Archive of SID

تأثیر کشندگی عصاره و زیست‌توده نوع وحشی و جهش‌یافته باکتری *Bradyrhizobium japonicum* بر سلول‌های سرطانی پستان و معده

سعید میرزایی[1*]، ملک حسین اسدی[2]، پگاه حجازی[3]، بابک تقی‌پور[4]

۱. استادیار، گروه بیوتکنولوژی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان، ایران
۲. دانشیار، گروه بیوتکنولوژی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان، ایران.
۳. دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه بیوتکنولوژی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان، ایران
۴. دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه بیوتکنولوژی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۲/۱۸
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۵/۰۷

چکیده

زمینه و هدف سرطان معده و پستان، از سرطان‌های شایع در جهان و ایران هستند. امروزه استفاده از عصاره‌های قارچی و باکتریایی، برای درمان سرطان بسیار مورد توجه محققان قرار گرفته است. رایزوبیوم‌ها از باکتری‌های مفید در کشاورزی و محیط‌زیست هستند که نیتروژن مورد نیاز گیاهان خانواده لگوم را از طریق هم‌زیستی با این خانواده تأمین می‌کنند. در این پژوهش تأثیر عصاره سلولی باکتری برادی رایزوبیوم و نوع جهش‌یافته آن در ژن مسئول غده‌زایی، بر مرگ سلول‌های سرطانی پستان (MCF7) و معده (AGS) بررسی گردید.

مواد و روش‌ها اثر کشندگی غلظت‌های مختلف زیست‌توده و عصاره *Bradyrhizobium japonicum* بر سلول‌های سرطانی پستان (MCF7) و معده (AGS) با استفاده از روش آزمون رنگ‌سنجی MTT بررسی شد. از روش ANOVA و نرم‌افزار Graphpad Prism 6.0 برای بررسی داده‌ها استفاده شد.

یافته‌ها هم نوع وحشی و هم نوع جهش‌یافته باکتری تأثیر کشندگی معنی‌داری بر هر دو نوع سلول سرطانی داشتند و میزان کشندگی آنها وابسته به غلظت به‌کار گرفته شده از عصاره یا زیست‌توده بود (کمترین میزان کشندگی در غلظت ۳۰ و بیشترین در ۴۸۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر). در بیشتر موارد زیست توده، تأثیر بهتری در مقایسه با عصاره نشان داد.

نتیجه‌گیری در مجموع این تحقیق تأثیر کشندگی عصاره و زیست‌توده باکتری رایزوبیوم بر سلول‌های سرطانی را نشان داد که می‌تواند به‌عنوان منبعی برای یافت ترکیبات ضدسرطانی به‌کار رود.

کلیدواژه‌ها:
سرطان پستان، سرطان معده، باکتری، بردی رایزوبیوم، فابیاسه، ترکیب ضدسرطان.

* **نویسندهٔ مسئول: سعید میرزایی**
نشانی: استادیار، گروه بیوتکنولوژی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان، ایران

تلفن: ۰۳۴۳۳۷۷۶۶۱۴
رایانامه: s.mirzaei@kgut.ac.ir
شناسه ORCID نویسندهٔ اول: 0000-0003-4408-7921

مجلهٔ علمی ـ پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، دورهٔ ۲۷، شمارهٔ ۶، بهمن و اسفند ۱۳۹۹، ص ۷۵۹-۷۵۳
آدرس سایت: http://jsums.medsab.ac.ir رایانامه: journal@medsab.ac.ir
شاپای چاپی: ۷۴۸۷-۱۶۰۶

www.SID.ir

Archive of SID

۱. مقدمه

تکثیر غیرمتعارف سلول‌های پایه‌ای بدن، منجر به ایجاد تومور می‌شود. تومورها در دو گروه خوش‌خیم و بدخیم قرار می‌گیرند. تومورهای بدخیم می‌توانند طی فرایند متاستاز به اندام‌های مجاور تجاوز کند و آغاز سرطان را در بدن، پایه‌ریزی کنند. به‌طور کلی سرطان پس از بیماری‌های قلبی- عروقی، دومین علت شایع مرگ‌ومیر در جهان به‌شمار می‌رود [۱, ۲]. برای مثال، سرطان پستان از سرطان‌های شایع در جهان و ایران است که تخمین زده می‌شود سالیانه ۱/۱ میلیون مورد جدید سرطان پستان در سراسر دنیا اتفاق می‌افتد که این میزان بالغ بر ۲۰ درصد کل بدخیمی‌های زنان را تشکیل می‌دهد [۳, ۴].

