فصلنامه علمی - پژوهشی گیاه و زیست بوم
سال ۱۰، شماره ۴۱، زمستان ۱۳۹۳

بررسی خصوصیات ساختاری و تاثیرات ضد سرطانی پلی ساکارید استخراج شده از سیانو باکتری‌های *Nostoc* sp. ISC101 و *Nostoc* sp. ISC26 بر روی رده سلولی لنفوبلاستویید (LCL)

مریم هواس بیگی[۱]، مهروز دزفولیان[۱*]، ندا سلطانی[۲] و فاضل الهی[۳]

چکیده

در سال‌های اخیر نرخ بیماری سرطان افزایش یافته است. تحقیقات وسیعی به منظور یافتن مواد موثر با تاثیرات ضد سرطانی در حال انجام می باشد. در این زمینه فعالیت ضد سرطانی پلی ساکاریدهای استخراج شده از میکروارگانیسم‌های مختلف بسیار مورد مطالعه قرار گرفته است، اما در خصوص اثرات ضد سرطانی پلی ساکارید سیانوباکتری‌ها تحقیقات چندانی صورت نگرفته است. پلی ساکارید سیانوباکتری‌ها دارای ویژگی‌های بارزی نسبت به پلی ساکارید دیگر میکروارگانیسم‌ها می‌باشند. در این مطالعه دو گونه سیانوباکتری به نام‌های *Nostoc* sp. ISC101 و *Nostoc* sp. ISC26 در محیط $BG11_0$ کشت شدند. پلی ساکاریدهای *Nostoc* sp. ISC101 و *Nostoc* sp. ISC26 استخراج گردید. ساختار پلی‌ساکاریدهای استخراج شده به وسیله طیف سنجی مادون قرمز و کیفیت آن ها به وسیله اسپکتروسکوپی و الکتروفورز بر روی ژل آگارز بررسی شد. اثرات ضد سرطانی پلی ساکاریدهای استخراج شده بر روی رده سلول‌های لنفوبلاستویید به وسیله روش MTT اندازه‌گیری شد. نتایج نشان دادند که هر دو پلی ساکارید به طور معنی‌داری دارای اثرات ضد سرطانی بر روی رده سلولی LCL می‌باشند و تاثیرات ضد سرطانی آن‌ها بستگی به میزان دوز پلی ساکارید دارد.

واژه‌های کلیدی: پلی ساکارید، سیانوباکتری، لنفوبلاستویید، نوستوک

[۱] - دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج، گروه میکروبیولوژی، کرج، ایران
[۲] - پژوهشکده علوم کاربردی جهاد دانشگاهی، گروه میکروبیولوژی نفت .تهران. ایران
[۳] - دانشگاه علوم پزشکی تهران، مجتمع بیمارستانی امام خمینی. تهران ایران
* مکاتبه کننده: (mehrdezfulian@yahoo.com)

تاریخ دریافت: تابستان ۹۲ تاریخ پذیرش: بهار ۹۳

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

در دهه‌های اخیر تعداد موارد تشخیص داده شده سرطان به طرز قابل توجهی افزایش یافته است. هر چند دست آوردهای بسیاری در زمینه درمان بیماری سرطان صورت گرفته است، اما گسترش روزافزون این بیماری تحقیقات بیشتر در این زمینه را می‌طلبد. داروهایی که برای درمان سرطان تولید می‌شوند را می‌توان به دو دسته اصلی تقسیم کرد: داروهای سیتوتوکسیک و داروهای سیتواستاتیک هر دو گروه توانایی کاهش اندازه تومور ایجاد شده به وسیله سلول‌های سرطانی را دارند. داروهای سیتوتوکسیک از طریق تداخل در تکثیر DNA عمل می‌کنند از آنجایی که سلول‌های سرطانی به طور خیلی سریع در حال تقسیم هستند و DNA جدید سنتز می‌کنند، سلول‌های آسیب دیده از بین خواهند رفت (Schwartsmann etal., 2003).

