

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



عنوان طرح: شناسایی ترکیبات پروتئینی دارای اثرات سمیت سلولی
از قارچ خوراکی دکمه‌ای سفید نژاد تجاری A15

کد طرح: ۶۰۱۲

واحد سازمانی مجری: سازمان جهاد دانشگاهی استان خراسان رضوی
پژوهشکده معتمد جهاد دانشگاهی (مرکز تحقیقات سرطان پستان)

گروه پژوهشی: گروه پژوهشی زیست فناوری قارچ‌های صنعتی

گروه پژوهشی طب فراگیر در سرطان

مسئول اجرای طرح: حمید رضا پوریان فر

علیرضا مجید انصاری

ماه و سال اختتام طرح:

مهر ۱۳۹۹

مشخصات مسئول و همکاران طرح مطابق پرسشنامه مصوب:

ردیف	نام و نام خانوادگی	مسئولیت در طرح	تخصص	رتبه	جمع کل نفر ساعت همکاری در طرح
۱	حمید رضا پوریان فر	مجری		استادیار پژوهش	۷۲۰
۲	علیرضا مجید انصاری	مجری		مرئی پژوهش	۷۲۰
۳	علیرضا قاسم پور	همکار (FPLC و سایر آنالیزهای پروتئین)		استاد	۶۰
۴	شراره رضائیان	همکار اصلی (استخراج پروتئین، آزمایشات سلولی، آنالیز داده‌ها)		استادیار پژوهش	۱۲۰
۵	جواد جانپور	همکار (بررسی منابع در گزارش‌ها)		مرئی پژوهش	۸۰
۶	حسن صنعتی	همکار اصلی (آزمایشات سلولی)			۲۴۰
۷	لیلا فرهمند	همکار (طراحی و بهینه‌سازی آزمایشات پروتئین)		استادیار پژوهش	۳۲
۸	علی سالاری تبار	همکار (آنالیز روابط ساختار-عمل پروتئین SAR)			۳۲
۹	صفورا محمد نژاد	همکار (آزمایشات کشت سلول)		کارشناسی ارشد	۸۰
۱۰	حسین احمد زاده	مشاور (مشاور در گزارش‌ها)		استاد	۶۰

تقدیر و تشکر:

از دفتر تخصصی کشاورزی و منابع طبیعی جهاددانشگاهی برای حمایت مالی و معنوی از این طرح و همچنین همکاری و صبوری در طی تاخیرات در اجرا و ارسال گزارشات طرح صمیمانه تشکر و تقدیر بعمل می‌آید.

هدف: در این پژوهش، هدف بهینه سازی استخراج و آنالیز پروتئین تام از قارچ خوراکی دکمه‌ای سفید و قارچ لنتینوس تیگرینوس بومی ایران، شناسایی اثرات سمیت سلولی آن‌ها در دو رده سلولی MCF-7 (رده سلولی سرطان پستان) و PC3 (رده سلولی سرطان پروستات) و همچنین یک رده سلولی نرمال HU02 (فیبروبلاست پوست انسانی) بود. جداسازی فرکشن‌های پروتئینی متعدد از پروتئین تام هر دو قارچ و بررسی اثر ضد سرطانی آنها در کشت سلول و در انتها جداسازی، شناسایی و تخلیص فرکشن یا فرکشن‌های پروتئینی دارای خواص بازدارندگی رشد سلول‌های سرطانی در هر دو قارچ در نظر بوده است.

روش: در این پژوهش از میوه تازه قارچ‌های دکمه‌ای و قارچ لنتینوس تیگرینوس استفاده و به وسیله بافر PBS استخراج پروتئین تام انجام شد. آزمایشات سمیت سلولی با استفاده از روش MTT همراه با مشاهدات میکروسکوپی انجام شد. جداسازی فراکشن‌ها با استفاده از دستگاه FPLC انجام شد.

نتایج: پروتئین تام قارچ دکمه‌ای در مجموع اثرات سمیت کمتری نسبت به پروتئین تام قارچ لنتینوس تیگرینوس داشت ($p \leq 0.05$). همچنین سلول PC3 حساسیت بیشتری نسبت به پروتئین قارچ در مقایسه با سلول MCF-7 داشت ($p \leq 0.05$). مقدار ۵۰٪ بازدارندگی پروتئین تام قارچ دکمه‌ای در سلول MCF-7 و سلول PC3 به ترتیب بیش از ۱۰۰۰ و ۲۹۱/۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر برآورد شد. این اعداد برای پروتئین تام قارچ لنتینوس تیگرینوس در سلول MCF-7 و سلول PC3 به ترتیب ۱۹۳/۵ و ۳۳/۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر برآورد شد. علاوه بر این، برای درک مکانیسم اثر پروتئین تام، از فلوسایتومتری مبتنی بر توسط رنگ آمیزی V-FITC/PI استفاده شد که نشان داد پروتئین تام محلول قارچ لنتینوس تیگرینوس در ۷۰ میکروگرم در میلی‌لیتر، به ترتیب حدود ۴۵ و ۷۰ درصد از سلول‌های MCF-7 و PC3 را از طریق القای آپوپتوز در طی ۶ ساعت پس از تیمار از بین برد. سپس، پروتئین تام هر دو قارچ با استفاده از FPLC و تغلیظ با ستون آمیکون، بر اساس بار هر کدام به ۵ فرکشن مختلف تجزیه شدند. آزمایشات سلولی این ۵ فرکشن نشان داد که در قارچ لنتینوس تیگرینوس، فرکشن Lt5 موجب بازدارندگی در حد ۸۰٪ و ۶۰٪ به ترتیب در سلول‌های MCF-7 و PC3 شد. این فرکشن هیچگونه اثر معنادار سمیت سلولی بر روی سلول نرمال HU02 نداشت. در قارچ دکمه‌ای، فرکشن Ab2 موجب بازدارندگی در حد ۳۰٪ و ۷۱٪ به ترتیب در سلول‌های MCF-7 و PC3 شد. این فرکشن اثر ۳۱٪ بر روی سلول نرمال HU02 نداشت. در تمامی آزمایشات سلولی، تصاویر میکروسکوپی به طور روزانه ثبت و هماهنگی آن با نتایج کمی بررسی شد. دو فرکشن پروتئینی انتخابی از دو قارچ مورد مطالعه در تحقیقات بعدی برای شناسایی جزء موثر و خالص سازی و در نهایت توالی پروتئین استفاده خواهند شد.

کلیدواژگان: قارچ دکمه‌ای، قارچ لنتینوس تیگرینوس، پروتئین، سمیت سلولی، القای آپوپتوز، کروماتوگرافی مایع تجزیه‌ای پروتئین، تبادل یونی