیش‌آگهی دهندگی کاهش بیان *BIF-1* در بسیاری از سرطان های حاد هنوز در هاله ای از ابهام است. علاوه بر این، فن و همکاران گزارش کردند که بیان *BIF-1* در سلول های سرطانی کبد نسبت به بافت نرمال اطراف تومور بالا تر بوده و این با درجه پایین تمایز و بقاء (Survival) مرتبط گزارش شد (۶).

در مطالعه بیان *BIF-1* در سلول های سرطانی کبد نسبت به بافت نرمال اطراف تومور در بیماران مبتلا به سرطان کبد توسط فن و همکاران، مشاهده شد که بیمارانی که دارای شدت بالای بیان *BIF-1* بودند در مقایسه با بیمارانی که بیان *BIF-1* در آنها پایین گزارش شده بود، مدت زمان زنده ماندنشان کوتاه‌تر است و این خود بیانگر این موضوع است که میزان بیان *BIF-1*، با زمان بقاء در ارتباط است (۱۸). این نتایج متناقض ممکن است به دلیل پیچیدگی عملکرد های بیو لوژیک ناشی از *BIF-1*باشد (۹).

متاسفانه مطالعات محدودی در زمینه بررسی کمی میزان بیان *BIF-1*/*انجام* شده است. در مطالعاتی هم که در رابطه با فعالیت *BIF-1* انجام شده است بعضا همه‌ی گزارشات در یک راستا نبوده و نتایج ضد و نقیضی گزارش شده است. در رابطه با نقش بیان ژن

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-08]

[DOI: 10.29252/sjimu.25.3.138]

BIF-1 در سرطان پستان اکثر مطالعاتی که در این زمینه صورت گرفته محدود به رده های سلولی سرطان پستان و نرمال بوده لذا در تحقیق حاضر بیان این ژن در بافت تومور و نرمال انسانی مورد بررسی قرار گرفت. راه های متعددی برای بررسی بیان ژن ها وجود دارد و اختلاف نظری هم که در گزارش های مختلف وجود دارد شاید به دلیل استفاده از روش های مختلف برای بررسی آن ها باشد. فقدان یک روش کمی مناسب برای تعیین میزان دقیق بیان ژن، مسئله مهمی است که باعث پدید آمدن اشکال در تفسیر داده ها می شود. روش های عمده بررسی بیان ژن ها عبارتند از: وسترن بلات, ایمونو هیستو شیمی, فلو سایتومتری, RT PCR وReal Time RT-PCR. برای بررسی بیان ژن ها در نمونه های بالینی بیماران ضرورت دارد که از یک روش حساس استفاده شود، زیرا بیان ژن ها در نمونه های بالینی کمتر از رده های سلولی می‌باشد.

با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه، تغییرات بیانی ژن *BIF-1* را می‌توان به عنوان یک بیو مارکر احتمالی مرتبط با سرطان پستان معرفی کرد. مطالعات آتی در جهت بررسی ارتباط میزان بیان این ژن با خصوصیات هیستو پاتولوژی و بالینی بیمار در ادامه تحقیقات حاضر انجام خواهد شد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از همکاری کلیه بیمارانی که از نمونه بافتی آنان در انجام این تحقیق استفاده شد و از سرکار خانم دکتر نفیسی جهت تامین نمونه های بافتی بیماران تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

References

1. Alberg AJ, Singh S, May JW, Helzlsouer KJ. Epidemiology, prevention, and early detection of breast cancer. Current Opinion Oncol 1997; 9:505-11.

2. Fonsecasanchez MA, Rodriguezcuevas S, Mendozahernandez G, Bautistapina V, Arechaga Ocampo E, et al. Breast cancer proteomics reveals a positive correlation between glyoxalase 1 expression and high tumor grade. Int J Oncol2012;41:670-80.

3. Harirchi I, Ebrahimi M, Zamani N, Jarvandi S, Montazeri A. Breast cancer in Iran a review of 903 case records. Public Health2000;114:143-5.

4. Mousavi SM, Montazeri A, Mohagheghi MA, Jarrahi AM, Harirchi I, Najafi M, et al. Breast cancer in Iran an epidemiological review. Breast J2013;13:383-91.

5. Artandi SE, Depinho RA. Telomeres and telomerase in cancer. Carcinogenesis2010;31:9-18.

6. Ko YH, Seokcho Y, Won HS, An HJ, Sun DS, Hong SU, et al. Stage stratified analysis of prognostic significance of bax interacting factor-1 expression in resected colorectal cancer. Biomed Res Int2013;2013:329839-46.

7. Runkle KB, Meyerkord CL, Desai NV, Takahashi Y, Wang HG. Bif-1 suppresses breast cancer cell migration by promoting EGFR endocytic degradation. Cancer Biol Therapy2012;13:10,956-66.

