Archive of SID

اثر بیان اگزوژنوس ژن *TP53* حمل شده توسط دندروزوم در سلولهای لنفومای T و لوکمیای انسانی

محمد معصومی M.Sc.[1,2]، عبدعلی ضیایی Ph.D.[1]، محمدنبی سربلوکی Ph.D[1]
[1] دانشگاه تهران، مرکز تحقیقات بیوشیمی و بیوفیزیک (I.B.B)
[2] پژوهشکده رویان، گروه سلولهای بنیادی
آدرس مکاتبه: تهران، صندوق پستی: ۴۶۴۴-۱۹۳۹۵، پژوهشکده رویان، گروه سلولهای بنیادی
پست الکترونیک: Email:massumi@royaninstitute.org

دریافت مقاله: ۸۳/۹/۲۲، پذیرش مقاله: ۸۳/۱۲/۳

هدف: ارزیابی تاثیر بیان cDNA ژن *TP53* درآپوپتوز رده‌های سلولی T لنفومای MOLT-4، CCRF-CEM و اریترولوکمیک K562

مواد و روشها: در ابتدا پلاسمید pC53-SN3 حاوی cDNA ژن *TP53* نرمال انسان به طور جداگانه توسط دو وکتور غیرویروسی دندروزوم و لیپوفکتین وارد سلولهای CCRF-CEM، MOLT-4 (هر دو جز T لنفوماها هستند) و سلولهای اریترولولمیک K562 شدند. سپس میزان قدرت بقاء توسط رنگ‌آمیزی تریپان‌بلو تعیین شد. به منظور بررسی آپوپتوز و نکروز در سلولهای ترانسفکت شده از تکنیک فلوسایتومتری استفاده شد. همچنین سلولهای رنگ شده توسط مواد فلوروسنت در زیر میکروسکوپ فلوروسنت مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته‌ها: ارزیابی قدرت بقاء در سلولهای CCRF-CEM و K562 ترانسفکت شده با Dend+p53 به ترتیب ۵۵/۸درصد و ۱۷/۹۷درصد کاهش قدرت بقاء نسبت به نمونه‌های کنترل (Dend+pcDNA3) نشان داد در حالی که سلولهای MOLT-4 ترانسفکت شده هیچ گونه تغییر قابل توجهی در میزان قدرت بقاء از خود نشان ندادند. مطالعات فلوسایتومتری در مورد سلولهای CCRF-CEM و K562 ترانسفکت شده با p53 افزایش قابل توجهی در میزان آپوپتوز و نکروز این سلولها را نشان داد. بازده ترانسفکشن وکتور دندروزوم در مورد سلولهای K562 بسیار بیشتر از لیپوفکتین بود.

نتیجه گیری: وارد شدن cDNA ژن *TP53* و بیان پروتیین p53 در درون سلولهای CCRF-CEM و K562 باعث افزایش میزان آپوپتوز در این سلولها می‌شود در حالی که بیان این پروتیین در مورد MOLT-4 هیچ گونه تاثیری بر روی این رده سلولی ندارد. از طرف دیگر بازده ترانسفکشن وکتورهای مختلف بستگی به نوع آن سلول دارد.

گل واژگان: *TP53*، دندروزوم ، T لنفوما، لوکمیا، آپوپتوز

مقدمه

مهارکننده تومور p53، پروتیینی با چندین عملکرد مختلف است که می‌تواند باعث القاء آپوپتوز در بعضی از سلولهای سرطانی گردد. غیر فعال شدن p53 در بیش از نیمی از انواع سرطانهای انسانی مشاهده می‌شود (۱، ۲). مطالعات زیادی نشان داده‌اند که p53 با عملکرد Trans-activation خود و اتصال به پروموترهای ژنهای القاءکننده مرگ در سلول، باعث آپوپتوز می‌شود (۳، ۴، ۵، ۶).

