مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی - مولکولی
دوره نهم ، شماره سی و سوم-زمستان ۱۳۹۷

Research Article
مقاله تحقیقی

بررسی مولکولی ژن‌های clbS و clbA در باکتری‌های *اشرشیاکلی* جداشده از بافت‌های توموری کولورکتال

ساجده سحری[۱]، شهلا محمد گنجی[۲*]، مجتبی سهرابی[۱]، عطیه سلیقه[۱]

۱ - گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم، قم،ایران
۲ - پژوهشکده بیوتکنولوژی پزشکی، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، تهران، ایران

چکیده:

مقدمه : برخی سویه‌های *اشرشیاکلی* که دارای مجموعه ژنی PKS (پلی‌کتاید سینتتاز) هستند، قادرند ژنوتوکسینی به نام کلی‌باکتین (Colibactin) را تولید کنند. کلی‌باکتین در باکتری‌های PKS مثبت با فعال شدن مسیر سیگنالینگ، باعث آسیب به DNA و در نتیجه گسترش تومور (مانند سرطان کولورکتال) می‌شود.
هدف از این مطالعه بررسی مولکولی ژن‌های clbS و clbA (دو ژن از ژن‌های جزیره ژنی PKS) در باکتری های *اشرشیاکلی* جدا شده از بافت‌های توموری کولورکتال است.

مواد و روش‌ها: بدین منظور۷۹ نمونه بیوپسی از بافت روده ۷۹ بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال، پس از اخذ پرسشنامه و رضایت‌نامه تهیه گردید. با روش‌های میکروبی و بیوشیمیایی باکتری اشرشیاکلی جداسازی و شناسایی شد. سپس سویه‌ها از نظر وجود ژن‌های clbA و clbS با روش PCR، ارزیابی شدند.

یافته‌ها: باکتری‌های اشرشیاکلی ایزوله شده از نظر تست‌های بیوشیمیایی موتیلیتی، متیل رد، اندول و تی اس آی مثبت و برای تست‌های سیترات و اوره منفی بودند. نتایج آزمایش PCR نشان داد از بین ۷۹ سویه مورد بررسی، در ۶۶/۶ ٪ افراد نرمال، ۴۰/۹ ٪ از بیماران مبتلا به التهاب روده بزرگ و ۵۹٪ از مبتلایان به سرطان کولورکتال *حضور ژن ویرولانس* clbA و هم‌چنین در ۵۰ ٪ افراد نرمال و بیماران التهاب روده بزرگ و ۵۸/۶۲٪ مبتلایان به سرطان کولورکتال *حضور ژن ویرولانس* clbS مثبت بود. هم‌چنین ۲۷/۸٪ نمونه‌ها، واجد هر دو ژن (clbA/clbS) بود.

بحث: هر دو ژن clbS و clbA جزء ژن‌های ضروری جزیره ژنی PKS هستند. با توجه به نتایج به‌دست آمده و اهمیت کلی‌باکتین و رابطه آن با ایجاد سرطان کولورکتال، مطالعه کامل‌تر در این زمینه ضروری به‌نظر می‌رسد.

واژه‌های کلیدی: سرطان کولورکتال، اشریشیاکلی، ژن‌های clbA و clbS، کلی‌باکتین.

مقدمه

سرطان کولورکتال بیماری است که چندین فاکتور در ابتلا به آن نقش دارند که یکی از مهم‌ترین آن‌ها ابتلا به عفونت‌های باکتریایی است (۱). طی عفونت با نوع خاصی از باکتری اشرشیاکلی در افراد مبتلا به سرطان کولورکتال، به‌علت از بین رفتن سد اولیه دفاعی سلول‌های اپی‌تلیال روده به‌راحتی به بافت روده دسترسی پیدا کرده و با استفاده از التهاب موجود، شرایط فلور میکروبی روده را برای پاتوژنز خود مهیا می‌کند (۷). یکی از باکتری‌های فلور میکروبی روده بزرگ، اشرشیاکلی است که سویه‌های خاصی از این باکتری می‌توانند عامل میکروبی سرطان روده بزرگ شود. این سویه‌ها واجد توالی