تحقیقاتی در اوایل دهه ۱۹۵۰ انتشار یافت که در آن، تعداد زیادی سیانوباکتری گزارش شدند که قادر بودند پلی ساکارید خارج سلولی سنتز کنند، و در بعضی از موارد، آن را به محیط اطراف خود ترشح نمایند (Laurienzo,2010). در تحقیقات بعدی مشخص شد که پلی ساکاریدهای آزاد شده به وسیله سیانوباکتری‌ها در مقایسه با دیگر منابع میکروبی دارای ویژگی‌های خاصی هستند، از جمله این که آن‌ها دارای یک طبیعت آنیونیک می‌باشند، دارای ۲ نوع ارونیک اسید متفاوت در ساختارشان هستند و همچنین در اغلب موارد یک یا دو قند پنتوز در ساختارشان حضور دارد، که به طور معمول در پلی‌ساکاریدهای دیگر پروکاریوت‌ها دیده نمی‌شوند. به علاوه ساختار پلی‌ساکاریدها در سیانوباکتری‌ها بسیار پیچیده هستند و دارای ۶ یا حتی تعداد بیشتری منوساکارید می‌باشند. این خصوصیات به ندرت در پلیمرهای آزاد شده به وسیله گونه‌های متعلق به دیگر گروه‌های میکروبی مشاهده می‌شوند، که این امر بدون شک سبب می‌گردد که این پلی ساکاریدها دارای کاربردهای ویژه‌ای گردند که توجه بیشتر به این پلی ساکاریدها را می‌طلبد (Singh, 2011).

تاکنون بر روی اثرات سیتوتوکسیک پلی ساکاریدهای استخراج شده از میکروارگانیسم‌های مختلف مطالعات بسیاری انجام گرفته است، اما بر روی اثرات سیتوتوکسیک پلی ساکارید سیانوباکتری‌ها تحقیقات چندانی صورت نگرفته است Schwartsmann *etal* (2003) از طرفی تحقیقات صورت گرفته در رابطه با سیانوباکتری‌ها بیشتر به رفتارهای فیزیولوژیک و مورفولوژیک آن‌ها باز می‌گردد (Soltani *etal*., 2012; Iranshahi *etal*., 2013; Amirlatifi *etal*., 2013). با توجه به ویژگی‌های منحصر به فرد پلی ساکارید سیانوباکتری‌ها در تحقیق حاضر به طور مبسوط به بررسی اثر ضد سرطانی پلی ساکاریدهای جدا شده از دو گونه نوستوک بومی ایران پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها

۱-۱- معرفی سویه‌های استفاده شده‌دراین مطالعه

نمونه‌های سیانوباکتری نوستوک مورد نظر در این پژوهش به نام‌های *Nostoc* sp. ISC101 و *Nostoc* sp. ISC26، از مرکز ویژه کشت و تکثیر ریزجلبک‌ها واقع در پژوهشکده علوم پایه کاربردی جهاد دانشگاهی فراهم آمده است. نمونه‌ها به صورت کشت خالص و در محیط کشت مایع تحویل گرفته شدند. محل جمع‌آوری این نمونه‌ها نواحی جنوبی ایران بود.

Archive of SID

www.SID.ir

۱-۲-شرایط کشت

کشت نمونه‌های مورد نظر در ارلن ۲۵۰ میلی لیتری محتوی محیط کشت BG-11 بدون منبع ازت ($NaNO_3$) به مدت ۲ ماه انجام شد.شرایط محیط کشت عبارت بود از شدت نور ۳۰۰۰ الی ۶۰۰۰ لوکس، دمای ۲۰-۳۰ درجه سلسیوس، هوادهی ۲۴ ساعته محیط کشت به وسیله پمپ آکواریوم، در چنین شرایطی پس از گذشت زمانی به مدت ۲ ماه توده زیستی مناسبی برای انجام مراحل بعدی آزمایش‌ها فراهم آمد.

۱-۲-۱- عکسبرداری نمونه‌ها با میکروسکوپ SEM

پس از قرار دادن مقدار اندکی از سوسپانسیون نمونه نوستوک در روی صفحه مخصوص و خشک کردن آن در مجاورت هوا، سطح نمونه با غبار طلا پوشیده شد سپس ورقه‌ای از جنس مس در روی نمونه قرار گرفت و تصویربرداری از آن به انجام رسید.