تا کنون برای درمان سرطان، شیوه‌های مختلفی از جمله شیمی‌درمانی، هورمون‌درمانی و عمل جراحی به‌کار گرفته شده است که از نقاط ضعف آنها می‌توان تضعیف و از بین بردن سیستم دفاعی و سلول‌های سالم بدن، به دلیل هدفمند نبودن را نام برد [۵, ۶]. از این‌رو گرایش محققان به گیاهان دارویی، عصاره‌های گیاهی و باکتریایی به‌دلیل اثرات مضر و جانبی کمتر، افزایش یافته است [۷]. از این جمله می‌توان بررسی تأثیر عصاره سلولی باکتری بومی پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی[1] روی مرگ سلول‌های سرطانی کلون را نام برد [۸, ۹]. علاوه بر آن، تأثیر مثبت سالمونلا[2]، کلستریدیوم[3] و جنس‌های دیگر بر کنترل رشد تومور و ارتقای بقا در مدل‌های حیوانی به اثبات رسیده است [۱۰, ۱۱]. همچنین مشخص شده است که سموم برخی باکتری‌ها در کنترل مرگ برنامه‌ریزی شده[4] در سلول‌های سرطانی، نقش دارند [۱۲, ۱۳]. برای نمونه در این رابطه از انتروتوکسین کلستریدیوم پرفریژنز[5] علیه سرطان پانکراس استفاده شد و تأثیر چشمگیری داشته است [۱۴, ۱۵]. بر اساس بررسی‌های انجام شده تا کنون از عصاره باکتری *Bradyrhizobium japonicum* برای کنترل سلول‌های سرطانی استفاده نشده است. به‌طور کلی، این باکتری مرتبط با غده‌زایی در گیاهان لگومی می‌باشد و تأمین‌کننده نیتروژن مورد نیاز گیاه هم‌زیست خود است [۱۶, ۱۷]. در این پژوهش، تأثیر عصاره باکتری *B. japonicum* بر سلول‌های سرطانی پستان و معده بررسی شده است.

۲. مواد و روش‌ها

۱.۲. کشت باکتری برای تهیه عصاره

سویه جهش‌یافته و سویه وحشی باکتری *B. japonicum* که تفاوت آنها در از دست دادن قابلیت تولید فاکتورهای غده‌زایی[6]ها در نوع سویه جهش‌یافته می‌باشد [۱۸] مورد استفاده قرار گرفت. مقدار ۲۵ میکرولیتر از استوک اصلی این سویه‌ها روی ۲۵۰ سی‌سی محیط کشت YMB کشت داده شد و در شیکر انکوباتور (با دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد و ۱۸۰ دور در دقیقه) نگهداری گردیدند. پس از گذشت ۴ روز که میزان OD[7] نزدیک به یک شد، باکتری‌ها برای عصاره‌گیری استفاده شدند. به منظور عصاره‌گیری، نمونه به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۴۰۰۰ سانتریفوژ گردیدند. فاز رویی به لوله جدید منتقل گردید و به زیست‌توده رسوب‌کرده ۵ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه و به مدت ۳ دقیقه اولتراسونیک شد. سپس ۵ میلی‌لیتر اتیل‌استات به زیست‌توده اضافه و به مدت ۵ دقیقه ورتکس شدند. در مرحله بعد، نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه در ۴۰۰۰ دور سانتریفوژ شدند. فاز رویی به لوله جدید منتقل و پس از تبخیر حلّال زیر هود در یخچال ۲۰- نگهداری گردیدند. برای عصاره‌گیری، از فاز رویی (جدا شده در مرحله اول) معادل فاز رویی حلّال اتیل‌استات اضافه گردید و بعد از ورتکس به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ شدند. سپس فاز رویی به لوله جدید منتقل و بعد از تبخیر حلّال زیر هود آزمایشگاه در یخچال ۲۰- نگهداری شدند.