نویسنده مسئول:
پژوهشکده بیوتکنولوژی پزشکی، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، تهران، ایران
پست الکترونیکی: shahlamg@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۴/۱۸
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۴/۵

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-06-27]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1397.9.33.5.9]

حفاظت شده‌ای به نام جزایر ژنی PKS (پلی‌کتاید سنتز) هستند. پلی‌کتایدها دسته‌ای از متابولیت‌های ثانویه بوده که دارای خاصیت‌های متنوعی از جمله خاصیت دارویی است. پلی‌کتاید به‌همراه پپتید غیرریبوزومی تشکیل هیبرید می‌دهند و باعث تولید ژنوتوکسینی به نام کلی‌باکتین (Colibactin) می‌شوند. هر دو نوع باکتری کومنسال و پاتوژن اشرشیاکلی در روده بزرگ یافت شده است. کلی‌باکتین در باکتری‌های انتروباکتریاسه دیده شده است (۱۴). کلی‌باکتین در باکتری-های واجد ژن PKS، بافعال شدن مسیرسیگنالینگ، باعث آسیب به DNA دو رشته‌ای شده و متعاقب آن منجر به جهش‌های ژن، بی‌ثباتی کروموزومی وپیری زودرس و در نهایت تومورزایی در نتیجه گسترش تومور (مانند سرطان کولورکتال) و تشدید لمفوپنیا در مدل‌های حیوانی می‌شود (۱۶). از بین ژن‌های این جزیره ژنی، دو ژن clbA و clbS برای بررسی در این تحقیق مورد بررسی قرار گرفت.

ژن clbA جـــزء منطقـــه ژنی PKS بوده که آنزیم فسفوپنتیل ترانسفراز را کد می‌کند. این آنزیم برای تولید ژنوتوکســین از PKSو NRPS ضروری است. آزمایش‌ها نشـان می‌دهد، مـوش‌هـای آلوده شده بـا سـوش‌هـای دارای جهـش ژنـی در clbA سطح H2AX طبیعی دارند در حالی‌که سطح H2AX در کولون موش‌های آلوده به سوش‌های اشرشیاکلی واجـد ژن clbA سه برابر سطح طبیعـی H2AX است.

clb S برای ژنوتوکسیتی +E.coli PKS وبرای سنتز کلی باکتین یا trafficking لازم نیست. ولی برای سلامتی باکتری تولید کننده ژنوتوکسین ضروری است. ویژگی پیوند پروتئین clbS به دارو، فعال‌سازی پاسخ SOS، فنوتیپ خود-سمیت و افزایش حساسیت جهش uvrb در پیش‌زمینه clbS و حفاظت سلول‌های HELA بیان کننده GFP-clbS از این فرضیه حمایت می‌کند که clbS پروتئین مقاومت کلی‌باکتین است.

Kunzman و همکارانش در سال ۲۰۱۲ به فعالیت استراز، پپتیداز یا پروتئاز در پروتئین clbS پی بردند و نشان دادند که clbS مانند پروتئین پنهان کننده کلی‌باکتین عمل می‌کند و عملکرد حفاظت کننده clbS مخصوص کلی‌باکتین است (۱۰). هدف از این تحقیق، بررسی مولکولی ژن‌های clbS و clbA (دو ژن از ژن‌های جزیره ژنی PKS و تولیدکننده کلی‌باکتین) در باکتری‌های اشرشیاکلی جدا شده از بافت-های توموری کولورکتال است و گروه تحقیقاتی حاضر، برای اولین بار این ارتباط را بر روی جمعیت ایرانی مبتلا به سرطان روده بزرگ بررسی نمود.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه ها و جداسازی اشرشیاکلی