۱-۲- سکانسینگ ناحیه 16sریبوزومی در ژنوم

به منظور تایید جنس نمونه‌های مورد مطالعه ابتدا با استفاده از کیت استخراج DNA ژنومی شرکت فرمنتاز DNA از نمونه‌های مورد مطالعه استخراج گردید. سپس با استفاده از پرایمرهای اختصاصی برای ناحیه 16S ریبوزومی تست PCR. انجام شد.

۱-۴-استخراج پلی ساکارید و تست‌های تایید پلی ساکارید استخراج شده

استخراج پلی ساکارید با استفاده از روش Mouhim (1993) انجام شد. استخراج پلی ساکارید تحت شرایط استریل و در زیر هود لامینار صورت گرفت. سپس به وسیله الکتروفورز بر روی ژل آگارز و رنگ‌آمیزی با رنگ تولوئیدن بلو و ایجاد لکه بنفش رنگ حضور پلی ساکارید برای هر دو نمونه تایید شد. مقدار پروتئین و اسید نوکلئیک نمونه‌ها با استفاده از روش اسپکتروفتومتری مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. برای میزان پروتئین میزان جذب نوری در طول موج‌های ۲۳۰ و ۲۸۰ نانومتر خوانده شد و برای اندازه گیری میزان اسید نوکلئیک جذب نوری در طول موج ۲۶۰ نانومتر مورد سنجش قرار گرفت.

۱-۵-طیف سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز

طیف سنجی مادون قرمز با استفاده از دستگاه Shimadzu (FT-IR prestige 21) و با تهیه قرص KBr انجام شد. طیف سنجی در محدوده $500\text{-}4000\ cm^{-1}$ انجام شد.

۱-۶- کشت و آماده سازی سلول های سرطانی

در این تحقیق از رده سلولی LCL (Lymphoblastoid cell line) استفاده گردید این سلول رده سلول‌های سرطانی B Cell می باشد که از بانک سلول انستیتو پاستور ایران تهیه گردید. برای کشت آن‌ها از محیط کشت (Roswell park Memorial Institue mediu) RPMI1640 شرکت Gibco به همراه ۱۰٪ FBS در دمای ۳۷ درجه سلسیوس و در شرایط ۰.۵ درصد CO_2 استفاده شد.

سلول‌های LCL کشت داده شده، با استفاده از روش استاندارد کشت و در شرایط به طور کامل استریل در زیر هود لامینار قبل از انتقال سلول‌ها به پلیت ۹۶ خان‌های شمارش سلول‌ها و تعیین درصد سلول‌های زنده با استفاده از رنگ تریپان بلو و شمارش به وسیله‌لام نئوبارانجام شد. سپس سلول‌های LCL به چاهک‌های پلیت ۹۶ خان‌های منتقل

Archive of SID
www.SID.ir

گردیدند. به هر چاهک به طور تقریبی ۸۰۰۰۰ سلول منتقل شد و حجم نهایی چاهک با اضافه کردن محیط کشت به ۲۰۰میکرولیتر رسانده شد. سپس پلیت را به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور دی اکسید کربن دار قرار داده شد.

۱-۷- تاثیر پلی ساکارید استخراج شده بر سلول‌های LCL

برای مطالعه تاثیر پلی ساکاریدهای استخراج شده بر روی سلول‌های LCL پلیت کشت شده در شرایط استریل در زیر هود لامینار مقادیر ۲.۵ ، ۵ ، ۱۰ ، ۲۵ ، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌لیتر/ میکروگرم از پلی ساکارید به صورت سه تکرار برای هر رقت بر روی سلول‌های کشت شده داخل چاهک‌ها اعمال شد سپس حجم نهایی هر چاهک با افزودن محیط کشت RPMI1640 و FBS10% به ۲۰۰ µl رسانده شد. برای هرکدام از نمونه‌های پلی ساکارید ۳ چاهک به عنوان کنترل در نظر گرفته شد که تنها محیط کشت RPMI1640 و FBS10% به آن ها افزوده شده بود و حجم نهایی آن‌ها نیز ۲۰۰ µl رسانده شد. سپس پلیت‌های آماده شده به مدت ۲۴ ، ۴۸ و یا ۷۲ ساعت داخل انکوباتور CO_2 دار نگهداری شد.