۲.۲. کشت سلول‌های سرطانی انسان

سلول سرطانی معده (AGS) پستان (MCF7) از انستیتو پاستور تهران خریداری و در فلاسک کشت سلولی با محیط PRMI640 با سرم ۱۰ درصد جنین گاوی کشت داده شدند. سلول‌ها در گرم‌خانه در دمای ۳۷ درجه و در اکسیدکربن ۵ درصد به مدت ۱۲ ساعت به‌منظور ته‌نشینی سلول‌ها، قرار داده شدند.

۳.۲. تست MTT

به‌منظور بررسی تأثیر سمیت سلولی[8] زیست‌توده[9] و عصاره، از روش آزمون رنگ‌سنجی MTT استفاده گردید. آزمون MTT یک روش رنگ‌سنجی است که بر اساس احیا و شکسته شدن کریستال‌های زرد رنگ تترازولیوم می‌باشد [۱۹]. بدین منظور حدود ۷۰۰۰ سلول از سلول‌های سرطانی معده و پستان در پلیت ۹۶ خانه‌ای، کشت شدند. پس از ۱۲ ساعت گرماگذاری سلول‌ها، از عصاره‌های تهیه‌شده غلظت‌های ۳۰، ۶۰، ۱۲۰ و ۲۴۰ میکروگرم در میلی‌لیتر در سه تکرار به سلول‌ها اضافه شد.

1. *Lactobacillus casei*
2. *Salmonella*
3. *Clostridium*
4. Apoptosis
5. *Clostridium perfringens*
6. Nod Factor
7. Optical depth
8. Cytotoxic
9. Biomass

www.SID.ir

Archive of SID

از ماده SFU (داروی ضدسرطان) به‌عنوان کنترل مثبت استفاده و از DMSO ۰/۵ درصد به‌عنوان کنترل منفی (به مقدار یک میکرولیتر در هر خانه ۲۰۰ میکرولیتری) استفاده گردید. پلیت‌ها به مدت ۲۴ و ۴۸ و ۷۲ ساعت در گرم‌خانه قرار گرفتند. پس از مدت‌زمان‌های تیمار (۲۴، ۴۸و ۷۲ ساعت) محلول MTT به هر خانه در شرایط بدون نور اضافه گردید و پلیت‌ها به مدت ۴ ساعت در گرم‌خانه قرار داده شدند. پس از این مدت، محیط رویی دور ریخته شد و به هر خانه ۱۰۰ میکرولیتر DMSO مطلق اضافه گردید.

هر چه سلول‌های زنده در پلیت بیشتر باشد رنگ تترازولیوم (MTT) توسط آنزیم‌های سلولی احیا می‌شود و رنگ بنفش به خود می‌گیرند و زمانی که سلول‌ها مرده باشند رنگ احیا می‌نشود و پلیت، رنگ روشن‌تری خواهد داشت. پس از ده دقیقه با استفاده از دستگاه، سمیت سلولی و IC50[1] برای تیمارهای اعمال‌شده محاسبه شد و نمودار آنها رسم گردید.

مقدار سمیت سلولی، با فرمول زیر محاسبه شد.