با توجه به شیوع سرطان کولورکتال در ایران، و مشاوره با متخصص آمار زیستی، مقرر شد حداقل ۳۰ نمونه از بیماران ایرانی مورد آزمایش قرار گیرد. بنابراین در این پروژه تحقیقاتی، ۶ نمونه نرمال و۴۴ نمونه بیماری التهابی روده بزرگ (بیماری التهابی روده بزرگ شامل پولیپ، کولیت اولسراتیو و کرون دیزیز) از مرکز کولونوسکوپی بیمارستان شهید بهشتی استان قم و با تأیید تست‌های پاتولوژی وکلینیکی جمع‌آوری گردید. هم‌چنین تعداد ۲۹ نمونه از افراد مبتلا به سرطان کولون با تأیید تست‌های پاتولوژیک از مرکز کولونوسکوپی بیمارستان شهید بهشتی و بیمارستان ولیعصر قم و بیمارستان امام تهران تهیه گردید. نمونه‌ها بیوپسی کولون بود که در افراد ابتلا به سرطان کولون این نمونه از محل تومور تهیه گردید و در سریع‌ترین وقت ممکن در روی یخ در میکروتیوپ استریل شده حاوی بافر فسفات به آزمایشگاه دانشگاه آزاد واحد قم منتقل گردید. جهت جمع‌آوری نمونه تازه، پس از هماهنگی با مسئولین بیمارستان‌های اشاره شده، فرم‌های پرسش‌نامه طرح تحقیقاتی و رضایت‌نامه توسط بیماران تکمیل و امضا شد و در کمیته اخلاق پزشکی آن مرکز تصویب شد.

برای جداسازی باکتری اشرشیاکلی از بافت روده بزرگ بیماران محیط‌های کشت مغذی از جمله محیط، LB broth و افتراقی برای باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسه، EMB Agar و محیط‌های بیوشیمیایی از جمله Urea agar، IMViC، TSI و بافر PBS جهت شستشوی اولیه قسمتی از بافت مورد استفاده قرار گرفت. تمامی محیط‌های کشت از شرکت MERCK آلمان خریداری شده بود .

هر نمونه در شرایط استریل و در زیر هود آزمایشگاهی با کمک اسکالپل به دو قسمت تقسیم شد. یک قسمت در درون ارلن حاوی ۵ ml محیط LB broth و دیگری در ارلن حاوی ۵ ml بافر PBS ریخته شد و به‌مدت ۲۴ساعت در انکوباتور شیکردار

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-06-27]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1397.9.33.5.9]

در دمای ۳۷ درجه سیلسیوس گرماگذاری شد. بعد از ۲۴ ساعت نمونه‌ها بیرون آورده شد و تعین رقت در محیط‌های حاوی ml ۹ بافر PBS انجام گرفت. سپس براساس پروتکل میکروبی از تمامی رقت‌ها نمونه بر روی محیط افتراقی مک کانکی آگار برده شد به‌صورتی‌که هنگامی که محیط به دمای ۴۵ درجه سیلسیوس رسید از محیط حاوی باکتری به میزان ml ۱ درون پلیت ریخته و بعد محیط را به آن اضافه کرده و در جهت عقربه‌های ساعت پلیت چرخانده می‌شود تا محیط به‌طور کامل پخش شود سپس به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سیلسیوس گرماگذاری انجام گرفت .

پس از رنگ‌آمیزی گرم، کشت ۴ مرحله‌ای باکتری‌ها بر روی محیط افتراقی EMB انجام و به‌مدت ۲۴ساعت در دمای۳۷ درجه سیلسیوس گرماگذاری شد تا باکتری اشرشیاکلی ایزوله شود.

بعد از جداسازی و خالص‌سازی باکتری تست‌های بیوشیمیایی TS I،IMViC و اوره برای باکتری مورد نظر انجام گرفت و پس از شناسایی به‌روش بیوشیمیایی یک پلیت کامل حاوی کشت تازه باکتری به درون ml ۵ محیط LB broth تلقیح کرده و به‌مدت ۲۴ساعت در دمای ۳۷ درجه سیلسیوس گرماگذاری شد. سپس µL ۷۵۰ گلیسرول استریل به فالکون‌های حاوی باکتری خاص شده اضافه گردید و به درون ویال‌های استریل انتقال یافت و در فریزر ۲۰- درجه سیلسیوس جهت نگهداری ذخیره گردید.