۱-۸- MTT Assay

برای تعیین میزان تکثیر سلول‌ها از روش سنجش کمی استفاده شد که در آن نمک زرد رنگ تترازولیوم Tetrazolium به وسیله آنزیم سوکسینیک دهیدروژناز میتوکندری متابولیزه شده و به فورمازان ارغوانی رنگ تبدیل می‌شود. محصول فورمازان تنهادر صورت سلامت میتوکندری‌ها ساخته می‌شود. پس از گذشت زمان مقتضی در تیمار پلی ساکاریدهای مورد نظر، ۱۵۰ µl از محیط کشت رویی با دقت با سمپلر برداشته شد و سپس ۱۰۰ µl محلول MTT به تمام چاهک‌ها اضافه شد.

سلول‌ها به مدت ۴ ساعت در تاریکی و در داخل انکوباتور CO_2دار در دمای ۳۷ درجه سلسیوس قرار گرفتند، سپس رنگ موجود از چاهک‌ها تخلیه شد و ۱۰۰ µl ایزوپروپانول به سلول‌ها اضافه گردید، پس از ۱۰ دقیقه OD سلول‌ها در دستگاه الایزاریدر در طول موج ۵۳۰ نانومتر خوانده شد. (Gloaguen *etal.,2010*)

۱-۹-تجزیه و تحلیل آماری

با استفاده از داده‌های به دست آمده میزان زیستایی سلول‌های تیمار داده شده با نمونه‌های پلی ساکاریدی گونه‌های نوستوک با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد و نمودار آن‌ها رسم گردید. نمودار رسم شده توسط اعداد حاصل، میزان زنده ماندن سلول‌ها در غلظت‌های مختلف پلی ساکارید را نشان می‌دهد.

A = متوسط OD سلول‌های کنترل

B = متوسط OD سلول‌های تست در غلظت مشخص

$$\text{Cytotoxicity} = 1 - \frac{B}{A}$$

$$\text{Viability} = 100 - \text{Cytotoxicity}$$

پس از به دست آوردن جذب‌ها و محاسبه زیستایی سلول‌ها، تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از روش ANOVA یک طرفه ($p<0.05$) نرم افزار SPSS نسخه ۱۸، از روش LSD، صورت گرفت.

Archive of SID
www.SID.ir

نتایج

۲-۱- بررسی کیفی و کمی پلی ساکاریدهای استخراج شده

حضور کپسول پلی ساکارید در اطراف هر دو نمونه نوستوک با استفاده از میکروسکوپ الکترونی SEM تایید شد (شکل ۱). در تصاویر میکروسکوپ الکترونی به وضوح تصویر لایه‌ای از پلی ساکارید بر روی سلول‌های سیانوباکتری *Nostoc* sp. ISC 26 مشاهده می‌شود که به صورت لایه ضخیمی سلول‌ها را دربر گرفته است. پس از استخراج پلی ساکارید، تست رنگ‌آمیزی پلی ساکارید توسط رنگ تولوئیدن پس از انجام الکتروفورز بر روی ژل آگارز پلی ساکارید بودن ترکیبات استخراج شده را تایید کرد. اندازه‌گیری‌های اسپکترومتری برای پروتئین و DNA نشان داد که میزان این دو ماده در پلی ساکاریدهای استخراج شده بسیار اندک بود و پلی ساکارید استخراج شده از درصد خلوص بسیار بالایی در حدود ۹۹.۸ درصد بر خوردار است انجام شد.

۲-۲-نتایج حاصل از طیف سنجی

نتایج حاصل از طیف‌سنجی FT-IR نشان دهنده وجود نوار جذبی در ناحیه ۳۴۰۱.۱۹ cm^{-1} مربوط به‌ارتعاش کششی گروه O-H انتهایی است. همچنین نوارهای جذبی در ناحیه ۲۱۵۴ cm^{-1} و ۱۶۳۳و ۵۴۹ cm^{-1} مشاهده شدند که به ترتیب مربوط به‌گروه‌های C≡C ، O–H– و S-S می‌باشند.