$$cytotoxicity\% = \frac{OD\ control - OD\ sample}{OD\ control} \times 100$$

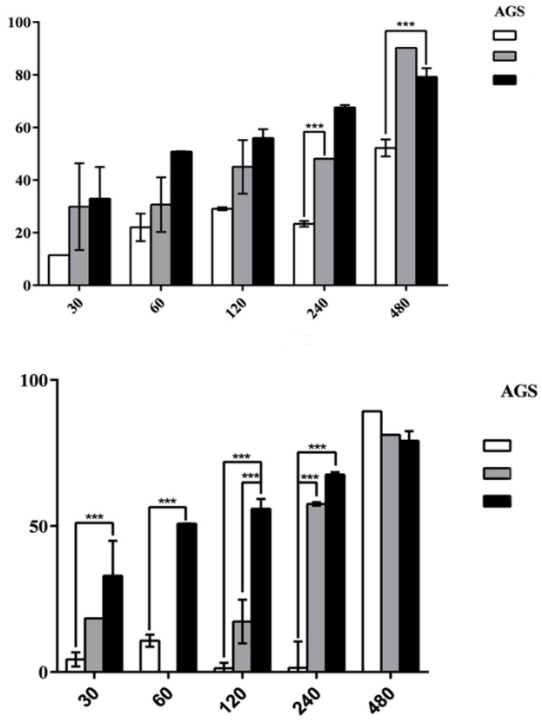
۴.۲. تجزیه و تحلیل آماری

به‌منظور بررسی نتایج به‌دست‌آمده، داده‌ها با نرم‌افزار Graphpad Prism 6 تجزیه‌وتحلیل شدند و تفاوت‌های معنی‌داری مشاهده شد. آزمون Anova برای تعیین معنی‌داری داده‌ها به‌کار رفت.

۳. یافته‌ها

۱.۳. تأثیر کشندگی زیست‌توده و عصاره باکتری *B. japonicum* بر سلول‌های AGS

بررسی عصاره نوع وحشی و جهش‌یافته باکتری *B. japonicum*، و همچنین کنترل مثبت (CaCl2) بر کشندگی سلول‌های AGS نشان داد که تنها در غلظت ۲۴۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر میزان سمیت سلولی عصاره نوع جهش‌یافته باکتری و نوع وحشی، تفاوت معنی‌داری وجود دارد. همچنین بیشترین میزان سمیت مربوط به غلظت ۴۸۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره نوع جهش‌یافته باکتری بود (بیش از ۸۰ درصد کشندگی) (شکل ۱ الف).



شکل ۱. اثر کشندگی عصاره و زیست‌توده نوع وحشی و نوع جهش‌یافته باکتری *Bradyrhizobium japonicum* روی سلول‌های سرطانی معده (AGS).
الف: اثر کشندگی عصاره ب: اثر کشندگی زیست توده.

