

بررسی خاصیت آپوپتوزی نانو ذره نقره سنتز شده به روش سبز از گیاه *Moringa olifera* بر بیان ژن MLH1 علیه رده سلولی سرطان کلورکتال

حمیده خواجه، صالحه گنجعلی، حدیثه فرزانه

چکیده:

مقدمه

ژن MLH1 (Mult homolog 1) عنصر اصلی هتروداایم Multia بوده و در ترمیم عدم تطابق باز- باز و لوپ حذف و اضافه نقش دارد. هنگامی که پروتئین MLH1 حضور ندارد، تعداد خطاهایی که تعمیر نشده باقی میمانند، افزایش مییابد و این مهم میتواند منجر به ایجاد تومور در بدن شود. سرطان کلورکتال سومین نوع شایع سرطان از نظر بروز و سومین نوع سرطان از نظر مرگ و میر در سراسر جهان گزارش شده است در این راستا، پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر نانوذره نقره زیستی برخواص ضد سرطانی و بیان ژن MLH1 در نمونه سلول سرطانی افراد مبتلا به سرطان کلورکتال انجام شد.

مواد و روشها: در این مطالعه سنتز سبز نانوذرات نقره از روش رسوب گذاری با احیای یون های نقره توسط عصاره گیاه مورینگا الیفر انجام گرفت. سپس، نانوذرات نقره با استفاده اده از طیف سنجی مرئی فرابنفش، میکروسکوپ الکترونی گذاره و روبشی تایید شدند. اثرات سمیت سلولی نانو ذرات بر روی سلول ها با روش رنگ سنجی MTT طی 42 ساعت مورد ارزیابی قرار گرفت. پس از استخراج RNA سلولهای تیمار شده و سنتز cDNA و پرایمرها به روش Exon-Exon Junction طراحی شد و آزمون Real-time Polymerase برای ژن های *MLH1* و *Beta-actin* به صورت سه بار تکرار انجام شد. آنالیز نهایی نتایج با استفاده از نرم افزار گراف پد پریسم و Rest 2009 صورت گرفت.

یافته ها: وجود پیک در طول موج 234 نانومتر برای نانو ذرات نقره سنتز شده با آنالیز طیف سنجی مرئی فرا بنفش تایید شد. مطالعه ریخت شناسی روی اندازه و شکل نانو ذرات نقره نشان داد که نانو ذرات شکل کروی داشته و اندازه ای بین 40 تا 34 نانومتر قطر دارند. نتایج MTT نشان داد که اثر ضد تکثیری نانو ذرات بستگی به غلظت نانو ذره نقره سنتز شده دارد. تیمار رده سلولی سرطانی *MLH1* و نرمال با نانو ذرات سنتز شده در غلظت 044 میکرو گرم در میلی لیتر در مدت 42 ساعت بررسی اثرات سمیت سلولی نشان داد، درصد مرگ سلولهای سرطانی تحت تأثیر کوثرستین موجود در نانو ذره زیستی سبز مورینگا وابسته به غلظت و زمان بوده و این تفاوت از نظر آماری نسبت به گروه کنترل معنی دار $P < 0/05$ است. بیه طوری که دوز کشنده عصاره برای 50% زنده مانی IC_{50} در بازهی زمانی 48 ساعته برای سلولهای سرطانی روده برابر با 13.22 $\mu g/ml$ بدست آمد. و نسبت بیان ژن *MLH1* در بافت تومور به بافت سالم مجاور آن افزایش بیان داشته داشته است. ($P \leq 0.05$).

Absterac

Investigating the apoptotic property of silver nanoparticles synthesized by green method from *Moringa olifera* plant on MLH1 gene expression against colorectal cancer cell line

salehe ganjali¹ Hamideh khajeh²Hadiseh Farzanfar³

1. Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran

2. Agricultural Biotechnology Research Institute, University of Zabol, Zabol, Iran

3. Department of Genetics, Faculty of Science, Payam Noor University, Tehran, Iran

homolog1) gene is the main element of the Multla heterodimer and plays a role in the repair of base-base mismatches and deletion and addition loops. When the MLH1 protein is not present, the number of errors that remain unrepaired increases, and this can lead to the formation of tumors in the body. Colorectal cancer is the third most common type of cancer in terms of incidence and the third type of cancer in terms of mortality worldwide. In this regard, the present study aims to investigate the effect of biological silver nanoparticles with anti-cancer properties and MLH1 gene expression in cancer cell samples of people with Colorectal cancer was performed. In this study, the green synthesis of silver nanoparticles was carried out by precipitation method with reduction of silver ions by *Moringa oleifera* plant extract. Then, silver nanoparticles were confirmed using UV-visible spectroscopy, transmission and scanning electron microscopy. The cytotoxic effects of nanoparticles on cells were evaluated by MTT colorimetric method within 42 hours. After RNA extraction of treated cells, cDNA synthesis and primers were designed by Exon-Exon Junction method and Real-time Polymerase test for MLH1 and Beta-actin genes was repeated three times. The final analysis of the results was done using Graphpad Prism and Rest 2009 software. The presence of a peak at the wavelength of 234 nm for the synthesized silver nanoparticles was confirmed by ultraviolet-visible spectroscopic analysis. The morphological study on the size and shape of the silver nanoparticles showed that the nanoparticles are spherical in shape and have a size between 40 and 34 nanometers in diameter. MTT results showed that the anti-proliferative effect of nanoparticles depends on the concentration of synthesized silver nanoparticles. The treatment of MLH1 cancer cell line and normal with synthesized nanoparticles at a concentration of 044 micrograms per ml for 42 hours showed the effects of cell toxicity. The percentage of cancer cell death under the influence of quercetin present in moringa green bio-particles depends on the concentration and time, and this difference is statistically significant compared to the control group ($P < 0.05$). So that the lethal dose of the extract for 50% survival IC₅₀ in a period of 48 hours for intestinal cancer cells was equal to 13.22 μ g/ml. And the expression ratio of MLH1 gene in the tumor tissue to the adjacent healthy tissue has increased. ($P \leq 0.05$) .).