۲-۳-نتایج حاصل از سکانسینگ ناحیه 16S ریبوزومی

سکانسیگ ناحیه 16S ریبوزومی نشان داد که از نظر تشابه با سایر گونه‌های شناخته شده از جنس *Nostoc* تفاوت‌هایی را نشان می‌دهند. این دو سیانوباکتری با کد JX972170 برای *Nostoc* sp. ISC 101 و کد GU560739 برای *Nostoc* sp. ISC 26 در بانک ژن NCBI به ثبت رسیدند.

۲-۴- نتایج حاصل از تاثیر پلی ساکاریدهای استخراج شده بر میزان زنده ماندن سلول‌ها

پس از کشت و تاثیر رقت‌های مختلف از پلی ساکارید و انجام تست MTT Assay، از روی اعداد به دست آمده میزان تکثیر سلول‌ها برای تیمارهای مختلف محاسبه شد. زیستایی سلول‌های تیمار داده شده با نمونه‌های پلی ساکاریدی گونه‌های نوستوک با استفاده از فرمول محاسبه شد و نمودار آن‌ها رسم گردید. پس از به دست آوردن جذب‌ها و محاسبه زیستایی سلول‌ها، تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۸، از روش LSD، صورت گرفت. نتایج حاصل میزان زنده ماندن سلول‌های LCL در بین گروه کنترل و غلظت های مختلف در هر دو مورد اختلاف معنی‌داری را در سطح ($p<0.05$) نشان داد. کمترین غلظتی که توانسته بود میزان زنده ماندن سلول‌های LCL را در مقایسه با گروه کنترل به میزان معنی‌داری کاهش دهد مقدار ۲/۵ میلی‌لیتر/میکروگرم بود و با افزایش غلظت ماده موثره، این تاثیر بیشتر شده بود.

همان طور که از نتایج مشهود است هر دو نمونه به صورت بسیار قابل توجهی توانسته اند میزان زنده ماندن سلول‌های LCL را کاهش دهند. به نظر می‌رسد پلی ساکارید استخراج شده از *Nostoc* sp. ISC 101 توانسته است به نوع موثرتری نسبت به پلی ساکارید *Nostoc* sp. ISC 26 بر روی سلول‌ها اثر گذارد، اما مقایسه تاثیرات دو پلی ساکارید در تجزیه و تحلیل آماری و در سطح $p<0.05$ مشخص

Archive of SID
www.SID.ir

کرد که این دو پلی ساکارید در کاهش سلول‌های زنده تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

بحث و نتیجه‌گیری

پلی ساکاریدهای استخراج شده از سیانوباکتری دو ویژگی بارز دارد که آن‌ها را از پلی ساکارید دیگر میکروارگانیسم‌ها برتر ساخته است: اول این که دارای خواص آنیونیکی بسیار بالا هستند، در حقیقت در حدود ۹۰٪ موارد اسیدهای آنیونیک در ساختار آن‌ها حضور دارد، و دوم این که اکثر آن‌ها گروه سولفات را نیز در ساختار خود دارند (Hill & Peat, 1994).

این خواص در این ماکرومولکول‌ها باعث شده که برای تحقیقات زیادی مورد توجه قرار گیرند. یکی از کاربردهایی که اخیرا بسیار مورد توجه قرار گرفته خواص ضدسرطانی آن‌ها است (Kai-ju *etal.*, 2008). بررسی اثر ضد سرطانی پلی ساکارید Kutz که از گونه‌ای از نوستوک جدا شده بود نشان داد که، تزریق غلظت‌های ۵۰-۱۰۰-۲۰۰ g/kg پلی ساکارید به موش‌هایی که طحال آن‌ها سرطانی شده بود نشان داد که این غلظت‌ها به ترتیب ۲۹/۹۱٪، ۳۸/۲۴٪ و ۶۸/۳۸٪ تومور را مهار می‌کنند. که نشانه خاصیت آنتی اکسیداتیو پلی ساکارید ذکر شده بود.

