

بسمه تعالی



گزارش نهایی طرح

طراحی و تولید نانو بادی ضد گیرنده MUC1 و بررسی اثر آن بر میزان بیان گیرنده های استروژنی، پروژسترونی، HER2 و FZ به منظور از بین بردن مقاومت به درمان های مربوطه

کد طرح مصوب جهاد دانشگاهی: ۳۰۳۹

کد مصوب کمیته اخلاق در پژوهش: IR.ACECR.IBCRC.REC.۱۳۹۷,۰۱۰

مسئول اجرای طرح: دکتر لیلا فرهمند

واحد سازمانی مجری: پژوهشکده معتمد جهاد دانشگاهی

گروه پژوهشی: پروتئین های نو ترکیب

ماه و سال اختتام طرح:

دیماه ۱۳۹۸

مشخصات مسئول و همکاران طرح مطابق پرسشنامه مصوب:

ردیف	نام و نام خانوادگی	مسئولیت در طرح	تخصص	وابستگی سازمانی	جمع کل نفر ساعت همکاری در طرح
۱	لیلا فرهمند	مجری طرح	زیست فناوری دارویی	هیات علمی پژوهشکده سرطان پستان	۸
۲	شیرین مرادی	همکار طرح	بیوتکنولوژی پزشکی	هیات علمی پژوهشکده سرطان پستان	۲۵
۳	ندا جلیلی	همکار اصلی	ژنتیک	پژوهشکده سرطان پستان	۸
۴	ملیحه صالحی	همکار طرح	بیوتکنولوژی میکروبی	پژوهشکده سرطان پستان	۸
۵	مهديه شکراللهی	همکار طرح	ایمونولوژی	پژوهشکده سرطان پستان	۳۵
۶	سپیده کاظمی	همکار طرح	سلولی تکوینی	پژوهشکده سرطان پستان	۸
۷	نازنین ناصری	همکار طرح	ژنتیک	پژوهشکده سرطان پستان	۳۵
۸	نرگس ایروانی جعفر بیگ	همکار طرح	زیست شناسی سلولی و مولکولی	پژوهشکده سرطان پستان	۸

چکیده فارسی

اهداف: سرطان پستان نوعی نئوپلازی بدخیم ایجاد شده در توده پستان است که به عنوان یک بیماری، توسط عوامل بیولوژیکی مختلف ایجاد می شود. طیف وسیعی از بیماران مبتلا به سرطان پستان از نظر بیان ژن های گیرنده استروژن (ER)، پروژسترون (PR) مثبت می باشند و علاوه بر شیمی درمانی داروهای هورمون تراپی نیز دریافت می کنند. همچنین میزان بیان ژن HER2 در ۲۵-۲۰٪ موارد سرطان پستان بطور غیر عادی افزایش یافته و اندیکاسیون تشخیصی پیدا می کند و منجر به پیش آگهی ضعیف در بیماران می شود. طراحی و تولید آنتی بادی مونوکلونال علیه آنتی ژن HER2 (تراستوزوماب) باعث شد تا طیف وسیعی از بیمارانی که HER2⁺ بودند نجات پیدا کنند. با این حال، در بعضی موارد مقاومت ذاتی یا اکتسابی در برابر تاموکسیفن و تراستوزوماب مشکل اصلی پیش رو در درمان این گروه از بیماران است. انکوپروتئین گذرنده از غشاء MUC1 در همکاری با گیرنده HER2 و ER و PR در سلول های مقاوم دچار افزایش بیان می شود و منجر به ادامه فرآیند رشد و تکثیر سلولی از طریق مسیر های سیگنالی مرتبط با MUC1 می شود. ژن FZD به عنوان مهمترین پروتئین دخیل در مسیر سیگنالی Wnt در بسیاری از موارد منجر به مقاومت دارویی دخیل است که مطالعه میزان بیان آن در بسیاری از سرطان های تهاجمی جزو اهداف مهم درمانی است. هدف از این مطالعه، بررسی تغییرات سطح بیان HER2، ER، PR و FZD در سلول های سرطانی پستان قبل و بعد از درمان با آنتی بادی ضد MUC1 است.

روش مطالعه: سلول های SKBR3، T47D و MDA-MB231 با استفاده از محیط کشت اختصاصی شامل ۱۰٪ FBS + DMEM، ۱٪ Penicillin/Streptomycin کشت داده شد. پس از طی مرحله اپتیمایز کردن و انتخاب دوز موثر، به فلاسک گروه تست دوز موثر ۳۵ میکروگرم در میلی لیتر anti MUC1 اضافه گردید و پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون در انکوباتور ۳۷ درجه حاوی ۵ درصد دی اکسید کربن و ۹۵ درصد رطوبت، فلاسک ها تریپسینه و سلول های آن جدا و RNA سلول ها استخراج شد. در نهایت از روی RNA، cDNA سنتز و سپس برای سنجش میزان بیان ژن های HER2، ER، PR و FZD و β actin به عنوان ژن کنترل داخلی از روش SYBR Green Real time PCR استفاده شد.

نتایج: دوز ۳۵ $\mu\text{g/ml}$ به خاطر اثر معنی دار آن در افزایش بیان ژن نسبت به سایر دوزها بود ($P < 0.05$) به عنوان دوز موثر آنتی بادی ضد MUC1 انتخاب شد که این دوز ترتیب باعث افزایش بیان ۳۵ و ۱۶ برابری ژن ER و PR در رده ی سلولی T47D شد و افزایش بیان ۳،۶ برابری گیرنده HER2 در رده سلولی SKBR3 شد. میزان بیان ژن Fz بعد از تیمار با آنتی بادی در سلول T47D ۵۰ درصد کاهش یافت و در سلول MDA-MB231 صد برابر کاهش دیده شد.