استخراج DNA از نمونه‌ها

پس از تلقیح باکتری‌ها در ml ۵ محیط مایع BHI و پس از گرماگذاری به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷°C استخراج DNA از باکتری‌ها براساس دستورالعمل کیت شایان انجام شد. کیفیت DNA استخراج شده توسط الکتروفورز بر روی ژل آگاروز ۱٪ بررسی شد و کمیت آن‌ها توسط اسپکتروفتومتری در طول موج‌ها ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر ارزیابی گردید. در نهایت DNA استخراج شده از باکتری‌ها در فریزر ۲۰°C- ذخیره شد.

واکنش مولکولی PCR

پس از طراحی پرایمر اختصاصی برای ژن‌های*clbA* و *clbS* (مطابق جدول۱) و سفارش سنتز به شرکت کیاژن، آزمایش PCR برای DNAهای استخراج شده از نمونه‌ها انجام شد. تکثیر ژن با حجم نهایی ۸ میکرولیتر برای هر مخلوط واکنش بود. مواد مورد نیاز برای انجام این آزمایش به‌شرح زیر است: پرایمرهای clbS R، clbS F، clbA R،clbA F (۱۰ میکروگرم از هریک)، DNA (۱۰۰ نانوگرم)، Master mix DreamTaq از شرکت Fermentase Ca (مطابق دستور کار کیت) و آب مقطر استریل تا حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر. پرایمرها از طریق شرکت ژن فن‌آوران توسط شرکت سنتز شد. جهت بررسی و تکثیر ژن clbA میکروتیوب‌ها در ترموسیکلر Techno انگلستان گذاشته شد و در ادامه طبق برنامه فرآیند PCR انجام گرفت. برای این منظور دناتوراسیون اولیه DNA در دمای ۹۴درجه سیلسیوس به‌مدت ۵ دقیقه، سپس جهت تکثیر ژن هدف طی ۳۵ چرخه، در هر چرخه دناتوراسیون دمای ۹۴ درجه سیلسیوس به‌مدت ۱ دقیقه، اتصال پرایمرها دمای ۵۷ درجه سیلسیوس به‌مدت ۱ دقیقه و طویل شدن دمای ۷۲ درجه سیلسیوس به‌مدت ۱دقیقه انجام پذیرفت و در انتها جهت طویل شدن نهایی دمای ۷۲ درجه سیلسیوس به‌مدت ۵ دقیقه در نظر گرفته شد.

برای ژن clbS جهت انجام دناتوراسیون اولیه دمای ۹۴ درجه سیلسیوس به‌مدت ۵ دقیقه، سپس جهت انجام دناتوراسیون هر چرخه دمای ۹۴درجه سیلسیوس به‌مدت ۱ دقیقه، اتصال پرایمرها دمای ۵۵ درجه سیلسیوس به‌مدت ۱ دقیقه و طویل شدن دمای ۷۲ درجه سیلسیوس به‌مدت ۱دقیقه هرسه ۳۵ سیکل و جهت طویل شدن نهایی دمای ۷۲ درجه سیلسیوس به‌مدت ۵ دقیقه در نظر گرفته شد. پس از انجام آزمایش PCR ، محصول‌های بر روی ژل آگاروز ۱٪ بررسی شد. نتایج این مطالعه با آزمون آماری t-Test مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و در صورتی P-Value معنادار درنظر گرفته شد که ($p<0.05$) بود.

جدول ۱: جدول توالی پرایمر ژن‌های clbS،clbA

نام پرایمر	سکانس	طول قطعه
clbA _F	CTAGATTATCCGTGGCGATTC	1002 bp
clbA_R	CAGATACACAGATACCATTCA	
_F ClbS	TTATCCTGTTAGCTTTCGTTC	821 bp
ClbS_F	TTGTATAGTTACACAACTATTTC	

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-06-27]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1397.9.33.5.9]

یافته‌ها

در این مطالعه ۷۹ نمونه بیوپسی مورد بررسی قرارگرفت که ۷/۵٪ نمونه‌ها را افراد نرمال تشکیل می داد و به‌ترتیب ۳۶/۷٪ و ۵۵/۱٪ نمونه‌ها مربوط به مبتلایان به سرطان کولورکتال و مبتلایان به بیماری التهابی روده بزرگ (بیماری التهابی روده بزرگ شامل پولیپ، کولیت اولسراتیو و کرون دیزیز) را تشکیل می‌دهد.