اثرات ضد سرطانی پلی ساکارید خارج سلولی *Nostoc flagelliforme* مورد بررسی قرار گرفت (Si Jun Yue *etal.*, 2008). این مطالعه نشان داد که پلی‌ساکارید جدا شده رشد سرطانی سلول‌های هلا را مهار می‌کند.

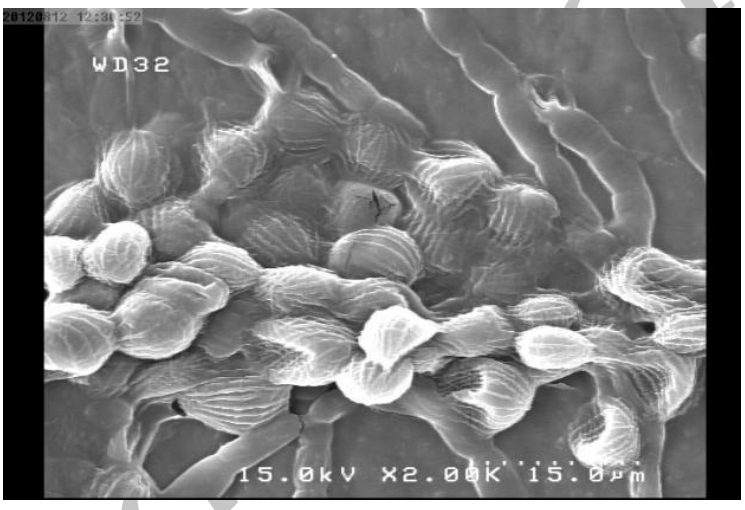
در تحقیقی دیگر کپسول پلی ساکاریدی سیانو باکتری *Mastigocladus laminosus* بر روی رده سلولی اپیدرموئید انسانی A431 آزمایش شد (Gloaguen, *etal.*, 2010). این پلی ساکارید توانست تکثیر رده سلولی A431 را در یک رفتار وابسته به دوز، در دوز ۵۰ میکروگرم در میلی لیتر، مهار کند. علاوه بر آن این پلی ساکارید به خوبی مهاجرت و تهاجم این رده سلولی را نیز توانست مهار کند. آزمایش‌های این محققین نشان داند که ترشح متالوپروتئین MMP2 و MMP9 از سلول‌های تومور A431 به وسیله این پلی ساکاریدها مهار می‌شود که پیشنهاد کننده مکانیسم ضد مهاجرتی و ضد تهاجمی این پلی ساکارید بر علیه این رده سلولی سرطانی است. در مطالعه حاضر اثرات ضد سرطانی پلی ساکاریدهای استخراج شده از دو گونه *Nostoc* sp. ISC101 و *Nostoc* sp. ISC26 ، با تاثیر بر روی سلول‌های LCL نشان داده شد. سلول‌های LCL از چند جنبه اهمیت دارند، این رده سلولی که یک رده B Cell از سرطان خون می‌باشد به دلیل دارا بودن اپشتاین بار ویروس نامیرا می‌باشند و در این مورد با انواع دیگری از سرطان‌ها مثل سرطان‌های نازوفارنژیال، لنفومای بورکیت و لنفومای هوجکین که به دلیل وجود این ویروس ایجاد می‌شوند دارای وجه اشتراک می‌باشد. تاثیر پلی ساکاریدهای استخراج شده از این لحاظ دارای اهمیت می‌باشد که با تاثیر مثبتشان بر روی رده LCL می‌توان انتظار داشت بر روی چند نوع دیگر از سرطان علاوه بر لنفوبلاستویید موثر باشند. از سوی دیگر پلی ساکاریدهای تحقیق حاضراز نمونه‌های بومی ایران به دست آمده‌اند که از نظر ژنتیکی این نمونه‌ها با سایر نمونه‌های مطالعه شده تفاوت دارند و ساختار این پلی ساکاریدها نیز باسایر پلی ساکاریدهای شناخته شده موجود در سایر سیانوباکتری‌ها تفاوت دارد. این پلی ساکاریدها با این که از دو نمونه بسیار نزدیک و از یک محدوده جغرافیایی به دست آمده‌اند از نظر ساختار تفاوت‌های جزیی را نشان می‌دهند و از نظر میزان تاثیر بر روی سلول‌های LCL نیز با