در میان تمام ژنهای القاءکننده آپوپتوز که در ژن درمانی سرطان به کار می‌روند، ژن *TP53* از اهمیت خاصی برخوردار است (۷، ۸) ژن درمانی سرطان به وسیلهٔ *TP53* به چند دلیل حائز اهمیت است: ۱- ژن *TP53* در بسیاری از سرطانها غیرفعال است؛ ۲- p53 باعث القاء بیان چندین ژن درگیر در آپوپتوز می‌شود، که این خاصیت علاوه بر اثر توقف سیکل سلولی این پروتیین است؛ ۳- p53 باعث القاء تولید یک‌سری پروتیینهای ترشحی می‌شود که این پروتیینهای ترشحی مرگ سلولی را به پیش می برند، بنابراین علاوه بر خود سلول، سلولهای همسایه نیز تحت تاثیر مرگ سلولی قرار می‌گیرند که این یک مزیت مهم در ژن درمانی سرطان به شمار می‌رود. تحقیقات زیادی نشان داده‌اند که با بازسازی بیان ژن *TP53* در سلولهای سرطانی، می‌توان از رشد سلولها جلوگیری کرده و باعث مرگ آنها شد (۹، ۱۰).

Buttgereit و همکارانش با ترانسفکت کردن سلولهای لنفومای B انسانی به وسیلهٔ ژن *TP53* حمل شده توسط آدنو ویروس توانستند باعث افزایش میزان آپوپتوز و نکروز در این سلولها گردند (۱۱)، اما تاکنون گزارشات زیادی در رابطه با ترانسفکشن سلولهای لنفومای T انسانی به وسیلهٔ ژن *TP53* منتشر نشده است. در این مطالعه، از دو ردهٔ سلولی لنفومای T یعنی CCRF-CEM و MOLT-4 استفاده شد که اولی ژن *TP53* را به صورت موتانت و دومی ژن *TP53* را به صورت نرمال بیان می کند (۱۲، ۱۳).

لیپوزومها و به ویژه لیپوزومهای کاتونیک از وکتورهای غیر ویروسی بسیار مهم در ژن درمانی سلولهای یوکاریوتی و بافتهای توموری به حساب می‌آیند (۱۴، ۱۵). علی‌رغم کاربردهای وسیع آنها،

www.SID.ir

Archive of SID

لیپوزومها دارای چندین عیب هستند. برای مثال لیپوزومها از لحاظ انتقال ژن به سلولهای لنفوما و لوکمیا بازده خوبی ندارند و معمولا دارای عوارض جانبی چون سیتوتوکسیسیتی هستند (۱۶). در این مطالعه علاوه بر وکتور تجاری لیپوفکتین از وکتور دندروزوم ساخت داخل برای ترانسفکشن سلولها استفاده شد و نتایج با یکدیگر مقایسه گردید. مطالعات قبلی نشان داد که دندروزوم دارای یک بازده بالا برای انتقال ژن به سلولهای کبدی و کلیوی انسانی است (۱۷).

مواد و روشها

رده‌های سلولی

رده‌های سلولی CCRF-CEM، MOLT-4 (هر دو جزء رده‌های T لنفومای انسانی هستند) و اریترولوکمیک K562 در این تحقیق به کار رفتند. تمام این رده‌های سلولی از بانک سلولی انستیتو پاستور ایران خریداری شدند. سلولها در محیط کشت RPMI 1640(Gibco) حاوی ده درصد FCS(Biochrom, Berlin, Germany) کشت داده شدند. برای جلوگیری از آلودگی محیط کشت از (Sigma) استرپتومایسین (۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) و (Sigma) پنی‌سیلین (۱۰۰U/ml) استفاده شد. سلولها برا ی رشد در انکوباتور ۵درصد CO_2و دمای ۳۷درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند.

پلاسمیدها

در این مطالعه از پلاسمید pC53-SN3 که حاوی cDNA ژن TP53 است استفاده شد (۱۸، ۱۹)، برای ساخت این پلاسمید cDNA ژن TP53 وارد جایگاه Bam HI پلاسمید pCMV-Neo-Bam شد (۲۰). چندین مطالعه با استفاده از پلاسمید pC53-SN3 بر روی چند رده از سلولهای انسانی نشان داد که این پلاسمید می تواند به میزان زیادی پروتیین p53 را بیان می کند (۱۸، ۱۹). در این پلاسمید علاوه بر پروموتر سیتومگالو ویروس، نواحی تشدید کننده (enhancer) و بیان اپی زومال p53(episomal) در فرادست وجود دارد.