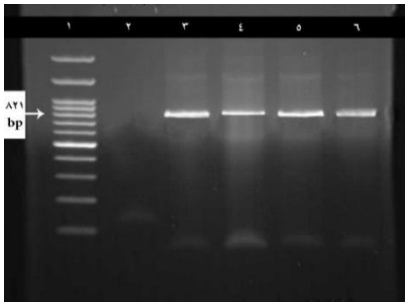
نتیجه بررسی مولکولی

تجزیه و تحلیل واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR) برای ژن ویرولانس clbS نشان داد که از بین ۷۹ سویه مورد بررسی در ۵۰٪ از سویه‌های جدا شده از بافت نرمال و نیز ۵۰ ٪ از سویه‌های جدا شده از بیماری التهابی روده بزرگ و ۵۸/۶۲٪ در سویه‌های جدا شده از بافت مبتلا به سرطان کولورکتال، ژن فوق وجود دارد. بررسی‌های آماری نشان داد که بین گروه‌های مورد بررسی از لحاظ وجود ژن clbS اختلاف معناداری وجود ندارد (p=0.5).

نتیجه بررسی‌های آزمایشگاهی الکتروفورز محصول‌های واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR) با پرایمر اختصاصی ژن clbS بر روی ژل آگارز ۱٪ در تصویر شماره (۳-۲) نشان داده شده است. در صورتی‌که اندازه باند ۸۲۱bp باشد، نشان دهنده این است که نمونه مورد نظر واجد ژن clbS است (شکل ۱).

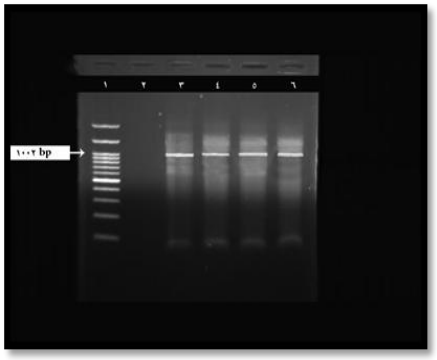
نتیجه بررسی‌های آزمایشگاهی الکتروفورز محصول‌های واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR) با پرایمر اختصاصی ژن clbA بر روی ژل آگارز ۱٪ در شکل ۲ نشان داده شده است. در صورتی‌که اندازه باند ۸۲۱ bp باشد، نشان دهنده این است‌که نمونه مورد نظر واجد ژن clbS است.

تجزیه و تحلیل آماری نشان داد که در این مطالعه، ۲۷/۸٪ نمونه‌ها، واجد هر دو ژن (clbA/clbS) هستند .از آن‌جا که این دو ژن جزو ژن‌های ضروری جزیره ژنی PKS هستند، مطالعه بیش‌تر و تکمیلی برای این نمونه‌ها ضروری به‌نظر می‌رسد. زیرا همکاری ژن‌های موجود در جزیره ژنی PKS است که باعث تولید و ترشح کلی باکتین می‌شود.



شکل۱: الگوی وجود ژن clbs در سویه‌های اشرشیاکلی جدا شده از نمونه‌های بافتی بیماران بر روی ژل آگارز ۱٪ به‌ترتیب از چپ به راست: چاهک ۱: مارکر مولکولی(bp ۱۰۰ از شرکتSinaclone). چاهک ۲: کنترل منفی (میکروتیوب واجد همه موادها و فاقد DNA). چاهک۳: کنترل مثبت. چاهک‌های ۴-۶: سه سویه واجد ژن clbs که از بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال جدا شده بود. اندازه باند مورد نظر، bp ۸۲۱ است.

تجزیه و تحلیل واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR) برای ژن ویرولانس *ژن ویرولانس* clbA نشان داد که از بین ۷۹ سویه مورد بررسی، در ۶۶/۶ ٪ افراد نرمال، ۴۰/۹٪ از بیماران مبتلا به التهاب روده بزرگ و۵۹ ٪ از مبتلایان به سرطان کولورکتال *حضور ژن ویرولانس* clbA مثبت بود.