1. The half maximal inhibitory concentration

www.SID.ir

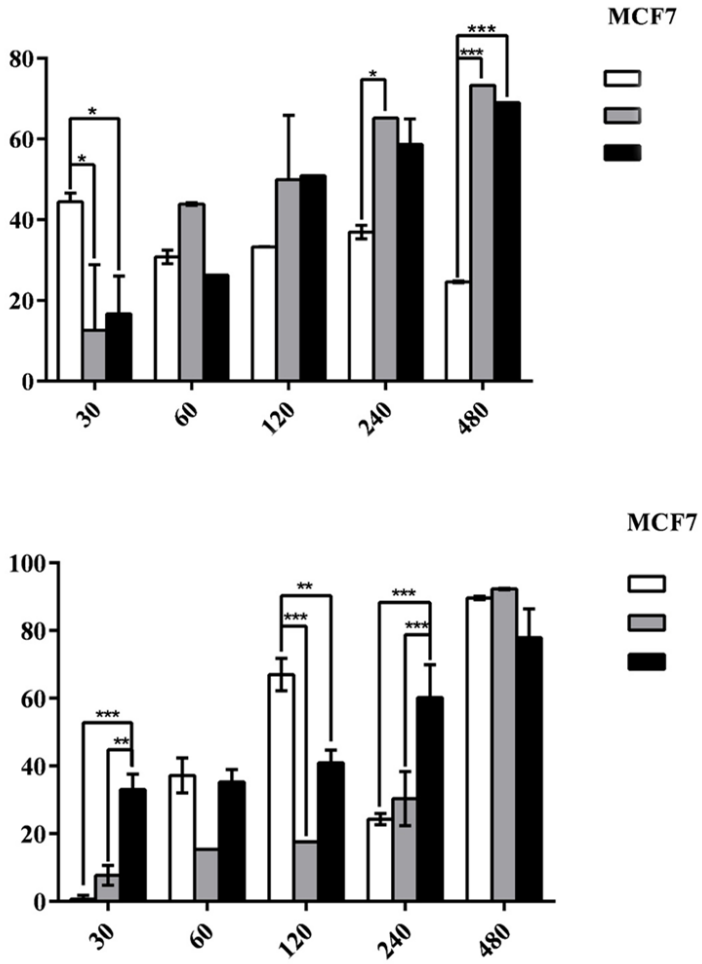
Archive of SID

بررسی زیست‌توده نوع وحشی و جهش‌یافته باکتری، بیشترین میزان کشندگی را در غلظت ۴۸۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر نوع وحشی نشان داد (نزدیک به ۹۰ درصد). میزان سمیت سلولی زیست‌توده نوع وحشی و جهش‌یافته در غلظت ۲۴۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، اختلاف به شدت معنی‌داری را نشان دادند ($P < ۰/۰۰۱$) (شکل ۱ ب).

۲.۳. تأثیر کشندگی زیست‌توده و عصاره باکتری *B. japonicum* بر سلول‌های MCF7

تجزیه‌وتحلیل داده‌ها، اختلاف معنی‌داری برای میزان سمیت سلولی میان عصاره نوع وحشی و جهش‌یافته باکتری برادی رایزوبیوم در غلظت ۳۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر نشان داد که بیشترین میزان مربوط به نوع وحشی بود ($P < ۰/۰۵$). همچنین در غلظت ۲۴۰ و ۴۸۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر سمیت سلولی عصاره نوع جهش‌یافته در مقایسه با نوع وحشی، معنی‌دار و نزدیک به دو برابر بیشتر از نوع وحشی بود (شکل ۲ الف).

میزان سمیت زیست‌توده نوع وحشی و جهش‌یافته باکتری برادی رایزوبیوم روی سلول در غلظت ۱۲۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، تفاوت به‌شدت معنی‌داری را نشان دادند. بیشتر میزان کشندگی در این غلظت، مربوط به زیست‌توده نوع وحشی باکتری می‌باشد (شکل ۲ ب).



شکل ۲. تأثیر کشندگی عصاره و زیست‌توده نوع وحشی و جهش‌یافته باکتری *Bradyrhizobium japonicum* بر سلول‌های سرطانی پستان (MCF7)

الف: اثر کشندگی عصاره ب: اثر کشندگی زیست‌توده

۳.۳. میزان IC۵۰ عصاره و زیست‌توده باکتری *B. japonicum*

جدول ۱ میزان ممانعت از رشد ۵۰ درصدی رده‌های سلول سرطانی معده (AGS)و پستان (MCF7) را تحت تأثیر عصاره زیست‌توده و عصاره انواع وحشی و جهش‌یافته باکتری *B. japonicum* نشان داده است. طبق آنچه در جدول ۱ آورده شده است بیشترین میزان IC۵۰ برای سلول‌های AGS بر اثر عصاره نوع وحشی این باکتری بوده

www.SID.ir

Archive of SID

است. همچنین در سلول‌های MCF7 بیشترین میزان مربوط به اثر زیست‌توده نوع جهش‌یافته آنها می‌باشد.

جدول ۱. میزان IC۵۰ برای سلول‌های AGS و MCF7.

	AGS		MCF7	
	وحشی	جهش‌یافته	وحشی	جهش‌یافته
عصاره	۴۳۷/۴۰۵۵	۲۴۹/۳	۹۲/۵۸۷۷	۲۲۴/۹۶۸۱
زیست‌توده	۳۶۸/۲۴۶	۲۳۷/۶۳۳۵	۹۳/۲۲۲۵	۲۸۲/۷۵۹۸

٤. بحث و نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر، تأثیر سمیت عصاره زیست‌توده و عصاره دو نوع وحشی و جهش‌یافته باکتری *B. japonicum* بر رده‌های سلولی AGS، MCF7 مشخص گردید. نتایج نشان داد تأثیرات سمیت در این رده‌های سلولی، وابسته به غلظت است و با افزایش غلظت، اثر کشندگی بیشتر می‌شود.