در این مطالعه برای پلاسمید کنترل از پلاسمید pcDNA3 استفاده شد که از بسیاری جهات مشابه pC53-SN3 است با این تفاوت که در این پلاسمید cDNA ژن *TP53* وجود ندارد.

ترانسفکشن رده‌های سلولی

هر کدام از سه رده سلولی به طورجداگانه بوسیلهٔ لیپوفکتین (Lipofetin ™ reagent, Life Technologies, USA) و دندروزوم (یک نانوپارتیکل اسفروییدی دندریتیک که در I.B.B سنتز می شود) ترانسفکت شدند (۱۴).

مطالعات قدرت بقاء (Viability Studies)

قدرت بقاء سلولها توسط رنگ‌آمیزی تریپان‌بلو اندازه‌گیری شد. پس از ترانسفکشن، سلولهای ترانسفکت نشده (کنترل)، ترانسفکت شده با پلاسمید pC53-SN3 توسط لیپوفکتین یا دندروزوم، ترانسفکت شده با پلاسمید pcDNA3 توسط لیپوفکتین یا دندروزوم، سلولهای تیمار شده با لیپوفکتین، دندروزوم (بدون پلاسمید pC53-SN3) یا پلاسمید pC53-SN3 به تنهایی و بدون وکتور از لحاظ قدرت بقاء مورد ارزیابی قرار گرفتند.

فلوسایتومتری (Flow-cytometry)

برای اندازه‌گیری میزان آپوپتوز، ۷۲ ساعت پس از ترانسفکشن سلولها تحت رنگ‌آمیزی دوگانهٔ Annexin V-FITC/PI قرار گرفتند. Annexin V به طور اختصاصی به مولکولهای فسفاتیدیل سرین موجود در غشاء سلولهای آپوپتوز شده متصل می‌شوند. کیت شناسایی آپوپتوز حاوی annexin V-FITC از شرکت IQ product هلند خریداری شد. برای رنگ‌آمیزی ابتدا ۵×۱۰^{۵} سلول با PBS سرد شسته شدند. سپس ۵۰۰µL binding buffer حاوی محلول annexin V-FITC و PI (۱۰میکروگرم بر میلی‌گرم) به سلولها اضافه شده و به مدت ۱۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفتند. سلولهای رنگ شده توسط Coulter Epics XL cytometer (Coulter Immunotech, Krefeld, Germany) مورد آنالیز قرار گرفتند. سلولهای که در مراحل اولیه آپوپتوز باشند تنها توسط annexin V-FITC رنگ می‌شوند در حالی که سلولهای که در مرحله پایانی آپوپتوز یا مرحله نکروز قرار دارند با هر دو رنگ annexin V-FITC و PI رنگ می‌شوند.

یافته‌ها

اثرات Lipo+p53 و Dend+p53 بر روی رشد سلول

سلولهای ترانسفکت نشده، Dend+pcDNA3 و Lipo+pcDNA3 به عنوان کنترل به کار رفتند. هر ردهٔ سلولی به طور جداگانه با Dend+p53 (پلی‌پلکسی از دندروزوم وcDNA نرمال ژن *TP53*) یا Lipo+p53 (لیپوپلکسی از لیپوفکتین و cDNA نرمال ژن *TP53*) ترانسفکت شدند و نتایج با یکدیگر و با کنترلها مورد مقایسه قرار گرفتند، تعیین قدرت بقاء هر ۲۴ ساعت تا ۵ روز انجام شد. همان طوری که در شکل ۱A مشاهده می‌شود ترانسفکشن سلولهای K562 به وسیلهٔ Dend+p53 و Lipo+p53 باعث کاهش قدرت بقاء به میزان ۵/۹۷±۵۵/۸درصد ($p<۰/۰۵$) و ۳/۹۶±۱۰/۵۴درصد ($p<۰/۰۵$) در مقایسه با کنترلهایشان یعنی Dend+pcDNA3 و Lipo+pcDNA3 می‌شوند. در رده سلولی CCRF-CEM سلولهای ترانسفکت شده با Dend+p53 و Lipo+p53 به ترتیب ۳/۱۰±۱۷/۹۷درصد ($p<۰/۰۵$) و ۰/۹۸±۹/۲۶درصد ($p<۰/۰۵$) کاهش قدرت بقاء نسبت به کنترلهایشان نشان دادند (شکل ۱B). ترانسفکشن MOLT-4 با Dend+p53 یا Lipo+p53 هیچ‌گونه