شکل۲- الگوی وجود ژن clbA در سویه‌های اشرشیاکلی جدا شده از نمونه‌های بافتی بیماران بر روی ژل آگارز ۱٪ به‌ترتیب از چپ به راست: چاهک ۱: مارکر مولکولی (bp۱۰۰ از شرکت Sinaclone)، چاهک ۲: کنترل منفی (میکروتیوب واجد همه موادها و فاقد DNA). چاهک ۳: کنترل مثبت. چاهک‌های ۴-۶: سه سویه واجد ژن clbA که از بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال جدا شده بود. اندازه باند مورد نظر، است.

بحث

مطالعه‌های اخیر ارتباط ترکیب میکروبی روده و سرطان را به خوبی تأیید می‌کند. از آنجا که باکتری اشرشیاکلی رایج‌ترین علت عفونت مجاری ادراری (urinary tract infections) است و اولین بار Esherich در ۱۸۸۵ توصیف کرد که اشرشیاکلی یا باکتریوم کلای یا باسیل روده بزرگ، باسیل گرم

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-06-27]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1397.9.33.5.9]

منفی، متعلق به انتروباکتریاسه است. به‌طور گسترده در روده افراد و حیوانات است و بی‌هوازی اختیاری غالب در روده است.

مطالعه‌ها نشان داده است در بیماری‌های التهابی روده بزرگ (Inflammatory bowel disease)، روابط هم‌زیستی میزبان و فلور میکروبی شکست می‌خورد و حتی سابقه احتمال ابتلا به سرطان کولورکتال (colorectal cancer) نیز دیده شده است. گرچه مکانیسم دقیق التهاب روده‌ای که منجر به سرطان کولورکتال می‌شود ناشناخته است، لیکن التهاب کرون می‌تواند منجر به تجمع باکتری‌های ترویج کننده سرطان شود که یک تغییر بزرگ در میکروبیوتا ایجاد می‌کند (۴).

kavas Romass و همکارانش در سال ۲۰۱۰ نشان دادند توکسین کلی‌باکتین در سویه‌های باکتری (+clb) باعث شکست DNA دو رشته‌ای شده و در نهایت منجر به جهش‌های ژن، بی‌ثباتی کروموزومی و پیری زودرس و در نهایت هدایت به سمت تومورزایی در نتیجه گسترش تومور (مانند سرطان کولورکتال) و تشدید lymphopenia در مدل‌های حیوانی می‌شود.

Arthur و همکارانش در سال ۲۰۱۲ طی تحقیقاتی که بر روی سویه اشرشیاکلی NC101 جدا شده از روده به‌منظور بررسی ارتباط بین PKS Island و بیماری‌های IBD و CRC انجام دادند متوجه شدند از میان ۳۵ نمونه IBD و ۲۱ نمونه CRC و ۲۴ نمونه که از لحاظ بیماری‌های التهابی روده و سرطان کولورکتال سالم بودند و به‌عنوان نمونه کنترل در نظر گرفته شدند حدود ۲۰/۸٪در نمونه‌های کنترل و۴۰٪ در نمونه‌های بیماری IBD و ۶۶/۷٪ از نمونه‌های CRC دارای محدوده‌های ژنومی PKS هستند (۲).

طی مطالعه‌ای که Prorok-Hamon و همکارانش در سال ۲۰۱۳ بر روی سویه‌های اشرشیاکلی تولید کننده ژنوتوکسین و سیکلوماژولین در سرطان کولون انجام دادند به این نتیجه رسیدند که سویه‌های تولید کننده ژنوتوکسین کلی‌باکتین با فراوانی بالاتری در سرطان کولون حضور دارد که متعلق به گروه B2 فیلوژنی است (۱).

Dalmasso و همکارانش در سال ۲۰۱۴ نشان دادند که ژنوتوکسین کلی‌باکتین باعث شکسته شدن دو رشته DNA و افزایش فسفوریلاسیون هیستون H2AX در سلول‌های انتروسیت موش می‌گردد. هیستون H2AX به‌عنوان نشانگر حساس برای شکست دو رشته DNA محسوب می‌شود (۵).