Archive of SID
www.SID.ir

یکدیگر تفاوت‌های اندکی را نشان می‌دهند. تاثیرات پلی ساکاریدهای استخراج شده در از بین بردن سلول‌های LCL وابسته به دوز می‌باشند و کمترین غلظتی که اثر ضد سرطانی قابل توجه و معنی‌داری را نشان داد ۲/۵ میکروگرم برای هر دو نمونه پلی ساکاریدی فوق بود. مکانیسم مولکولی نحوه تاثیرات پلی ساکاریدهای مورد مطالعه نیازمند تحقیقات بیشتری می‌باشد.

سپاسگزاری

به این وسیله از آقای بختیاری و خانم اشرفی برای کمک‌های ایشان در انجام این پروژه و نیز پژوهشکده علوم پایه کاربردی جهاد دانشگاهی برای در اختیار قرار دادن نمونه‌های ریزجلبک قدردانی می‌گردد.



شکل ۱: عکس میکروسکوپ الکترونی با میکروسکوپ SEM . ریز ساختار لایه پلی ساکاریدی در پیرامون سلول‌های *Nostoc*.spISC26 مورد تایید قرار گرفت.

www.SID.ir

منابع

Amirlatifi, F., N. Soltani, S. Saadatmand, Sh. Shokravi, M. Dezfulian, 2013. Crude Oil-induced morphological and physiological responses in cyanobacterium *Microchaete tenera* ISC13. International Journal of Environmental Research. In Press.

Gloaguen, V., H. Morvan, L. Hoffmann, C. Sainte , M. Kraemer, and P. Krausz 2010. Bioactive Capsular Polysaccharide from the Thermophilic Cyanophyte / Cyanobacterium *Mastigocladus laminosus* - Cytotoxic Properties. Journal of Natural Product 21: 57-76.

Hill, DR., A. Peat, M. Potts 1994. Biochemistry and structure of the glycan secreted by desiccation-tolerant *Nostoc commune* (Cyanobacteria). ***Protoplasma*** 182**:**126–148.

Iranshahi, Sh., T. Nejadsattari, N. Soltani, Sh. Shokravi, M. Dezfulian. 2013. The effect of salinity on morphological and molecular characters and physiological responses of *Nostoc* sp. ISC 101. Iranian Journal of Fisheries Sciences. In Press.

Jia S., H. Yu, TY. Lin, Y. Dai. 2007. Characterization of extracellular polysaccharides from *Nostoc flagelliforme* cells in liquid suspension culture. Journal of Applied Phycology 12: 271-275.

Kai-ju, M., X. Bi-jun, G. Chen-rui 2008. Effect of *Nostoc sphaeroids* Kutz Polysaccharides on Tumor Inhibition and Immunity of Mice in vivo. Journal of First Military Medical University 28: 4-91.

Laurienzo, P. 2010. Marine Polysaccharides in Pharmaceutical Applications: Anoverview. Marine Drugs vol 8 (9): 2435-2465.

Mouhim, FR., JF. Cornet, T. Fontaine, B. Fournet, G. Dubertret. 1993 Production, isolation and preliminary characterization of the exopolysaccharide of the cyanobacterium *Spirulina platensis*. Biotechnological Letters 15:567–572

Schwartsmann,G., A. Brondani da Rocha, J. Mattei, RM. Lopes.2003.Marine-derived anticancer agents in clinical trials. Journal of the Natural Cancer Institute 12:1367-1383.

Singh, S., S. Das. 2011. Screening, production, optimization and characterization of cyanobacterial polysaccharide. World Journal Microbiology and Biotechnology 27:1971–1980.

Soltani, N., L. Baftechi, M. Dezfulian, Sh. Shokravi, N. Alnajar. 2012 Molecular and Morphological Characterization of Oil Polluted Microalgae. International Journal of Environmental Research 6(2): 481-492.

Su, J., S. Jia, X. Chen, and H. Yu. 2008. Morphology, cell growth, and polysaccharide production of Nostoc flagelliforme in liquid suspension culture at different agitation rates. Journal of Applide phycology 20: 213-217.

www.SID.ir