www.SID.ir

Archive of SID

تغییر قابل توجهی در میزان قدرت بقاء این سلولها در مقایسه با کنترلهایشان نشان نداد.

است. هیچ کدام از این رده‌های سلولی به طور کامل مهار رشد را نشان نداند.

شکل ۱. اثر بیان ژن *TP53* بر روی قدرت بقاء سلولهای K526(A)، CCRF-CEM(B) و MOLT-4(C) control: سلولهای ترانسفکت نشده؛ p53: سلولهای که تنها با pC53-SN3 تیمار شده‌اند؛ Dend: سلولهای که تنها با دندروزوم تیمار شده‌اند؛ Lipo: سلولهای که تنها با لیپوفکتین تیمار شده‌اند؛ Dend pcDNA3: سلولهای که با پلی‌پلکس دندروزوم و pcDNA3 ترانسفکت شده‌اند؛ Dend+p53: سلولهای که با پلی‌پلکس دندروزوم و pC53-SN3 ترانسفکت شده‌اند؛ Lipo+ pcDNA3: سلولهای که با لیپو پلکس لیپوفکتین و pcDNA3 ترانسفکت شده‌اند؛Lipo+p53: سلولهای که با لیپوپلکس لیپوفکتین و pC53-SN3 ترانسفکت شده‌اند. پس از ۷۲ ساعت قدرت بقاء تعیین شد. داده‌ها مربوط به چهار آزمایش جداگانه هستند. داده‌ها به صورت

جدول۱. القاء آپوپتوز ونکروز در سلولهای لنفوما و لوکمیای ترانسفکت شده با Dend+p53 و Lipo+p53

رده سلولی		کنترل	Dend+pcDNA53	Dend+p53	Lipo+pcDNA3	Lipo+p53	Pvalue
K562	آپوپتوز	۸/۸±۱/۳	۲۴/۱±۱/۴	۴۱/۰±۱/۴	۱۲/۱±۸/۲	۲۱/۳±۴/۰	۰/۰۰۱۹
	نکروز	۱۰/۲±۰/۳	۱۵/۲±۱/۴	۱۷/۴±۳/۱	۱۳/۰±۱/۲	۱۴/۶±۱/۰	۰/۰۴۳۰
	تعداد سلول	۱۰۰/۰±۶/۰	۶۸/۹±۱/۳	۳۷/۴±۵/۹	۹۸/۰±۳/۵	۸۷/۶±۴/۰	۰/۰۰۱۴
CCRF-CEM	آپوپتوز	۸/۷±۳/۱	۱۰/۱±۴/۵	۲۱/۵±۱/۳	۱۲/۴±۵/۲	۲۰/۹±۵/۱	۰/۰۰۵۰
	نکروز	۶/۹±۰/۴	۱۴/۹±۱/۲	۱۳/۹±۰/۶	۱۶/۸±۴/۵	۱۹/۳±۱/۸	۰/۰۴۸۰
	تعداد سلول	۱۰۰/۰±۱/۳	۹۴/۶±۶۳/۱	۷۷/۶±۱/۰	۹۰/۰±۲/۴	۷۸/۲±۰/۹	۰/۰۱۵۰
MOLT-4	آپوپتوز	۹/۳±۰/۴	۱۰/۵±۱/۲	۱۱/۳±۴/۹	۱۳/۲±۱/۲	۱۴/۹±۳/۱	۰/۹۵
	نکروز	۸/۳±۱/۱	۱۲/۲±۰/۰	۹/۸±۳/۲	۱۴/۵±۰/۶	۱۵/۲±۶/۳	۰/۴۲
	تعداد سلول	۱۰۰/۰±۱/۰	۹۹/۱±۱/۶	۹۸/۹±۱/۳	۹۹/۸±۰/۹	۱۰۰/۰±۱/۰	۰/۳۱