مطالعه‌های Dastjani Farahani و همکارانش درسال ۲۰۱۵ نشان داد، عفونت با نوع خاصی از باکتری اشرشیاکلی در افراد مبتلا به بیماری‌های التهابی روده، به‌خصوص کولیت اولسراتیو، می‌تواند باعث شروع سرطان کولورکتال شود. این باکتری‌ها با استفاده از التهاب موجود، شرایط فلور میکروبی روده را برای پاتوژنز خود مهیا می‌کنند. باکتری با تولید توکسین ترشحی کلی‌باکتین که به‌عنوان متابولیت ثانویه باکتری مطرح است، با اختلال در سیکل سلولی باعث شروع، پیشرفت و توسعه سرطان کولورکتال می‌گردد (۷).

Nougayrède و همکارانش، در ادامه تحقیقاتشان بر روی خوشه ژنی PKS پی بردند ClbS برای ژنوتوکسیتی باکتری اشرشیاکلی با جزایر PKS لازم نیست. ایشان هم‌چنین نشان دادند که ClbS اشریشیاکلی یک پروتئین مقاومت در کلی‌باکتین است (۱۳).

در خصوص بررسی مولکولی ژن‌های خوشه ژنی PKS، مطالعه‌هایی در خارج از کشور و ایران انجام شده است. از جمله مطالعه‌های انجام شده در ایران می‌توان به مقاله‌های منتشره توسط گروه تحقیقاتی ما اشاره کرد که به‌اختصاص بر روی ژن‌های clbB و clbN کار شده است (۷).

اما در خصوص بررسی مولکولی ژن‌های clbS و clbA بر روی باکتری‌های *اشرشیاکلی* جداشده از بافت‌های توموری کولورکتال، این تحقیق اولین مطالعه در ایران است.

در این مطالعه مشخص شد که ۲۷/۸٪ نمونه‌ها، واجد هر دو ژن (clbA/clbS) هستند. از آن‌جا که این دو ژن جزو ژن‌های ضروری جزیره ژنی PKS هستند، مطالعه بیش‌تر و تکمیلی برای این نمونه‌ها ضروری به‌نظر می‌رسد. زیرا همکاری ژن‌های موجود در جزیره ژنی PKS است که باعث تولید و ترشح کلی‌باکتین می‌شود.

در این مطالعه وجود ژن clbA در نمونه‌های باکتری با فراوانی معنی‌داری تأیید شد. با دانستن نقش مهم و کلیدی این ژن‌ها در بیماری‌زایی سویه‌های ایجاد کننده در عفونت‌های روده و ایجاد التهاب و سرطان کولورکتال و با وجود هزینه‌های زیادی که هر ساله برای درمان این نوع عفونت‌ها بر جامعه و خانواده

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-06-27]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1397.9.33.5.9]

تحمیل می‌شود می‌توان طراحی واکسن علیه این بیماری را پیشنهاد نمود.

مشکلات تهیه بافت تازه روده انسانی وکوچک بودن جامعه آماری، مشکلاتی که باعث تکمیل ناقص پرسشنامه ها شد (مانند بدحال بودن بیمار، کم اطلاعی یا بی اطلاعی بیمار و همراه و...) از جمله محدودیت هایی بودند که با آن مواجه شد.

سپاسگزاری

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از متخصصین گوارش بیمارستان شهید بهشتی استان قم، آقایان دکتر سرکشیکیان، دکتر محمدرضا قدیر، دکتر پزشکی، دکتر ایرانی خواه و جراح بیمارستان ولیعصر استان قم آقای دکتر علی بزم و از آقای دکتر امینی و همکاران در کلینیک گوارش بیمارستان بقیه ا... (عج) و نیز مسئولان محترم تومور بانک ایران واقع در بیمارستان امام خمینی تهران جهت همکاری ارزشمندشان در تهیه نمونه‌های بیوبسی از بیماران و افراد نرمال، سپاسگزاری نمایند.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-06-27]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1397.9.33.5.9]