سرطان، رشد بی‌رویه سلول‌ها است که اصلی‌ترین ویژگی آن، تکثیر غیرقابل کنترل سلولی و مقاومت آن به مرگ برنامه‌ریزی‌شده می‌باشد. عاملی که باعث مرگ برنامه‌ریزی‌شده در سلول‌های سرطانی می‌شود می‌تواند به‌عنوان یک ماده ضدسرطان شناخته شود [۱۴, ۲۰]. تلاش‌های بسیاری برای تضعیف ویروس‌ها و باکتری‌ها به‌منظور استفاده از آنها برای مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلول‌های سرطانی صورت گرفته است. نتایج حاصل از این تحقیقات نشان می‌دهد که این روش، علاوه بر کشتن سلول‌های سرطانی می‌تواند تأثیر سمیت بالایی بر سلول‌های سالم داشته باشد و در نتیجه، ایمنی بدن را به خطر بیاندازد [۲۱-۲۳]. در طول یک دهه گذشته، سالمونلا، کلستریدیوم و جنس‌های دیگر باکتریایی به‌طور مؤثر در کنترل رشد تومور، مطالعه شده‌اند. همچنین افزایش بقا در مدل‌های حیوانی را نشان داده‌اند [۱۰, ۲۴]. باکتری‌ها به روش‌های مختلف در درمان سرطان به‌کار می‌روند. برای مثال با تزریق داخل وریدی یا مستقیم داخل بافت (ازطریق لوله ادراری به داخل مثانه) باسیلوس *Calmette-Guerin*، از پیش‌روی انتقال سلول‌های سرطانی اپیتلیال مثانه جلوگیری می‌کنند [۲۵]. اگرچه این روش، کارساز بوده است اما استفاده مستقیم از این باکتری، میزان تأثیرگذاری با سمیت بالایی را بر سلول‌های سالم بیماران نشان داده است [۲۶].

باکتری‌های *B. japonicum* از نوع باکتری‌های خاک‌زی هستند که در فرایند هم‌زیستی با گیاه سویا وارد می‌شوند و طی این روند منجر به تشکیل غده روی ریشه گیاه می‌گردند. از دو جنبه، بررسی این باکتری در درمان سرطان انسان‌ها مورد توجه است: ۱- این باکتری برای انسان، بیماری‌زا نیست و ۲- از عصاره کشته‌شده باکتری استفاده می‌شود. بهترین میزان تأثیر کشندگی در این بررسی را می‌توان غلظت ۱۲۰ میکروگرم در میلی‌لیتر عصاره نوع وحشی باکتری برادی رایزوبیوم با P value ۰/۰۵ برای AGS و ۰/۰۰۱ برای MCF7 در نظر گرفت؛ زیرا در این میزان، بیش از ۳۰ درصد کشندگی رده سلول‌های AGS و MCF7 را نشان می‌دهد و همچنین بیشترین میزان IC۵۰ را بر رده سلولی AGS نشان می‌دهد. غلظت ۴۸۰ میکروگرم در میلی‌لیتر در همه نمونه‌ها تقریباً بیشترین میزان کشندگی را نشان می‌دهد. عسکری و همکاران (۱۳۹۵) اثرگذاری عصاره باکتری بومی پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی روی مرگ سلول‌های سرطانی کولون (HT29) را بررسی کرده‌اند [۸] و نشان دادند که غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر عصاره، بهترین میزان مهارکنندگی رشد سلول سرطانی را دارد و میزان IC۵۰ ۴۹/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر در آن مطالعه گزارش کردند؛ در مقایسه با پژوهش حاضر می‌توان گفت زیست‌توده و عصاره نوع وحشی و نوع جهش‌یافته باکتری *B. japonicum* تأثیر به‌سزایی بر کشندگی و مهارکنندگی سلول‌های سرطانی در غلظت‌های نسبتاً پایین داشته است.

References

[1]. Tauriello DV, Calon A, Lonardo E, Batlle E. Determinants of metastatic competency in colorectal cancer. *Mol Oncol*. 2017; 11: 97-119.