پس از ترانسفکشن؛ تعداد سلولها (درصد کنترل)، درصد آپوپتوز (تنها توسط annexin V-FITC رنگ‌آمیزی می‌شوند) و درصد نکروز (توسط هر دو رنگ Annexin V-FITC/PI رنگ می‌شوند) توسط آنالیز فلوسایتومتری پس از ۷۲ ساعت مشخص شد. میانگین و انحراف معیار چهار آزمایش جداگانه مشاهده می‌شود.

همچنان که در تصویر ۱ و جدول ۱ نشان داده شده است ترانسفکشن سلولهای K562 و CCRF-CEM با Dend+p53 یا Lipo+p53 دارای سطح اثر مهاری متفاوتی بر روی این سلولها

مطالعات فلوسایتومتری

برای بررسی ارتباط بین توقف رشد سلولی در سلولهای ترانسفکت

www.SID.ir

Archive of SID

شده با p53، با مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی (آپوپتوز) از آنالیز فلوسایتومتری annexin V-FITC/PI استفاده شد.

www.SID.ir

Archive of SID

شکل ۲: تعیین آپوپتوز و نکروز در سلولهای K562 و CCRF-CEM به وسیلهٔ رنگ‌آمیزی دوگانه annexin V-FITC/PI. سلولها با Dend+p53 و Lipo+p53 ترانسفکت شدند. سلولهای ترانسفکت نشده به عنوان کنترل به کار رفتند. در روز سوم پس از ترانسفکشن رنگ‌آمیزی annexin V /PI انجام شد. سلولهای Annexin V مثبت و PI منفی نشان‌دهندهٔ بخش آپوپتوزی هستند که در نمودارهای فلوسایتومتری در مستطیل بالا سمت چپ واقع می‌شوند؛ سلولهای مرحله انتهایی آپوپتوز و سلولهای مرحله نکروز در مستطیل بالا سمت راست واقع می‌شوند.

در مراحل اولیه آپوپتوز به دلیل از بین رفتن نامتقارنی (asymmetry) غشاء سلول، فسفاتیدیل سرین از لایه داخل غشاء سلولی به لایه خارجی غشاء منتقل می‌شود و بنابراین annexin V می‌تواند به این فسفولیپید متصل شود و باعث شناسایی سلولهای آپوپتوتیک شود. در این مرحله به دلیل اینکه کنترل نفوذپذیری غشاء هنوزاز بین نرفته است PI نمی‌تواند وارد سلول شود. در مرحله انتهایی آپوپتوز و مرحله نکروز به دلیل از بین رفتن کنترل نفوذپذیری غشاء، سلولها توسط annexin V و PI رنگ می‌شوند. همچنان که در تصویر ۲ و جدول ۱ مشاهده می‌شود در سلولهای K562، آپوپتوز

www.SID.ir

Archive of SID

(مراحل اولیه و انتهائی) در ۵۸/۴درصد از سلولهای ترانسفکت شده با Dend+p53 و در ۳۵/۹درصد از سلولهای ترانسفکت شده با Lipo+p53 مشاهده می‌شود. میزان آپوپتوز در سلولهای CCRF-CEM که پروتیین موتانت p53 را بیان می‌کنند به ترتیب برای ترانسفکشن با Dend+p53 و Lipo+p53 برابر ۳۵/۱درصد و ۴۰/۲درصد بود. سلولهای MOLT-4 ترانسفکت شده با Dend+p53 یا Lipo+p53 هیچ گونه افزایش آپوپتوزی را نسبت به کنترل نشان ندادند (جدول ۱). در اینجا نیز مانند نتایج قدرت بقاء مشاهده می‌شود که سطح آپوپتوز در سلولهای ترانسفکت شده بستگی به نوع بیان آندوژنوس پروتیین p53 در این سلولها دارد.