منابع

1.Antunes LCM, M. J., Schroeter K, Carlucci C, Ferreira RBR, Wang M, et al (2014). "Antivirulence Activity of the Human Gut Metabolome." mBio.
2.Arthur JC, P.-C. E., hlbauer M, Tomkovich S, Uronis JM, Fan T-J, et al (2010). "Intestinal Inflammation Targets Cancer-Inducing AcΘvity of the Microbiota." Science October 5 338(6103):120- 3.
3.Bian x, P. A., Zhang Y, Muller (2015). "Two more pieces of the colibactin genotoxin puzzle from Escherichia coli show incorporation of an unusual 1-aminocyclopropanecarboxylic acidmoiety." Chem. Sci 6, 3154.
4.Cuevas-Ramos G , P. C., Marcq I, Boury M, Oswald E, Nougayrède J-P (2010). "Escherichia coli induces DNA damage in vivo and triggers genomic instabilityin mammalian cells." Proceedings of the National Academy of Sciences 107(25):11537-542.
5.Dalmasso G, C. A., Delmas J, Darfeuile Michaud A and Bonnet (2014). "The bacterial genotoxin colibactin promotes colon tumor growth by modifying the tumor microenvironment." Gut Microb 5, 675.
6.Dehghani M, Hafezi N, Vojdani R, Ramzi M, Karimi M, Nourani H, et al. Hematologic Toxicities in Colorectal Cancer Patients who Received FOLFOX4. Middle East Journal of Cancer. 2015;6(3):171-7.
7.Fariba Dastjani Farahani , M. S., Shahla Mohammad Ganji (2015). "Study of relationship between a strain of E.coli and colorectal cancer." Iranian Journal of Medical Microbiology 9.
8.Guerra L, G. R., Frisan T (2011). " bacterial genotoxins contribute to chronic inflammation, genomic instability and tumor progression? ." Febs Journal 278(23):4577-588.
9.Haggar FA, B. R. (2009). "Colorectal cancer epidemiology: incidence, mortality, survival, and risk factors." Clin Colon Rectal Surg 22(4):191-7.
10.Kunzman M.H., a. S. S. A. (2012). "Target analysis of α-alkylidene-γ-butyrolactones in uropathogenic E. coli." Mol Biosyst 8: 3061–3067
11.Maelle Prorok-Hamon, M. K. F., Abdullah Alswied, Carol L Roberts,Fei Song, Paul K Flanagan, Paul Knight, Caroline Codling, Julian R Marchesi, Craig Winstanley, Neil Hall, Jonathan M Rhodes, Barry J Campbell (2013). "Colonic mucosa-associated diffusely adherent afaC+ Escherichia coli expressing lpfA and pks are increased in inflammatory bowel disease and colon cancer." Gut microbiota.
12.Moradi A, K. M., Guya MM, Mirzaei HR, Salmanian R, Rakhsha A, et al (2009). "Survival of colorectalcancer in Iran." Asian Pac J Cancer Prev 10(4):583-86.
13.Nougayrède JP, D. D., Petit C, Tronnet S, Martin P, Bonnet R, Oswald E, Bossuet-Greif N (2015). "Escherichia coli ClbS is a colibactin resistance protein." Molecular Microbiology 13272.
14.Nougayrède J-P, H. S., Taieb F, Boury M, Brzuszkiewicz E, Gottschalk G, et al (2006). "Escherichia coli induces DNA double-strand breaks in eukaryotic cells." Science 313(5788):848-51.
15.Nougayrede JP, P. C., Oswald E. Role of genotoxic bacteria in colorectal cancer (2013). "Role of genotoxic bacteria in colorectal cancer." Revue Francophone Des Laboratoires 10.1016/S1773-035X (13)72226-3.
16.Nowruz Najafzadeh, B. E., Maryam Dastan Imcheh (2015). "Hair follicle stem cells: In vitro and in vivo neural differentiation." world J stem cells 7(5): 866–872.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-06-27]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1397.9.33.5.9]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1397.9.33.5.9]
[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-06-27]