[2]. Anastas JN, Moon RT. WNT signalling pathways as therapeutic targets in cancer. *Nat Rev Cancer*. 2013; 13:11.

[3]. Reyhani M, Mosadegh F, Nayeri H, Tarkesh N. The relationship between Isoflavone intake from soy consumption and breast Cancer in Isfahan women. *Ijbd*, 2011; 4: 44-46.

www.SID.ir

Archive of SID

[4]. Lof M, Weiderpass E. Impact of diet on breast cancer risk. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2009; 21: 80-85.
[5]. mith JE, Rowan NJ, Sullivan R. Medicinal mushrooms: a rapidly developing area of biotechnology for cancer therapy and other bioactivities. *Biotechnol Lett*. 2002; 24: 1839-1845.
[6]. Ikekawa T. Beneficial effects of edible and medicinal mushrooms on health care. *JAIM*. 2001; 3: 8
[7]. Mara Kich D, Vincenzi A, Majolo F, Volken de Souza CF, Goettert MI. Probiotic: effectiveness nutrition in cancer treatment and prevention. *Nutr Hosp* 2016; 33: 1431-1437
[8]. Ali Asgari E, Mirzaie A, Noorbazargan H, Bagheri Kashtali A. Cytotoxicity Effect of Lactobacillus casei Cell Extract as Indigenous Probiotic Bacterium on Colon Cancer Cell Line (HT29) and Analysis of Bax and Bcl2 Apoptosis Gene Expression. *Armaghane danesh*. 2017; 21: 1192-1206 (Persian)
[9]. Abad CL, Safdar N. The role of lactobacillus probiotics in the treatment or prevention of urogenital infections–a systematic review *J. Chemother*. 2009; 21: 243-252.
[10]. Ryan RM, Green J, Lewis CE. Use of bacteria in anti-cancer therapies. *Bioessays*. 2006; 28: 84-94.
[11]. Liu S, Xu X, Zeng X, Li L, Chen Q, Li J. Tumor-targeting bacterial therapy: A potential treatment for oral cancer. *Oncol. Lett*. 2014; 8: 2359-2366.
[12]. Yaaghoubi H., Bandepour M.,Kazemi B. Application of bacteria in the treatment of cancer. *NCMBJ*. 2016; 26: 97-100 (Persian)
[13]. Rad AH, Abbasi A, Kafil HS, Ganbarov K. Potential pharmaceutical and food applications of postbiotics: a review. *Curr. Pharm. Biotechnol*. 2020;21(15):1576-1587.
[14]. Torres JB, Mosley M, Koustoulidou S, Hopkins S, Knapp S, Chaikuad A, Kondoh M, Tachibana K, Kersemans V, Cornelissen B. Radiolabeled cCPE Peptides for SPECT Imaging of Claudin-4 Overexpression in Pancreatic Cancer. *J. Nucl. Med*. 2020; 61(12):1756-1763.
[15]. Shrestha A, Uzal FA, McClane BA. Enterotoxic clostridia: Clostridium perfringens Enteric Diseases. *Microbiol. Spectr*. 2018; 6(5): 10./microbiolspec.GPP3-0003-2017.
[16]. Mirzaei S, Batley, J, Ferguson BJ, Gresshoff PM. Transcriptome profiling of the shoot and root tips of *S562L*, a soybean *GmCLVATA1A* mutant. *Atlas J Biol*. 2014;3(1):183-205
[17]. Mirzaei S, Batley, J, EI-Mellouki T, Liu S, Meksem K, Ferguson BJ, Gresshoff PM. Neodiversification of homeologous CLAVATA1-like receptor kinase genes in soybean leads to distinct developmental outcomes. *Sci. Rep*. 2017; 7:8878, doi: 10.1038/s41598-017-08252-y.
[18]. Abou-Shanab RA, Wongphatcharachai M, Sheaffer CC, Orf JC, Sadowsky MJ. Competition between introduced Bradyrhizobium japonicum strains and indigenous bradyrhizobia in Minnesota organic farming systems. *Symbiosis*. 2017; 73: 155-163.
[19]. Hwang J-H, Takagi M, Murakami H, Sekido Y, Shin-ya KJCl. Induction of tubulin polymerization and apoptosis in malignant mesothelioma cells by a new compound. *JBIR*. 23. 2011; 300: 189-96.
[20]. Wong RS. Apoptosis in cancer: from pathogenesis to treatment. *J Exp Clin Cancer Res*. 2011; 30: 87.
[21]. van Puffelen JH, Keating ST, Oosterwijk E, van der Heijden AG, Netea MG, Joosten LA, Vermeulen SH. Trained immunity as a molecular mechanism for BCG immunotherapy in bladder cancer. *Nat. Rev. Urol* 2020; 17(9):513-525.
[22]. Enejiyon SO, Adabara NU, Wuna MM, Fasasi RA. Salmonella Typhimurium as a potential anticancer agent: A Review. *SLJID*. 2020; 10(2):98-113.
[23]. Pyeon D, Vu L, Giacobbi NS, Westrich JA. The antiviral immune forces awaken in the cancer wars. *PLoS Pathog*. 2020; 16(9):e1008814.
[24]. St Jean AT, Zhang M, Forbes NS. Bacterial therapies: completing the cancer treatment toolbox. *Curr Opin Biotechnol* 2008; 19(5): 511-517.
[25]. Kaasinen E, Wijkström H, Rintala E, Mestad O, Jahnson S, Malmström PU. Seventeen-year follow-up of the prospective randomized Nordic CIS study: BCG monotherapy versus alternating therapy with mitomycin C and BCG in patients with carcinoma in situ of the urinary bladder. *Scand J Urol* 2016; 50(5):360-368.
[26]. Kim SJ, You D, Jeong IG, Song C, Hong B, Kim CS, Ahn H, Hong JH. Prognosis of carcinoma in situ according to the presence of papillary bladder tumors after Bacillus Calmette–Guérin immunotherapy. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 2019; 145(8):2131-2140.