شکل ۳. عکس میکروسکوپ فلوروسنت سلولهای K562 ترانسفکت شده با Dend+p53 پس از رنگ‌آمیزی با annexin V-FITC/PI (بزرگنمائی ۴۰۰×)

بحث

بسیاری از روشهای درمان سرطان که باعث مرگ سلولهای سرطانی می‌شوند از طریق القاء آپوپتوز به وسیلهٔ پروتیین p53 عمل می‌کنند (۷، ۸، ۲۱). ژن *TP53* به عنوان مهمترین ژن دارای موتاسیون در بین ژنهای مهار کننده تومور شناخته می شود (۱، ۲، ۲۲). این ژن در پاسخ به محرکهای چون آسیبهای ژنی، تخریبات DNA و استرسهای اکسیدایتو بیان می‌شود و باعث شروع آپوپتوز می‌گردد (۲۳، ۲۴، ۲۵). بنابراین ژن *TP53* به عنوان یک کاندیدای مناسب برای ژن درمانی سلولهای بدخیم مورد توجه قرار گرفته است. سلولهای لنفوما و لوکمیا هدفهای مناسبی برای ژن درمانی به حساب می‌آیند (۱۱، ۲۶). اغلب گزارشات ژن درمانی به واسطهٔ *TP53* مربوط به B لنفوماها است و گزارشات کمی در مورد ژن درمانی با استفاده از *TP53* نرمال در سلولهای لنفومای T وجود دارد.

نتایج این تحقیق نشان داد که بیان ژن نرمال TP53 در رده سلولی K562 که پروتیین p53 را به صورت اندوژنوس بیان نمی‌کند باعث افزایش آپوپتوز و نکروز در این رده سلولی می‌شود. میزان آپوپتوز در سلولهای K562 ترانسفکت شده با Dend+p53 تقریبا دو برابر سلولهای ترانسفکت شده با Lipo+p53 بود که نشان‌دهندهٔ بازده بالای ترانسفکشن دندروزوم در این رده سلولی است. در رده سلولی CCRF-CEM که پروتیین p53 را به صورت موتانت بیان می‌کند، ترانسفکشن سلولها TP53 باعث افزایش آپوپتوز به طور معنی‌دار در سلولها می‌شود اما این افزایش آپوپتوز در مقایسه با سلولهای K562 ترانسفکت شده کمتر است. مشکل مهم در بیان اگزوژنوس پروتیین نرمال p53 در این رده سلولی، وجود پروتیین p53 موتانت در این رده سلولی است که به صورت اندوژنوس بیان می‌شود. تحقیقات زیادی نشان داده است که وجود پروتیین p53 موتانت در یک سلول باعث تغییر شکل فضایی پروتیین p53 نرمال در آن سلول می‌شود و p53 نرمال فعالیت خود را از دست خواهد داد(۱۹،۲۷،۲۸،۲۹).

از طرف دیگر وجود موتاسیون در ژنهایی که در پایین دست مسیر آپوپتوزی p53 عمل می‌کنند می تواند عملا اثر p53 را خنثی کند (۳۰). با توجه به این دو موضوع در مورد رده سلولی CCRF-CEM می‌توان این گونه استنباط کرد که ترانسفکشن این رده سلولی با *TP53* نرمال نتواند میزان آپوپتوز را مثل سلولهای K562 ترانسفکت شده بالا ببرد.