8. Coppola D, Khalil F, Eschrich SA, Boulware D, Yeatman T, Wang HG. Down regulation of bax-interacting factor-1 in colorectal adenocarcinoma. Cancer2008,113:2665-70.

9. Cuddeback SM, Yamaguchi H, Komatsu K, Miyashita T, Yamada M, Wu C, et al. Molecular cloning and characterization of Bif-1 a novel Src homology 3 domain-containing protein that associates with bax. J Biol Chem2001;276:20559-65.

10. Bishop MJ. The molecular genetics of cancer. Science1987;235:305-11.

11. Coley HM. Mechanisms and strategies to overcome chemotherapy resistance in metastatic breast cancer. Cancer Treat Rev2008; 34: 378-90.

12. Coppola D, Oliveri C, Sayegh Z, Boulware D, Takahashi Y, Pow-Sang J, Djeu JY, Wang HG. Bax-Interacting Factor-1 expression in prostate cancer. Clin Genit Cancer2008; 6:117-21.

13.Coppola D, Helm J, Ghayouri M, Malafa MP, Wang HG. Down-regulation of bax-interacting factor-1 in human pancreatic ductal adenocarcinoma. Pancreas2011;40:433-7.

14. Kim SY, Oh YL, Kim KM, Jeong EG, Kim MS, Yoo NJ, et al. Decreased expression of bax-interacting factor-1 in invasive urinary bladder and gallbladder cancers. Pathology2008;40:553-7.

15. Lee JW, Jeong EG, Soung YH, Nam SW, Lee JY, Yoo NJ, et al. Decreased expression of tumour suppressor bax-interacting factor-1 a bax activator in gastric carcinomas. Pathology 2013; 38:312-5.

16. Takahashi Y, Coppola D, Matsushita N, Cualing HD, Sun M, Sato Y, et al. Bif-1 interacts with Beclin 1 through UVRAG and

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-08]

[DOI: 10.29252/sjimu.25.3.138]

regulates autophagy and tumorigenesis. Nature Cell Biol 2007, 9:1142-51.
17. Coppola D, Khalil F, Eschrich SA, Boulware D, Yeatman T, Wang HG. Down regulation of bax-interacting factor-1 in colon cancer. Cancer2008;113:2665-70.
18. Fan R, Miao Y, Shan X, Qian H, Song C, Wu G, et al. Bif-1 is overexpressed in hepatocellular carcinoma and correlates with shortened patient survival. Oncol Let2012;3:851-4.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-08]

[DOI: 10.29252/sjimu.25.3.138]

BIF-1 Relative Gene Expression Study in Breast Cancer Tumor and Normal Adjacent Tissues using Real Time PCR

Mohammadi K[1], Salimi M[2], Angaji A[1], Mahjoubi F[2], Majidzadeh T[2]*

(Received: January 9, 2016 Accepted: July 11, 2016)

Abstract

Introduction: Breast cancer is a complex disease due to several biological Levels of genetic and epigenetic changes that ultimately alter the cellular processes including proliferation, apoptosis, angiogenesis and the acquisition of an invasive phenotype results. BIF-1 (BAX interacting factor) is a tumor suppressor gene which is involved in the regulation of mitochondrial membrane bends and containing BAR domains that mediate interaction with BAX. The aim of this study was to investigate the relative gene expression differences of *BIF-1* in human breast tumor compared with normal adjacent tissues using Real-Time PCR method.

Materials & methods: This case-control study was implemented on 50 tumour and normal adjacent tissue samples of breast cancer patients. The patients had referred to Milad and Khatam hospitals in 2014. After collecting the samples, total RNA was extracted from tissue by TriPure RNA isolation kit. The cDNA was synthesized from extracted RNA by Revert AID First strand cDNA synthesis kit. Finally the BIF-1 gene expression was analyzed in tumor and normal adjacent tissues using SYBR green Real-Time PCR.

Findings: Our results indicated that *BIF-1* was down regulated in 34 breast cancer patients which was statically significant (P=0.001). This lower mean of *BIF-1* gene expression in tumor tissues compared with normal adjacent ones confirmed its role as a tumor suppressor gene.

Discussion & conclusions: Due to the significant difference in *BIF-1* gene expression in breast tumor and normal tissue, this gene may candidate as a possible biomarker related to breast cancer.

Keywords: Breast cancer, Gene expression, BIF-1, Real Time PCR

1. Dept of Cell and Molecular Biology, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran
2. Dept of Medical Genetic, Institute of Medical Biotechnology, National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology, Tehran, Iran
** Correspondin author Email:*mkajaleh@gmail.com

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-08]

[DOI: 10.29252/sjimu.25.3.138]