www.SID.ir

Archive of SID

Cytotoxicity effects of Extract and Biomass of the Wild and Mutant Types of *Bradyrhizobium japonicum* on the Breast & Stomach Cancer Cells

Saeid Mirzaei[1]*, Malek Hossein Asadi[2], Pegah Hejazi[3], Babak Taghipour[4]

1. Assistant Professor, Department of Biotechnology, Institute of Science and High Technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran.
2. Associate Professor, Department of Biotechnology, Institute of Science and High Technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran.
3. M.Sc. Student, Department of Biotechnology, Institute of Science and High Technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran.
4. M.Sc. Student, Department of Biotechnology, Institute of Science and High Technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran.

Abstract

Introduction: Stomach cancer and breast cancer are most common cancers in the world and in Iran. Today, the use of fungal and bacterial extractions has been interesting to cancer researchers. *Rhizobium* is a highly beneficial bacteria in agriculture and environment that provides the nitrogen needed for Legume family plants through coexistence with this family.

Materials and Methods: In this study, the effect of *Bradyrhizobium* cell extraction and its mutated type on the cancer of breast (MCF7) and stomach (AGS) was investigated.

Material and Methods: Cytotoxicity effect of different concentration of *Bradyrhizobium japonicum* biomass and extract on stomach and breast cancer cells was investigated using MTT colorimetric method. Data analysis were conducted using Graphpad Prism 6.0 software and ANOVA method.

Results: The findings showed that both wild type and mutant type of bacteria had a significant meaningful effect on both types of cancer cells and their cytotoxicity was dependent on the concentration of extract or biomass (the lowest rate was observed at a concentration of 30 and at most 480 Micrograms per ml). In most cases biomass showed a better effect than extract.

Conclusion: In general, this study showed the effect of extract and biomass of *Bradyrhizobium* bacteria cytotoxicity on cancer cells, which could be used as a source for antineoplastic agent.

Received: 2019/03/09
Accepted: 2019/07/29

Keywords: Breast Neoplasms, Stomach Neoplasms, Bacteria, *Bradyrhizobium,* Fabaceae, Antineoplastic Agent.

www.SID.ir