مطالعات قدرت بقاء و فلوسایتومتری در مورد MOLT-4 که پروتیین نرمال p53 را به صورت اندوژنوس بیان می‌کند هیچ تغییری در قدرت بقاء و میزان آپوپتوز در سلولهای MOLT-4 ترانسفکت شده با *TP53* نرمال نشان نداد. با توجه به بیان نرمال اندوژنوس p53 در این رده سلولی (۱۳) می‌توان دو دلیل برای این موضوع ارایه داد: اولا تحقیقات نشان داده است که بعضی از سلولهای توموری مهارکننده‌های p53 را به صورت زیاد بیان (over express) می‌کنند

بنابراین از عملکرد پروتیین p53 جلوگیری می‌کنند ازمهارکننده‌های p53 می‌توان به پروتیینهای سلولی Ham-2/mdm-2 و p53CP و پروتیین ویروسی E6 اشاره کرد. دوما p53 برای فعالیت خود احتیاج به یک‌سری کوفاکتورهایی از قبیل P300/CBP، ATM، HMG-1، P85 و ING-1 P33 دارد و فقدان این کوفاکتورها حتی در حضور p53 نرمال نمی‌تواند به آپوپتوز ختم شود (۳۱). بنابراین ترانسفکشن سلولهای MOLT-4 با Dend+p53 یا Lipo+p53 بدون در نظر گرفتن شرایط داخلی سلول نمی‌تواند به آپوپتوز یا مهار رشد منجر شود.

مطالعات ما نشان داد که دندروزوم در مقایسه با لیپوفکتین یک وکتور مناسب برای ترانسفکشن سلولهای K562 است در حالی که در مورد سلولهای T لنفوما یعنی CCRF-CEM و MOLT-4 لیپوفکتین به طور جزیی دارای بازده ترانسفکشن بهتری نسبت به دندروزوم بود.

تقدیر و تشکر

از سرکار خانم فرزانه پورعسگری که در انجام این تحقیق ما را همراهی کرده اند بسیار سپاسگزاریم، همچنین ازسرکار خانم دکتر

www.SID.ir

Archive of SID

آقائی‌پور و سرکار خانم دکتر خیراندیش مسئولین محترم بخش فلوسایتومتری سازمان انتقال خون ایران به خاطر مساعدتهای ایشان در مورد انجام تکنیک فلوسایتومتری قدردانی می نماییم.

References

1. Vogelstein B, Kinzler KW. P53 function and dysfunction. Cell 1992; 70: 523-526
2. Levine AJ. P53, the cellular gate keeper for growth and division. Cell 1997; 88: 323-331
3. Attardi LD, Lowe SW, Brugarolas J, Jacks T. Transcriptional activation by p53, but not induction of the p21 gene, is essential for oncogene-mediated apoptosis. EMBO J 1996; 15: 3693-3701
4. Chen X, Ko LJ, Jayaraman L, Prives C. p53 levels, functional domains, and DNA damage determine the extent of the apoptosis response of tumor cells. Genes Dev 1996; 10: 2348-2451
5. Roemer K, Mueller LN. P53 transactivation domain mutant q22, S23 is impaired for repression of promoters and mediation of apoptosis. Oncogene 1996; 12: 2069-2079
6. Yonish RE, Deguin V, Zaitchouk T, Breugnot C, Mishal Z. Transcriptional activation plays a role in the induction of apoptosis by transiently transfected wild-type p53. Oncogene 1996; 12: 2197-2205
7. Bookstain R, Demers W, Gregory R, Maneval D, Park J, Wills K. P53 gene therapy in vivo of hepatocellular and liver metastatic colorectal cancer. Semin Oncol 1996; 23: 667-77
8. Boulikas T. Gene therapy of prostate cancer: p53, suicidal genes, and other targets. Anticancer Res 1997; 17:1471-505
9. Zhang WW, Fang X, Mazur W. High efficiency gene transfer and high-level expression of wild-type p53 in human lung cancer cell mediated by recombinant adenovirus. Cancer Gene Ther 1994; 1: 5-13
10. Wills KN, Maneval DC, Menzel P. Development and characterization of recombinant adenoviruses encoding human p53 for gene therapy of cancer. Hum Gene Ther 1994; 5: 1079-1088
11. Buttgereit P, Schakowski F, Marten A, Brand K, Renoth S. Effects of adenoviral wild-type p53 gene transfer in p53 mutated lymphoma cells. Cancer Gene Ther 2001; 8: 430-439
12. Rafki N, Roger FL, Devry L, Trentesaux C, Dufer J. p53 protein expression in human multidrug-resistant CEM lymphoblasts. Leuk Res 1997; 21: 147-152
13. Nakano H, Kohara M, Shinohara K. Evaluation of the relative contribution of p53-mediated pathway in X-ray-induced apoptosis in human leukemic MOLT-4 cells by Transfection with a mutant p53 gene at different expression levels. Cell Tissue Res 2001; 306: 101-106
14. Felgner PL, Gadek TR, Holm M, Roman R, Chan HW. Lipofectin: a highly efficient, lipid-mediated DNA Transfection procedure. Proc Natl Acad Sci USA 1987; 84: 7413-7417
15. Maruyama K, Ishida O, Takizawa T, Moribe K. Possibility of active targeting to tumor tissues with liposomes. Adv Drug Del Rev 1999; 40: 89-102
16. Buttgereit P, Weineck S, Ropke G, Marten A, Brand K. Efficient gene transfer into lymphoma cells using adenoviral vectors combined with lipofectin. Cancer Gene Ther 2000; 7: 1145-1155
17. Sabolouki MN, Sadeghizadeh M, Yaghoobi MM, Karami A, Lohrasbi T. Dendrosomes: a novel family of vehicles for transfection and therapy. J Chem Tech Biotech 2000; 75: 919-22
18. Baker SJ, Markowitz S, Fearon ER. Suppression of human colorectal carcinoma cell growth by wild-type p 53. Science 1990; 249: 912-915
19. Kern SE, Pietenpol JA, Thiagalingam S, Seymour A, Kinzler KW and Vogelstein B. Oncogenic forms of p53 inhibit p53-regulat ed gene expression. Science 1992; 256: 826-830
20. Karasuyama H, Tohyama N, Tada T. Autocrine growth and tumorigenicity of interleukin 2-dependent helper T cells Transfection with IL-2 gene. J Exp Med 1989; 169: 13-25
21. Shimada H, Matsubara H, Ochiai T. p53-gene therapy for esophageal cancer. J Gastroenterol 2002; 14: 87-91
22. Nielsen LL, Maneval DC. P53 tumor-suppressor gene therapy for cancer. Cancer Gene Ther 1998; 5: 52-63
23. Miyashita T, Harigai M, Hanada M, Reed JC. Identification of a p53-dependent negative response element in the Bcl-2 gene. Cancer Res 1994; 54: 3131-3135
24. Yin C, Knudson CM, Korsmeyer SJ, Vane Dyke T. Bax suppresses tumorigenesis and stimulates apoptosis in vivo. Nature 1997; 385: 637-640
25. Yin Y. Terauchi Y, Solomon GG, Aizawa S, Rangavajan PN, Yazaki Y, Kadowak T, Barrett JC. Involvement of p85 in p53-dependent apoptosis response to oxidative stress. Nature 1998; 391: 707-710
26. Ramqvist T, Magnusson KP, Wang Y. Wild-type p53 induces apoptosis in a Burkit lymphoma (BL) line that carries mutant p53. Oncogene 1993; 8: 1495-1500
27. Milner J, Medcalf EA. Cotranslation of activated mutant p53 with wild type drives the wild -type p53 protein into the mutant conformation. Cell 1991; 65: 765-774
28. Roemer K. Mutant p53: Gain-of-function oncoproteins and wild-type p53 inactivators. Biol Chem 1999; 380: 879-887
29. Zambetti GP, Levine AJ. A comparison of the biological activities of wild-type and mutant p53. FASEB J 1993; 7: 855-865
30. Wu GS, El-Deiry WS. Apoptotic death of tumor cells correlates with chemosensitivity, independent of p53 or bcl -2. Clin Cancer Res 1996; 2: 623-633
31. Maki CG, Huibregtse JM, Howley PM. In vivo ubiquitination and proteasome-mediated degradation of p53. Cancer Res 1996; 56: 2649-2654

www.SID.ir