بسم الله الرحمن الرحيم

دانشگاه اصفهان

دانشکده علوم و فناوری‌های نوین

گروه بیوتکنولوژی

پایان نامه‌ی کارشناسی ارشد رشته‌ی زیست‌فناوری (بیوتکنولوژی)گرایش میکروبی

بررسی اثرات ضد سرطانی و ضد باکتریایی عصاره برگ حرا (*Avicennia marina*) در شرایط *In vitro*

استاد راهنما:

دکتر ماندانا بهبهانی

استادان مشاور:

دکتر حجت صادقی علی آبادی

دکتر حمید زرکش

پژوهشگر:

عباس ممتازی بروجنی

آبان ماه ۱۳۸۹

کلیه حقوق مادی مترتب بر نتـایج مطالعـات، ابتکـارات و نـوآوری هـای ناشـی از تحقیـق موضوع این پایان نامـه متعلـق بـه دانـشگاه اصفهان است.

دانشگاه اصفهان

دانشکده علوم وفناوری‌های نوین

گروه بیوتکنولوژی

پایان نامه ی کارشناسی ارشد رشته ی زیست فناوری (بیوتکنولوژی) گرایش میکروبی

آقای عباس ممتازی بروجنی تحت عنوان

بررسی اثرات ضد سرطانی و ضد باکتریایی عصاره برگ حرا *(Avicennia marina)* در شرایط *In vitro*

در تاریخ ۸۹/۹/۳ توسط هیأت داوران زیر بررسی و با **درجه عالی** به تصویب نهایی رسید.

۱- استاد راهنمای پایان نامه **دکتر ماندانا بهبهانی** با مرتبه ی علمی استادیار امضا

۲- استادان مشاور پایان نامه **دکتر حجت صادقی** _ **دکتر حمید زرکش** با مرتبه ی علمی دانشیار امضا

۳- استاد داور داخل گروه **دکتر مهرناز کیهان فر** با مرتبه ی علمی استادیار امضا

۴- استاد داور خارج از گروه **دکتر منوچهر توسلی** با مرتبه ی علمی استادیار امضا

امضای مدیر گروه

شکر ذات بیکران خالق، هستی که در تمام لحظه های عمر حضورش آرمش بخش دل است

شایسته است فرصت را مغتنم شمرده از زحمات بی دریغ و راهنمایی های عالمانه اساتید بزرگوار و ارجمندم

سرکار خانم دکتر ماندانا بهبهانی، جناب آقایان دکتر حجت صادقی علی آبادی و دکتر حمید زرکش

نهایت سپاس و قدردانی را داشته باشم.

همچنین از تک تک اعضای خانواده عزیزم، خصوصاً پدر و مادر مهربان و زحمتکشم، که در تمام مسیر علم و زندگی مرا راهنمایی و همراهی نموده اند نهایت تشکر و قدردانی را دارم.

«تقدیم به پدر و مادر عزیزتر از جانم میکنم
تا گوشه ای از زحمات ایشان را جبران کرده باشم»

چکیده

زمینه و هدف

گیاه حرا (*Avicennia marina*) یکی از گیاهان دارویی ایران و از اعضای خانواده آکانتاسه است که در مناطق حاره ای و نیمه حاره ای می روید. هدف از این مطالعه بررسی اثرات ضد سرطانی و ضد باکتریایی عصاره های مختلف برگ گیاه حرا است. در این پژوهش مکانیسم اثر ضد سرطانی یک فراکسیون جداسازی شده از عصاره متانولی بر روی سلول های سرطان سینه انسانی بررسی گردید.

روش ها:

برگ گیاه حرا در فروردین ماه سال ۱۳۸۸ از جزیره قشم جمع آوری شد. برگ ها پس از شستشو با آب در دمای اتاق خشک گردیده و آسیاب شدند. پودر برگ ها با کلروفرم، هگزان، متانول، اتانول و آب در دمای اتاق به مدت سه روز بر روی شیکر و با سه بار تکرار عصاره گیری شدند. عصاره متانولی با روش ستون کروماتوگرافی بر روی سیلیکاژل خالص سازی شده و اثر ضد سرطان فراکسیون های حاصل بررسی گردید. رده سلولی نرمال فیبروبلاست موشی (L929) و رده سلولی سرطان سینه انسانی (MDA-MB231) در فلاسک های کشت در محیط DMEM با ۱۰٪ سرم جنین گاوی کشت داده شدند. اثر سایتوتوکسیسیتی غلظت های مختلف عصاره ها ی حاصل از گیاه حر ا بر روی سلول های کشت داده شده با استفاده از روش MTT اندازه گیری شد. میزان بیان ژن *TP53* و *BCL-2* که نقش مهمی در تنظیم آپوپتوز دارند با استفاده از روش FLASH- PCR در سلول سرطان سینه تیمار شده بررسی گردید . بدین صورت که RNA تام سلول های سرطانی تیمار شده با استفاده از کیت RNX ™ PLUS استخراج شد. RNA با استفاده از آنزیم نسخه بردار معکوس به cDNA تبدیل شد و سپس با روش PCR تکثیر شد. اثر ضد باکتریایی عصاره متانولی با روش انتشار دیسک ارزیابی گردید.

نتایج : عصاره های قطبی (متانول و اتانول) برگ گیاه حرا اثر ضد سرطانی بالاتری نسبت به عصاره های غیر قطبی (هگزان، کلروفرم) نشان دادند. عصاره متانولی اثر سایتوتوکسیک کمتری نسبت به دیگر عصاره ها بر روی سلول های نرمال داشت. نتایج حاصل نشان داد که عصاره متانولی دارای پتانسیل بالایی به عنوان یک عامل ضد سرطانی دارد و مشخص شد که ترکیب موثر آن یک فلاونوئید است. نتایج حاصل از FLASH-PCR نشان داد که در سلول های سرطانی تیمار شده با ترکیب موثر فلاونوئیدی، میزان بیان ژن *TP53* اختلاف معنی داری باگروه شاهد نداشت و میزان بیان ژن *BCL-2* به طور چشمگیری کاهش یافت. عصاره متانولی اثر ضد باکتریایی نشان نداد.

نتیجه گیری: نتایج حاصل نشان می دهد فلاونوئیدهای موجود در برگ گیاه حرا دارای بالاترین پتانسیل ضد سرطانی نسبت به دیگر ترکیبات موجود در این گیاه هستند و در تحقیقات بعدی، مطالعات بیشتر برروی خواص ضد سرطانی آنها توصیه می شود.

واژگان کلیدی: گیاه حرا، رده سلولی MDA-MB 231، رده سلولی L929، تست MTT، ژن *TP53*، ژن *BCL-2*، FLASH-PCR.

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول: هدف و زمینه های نظری موضوع تحقیق

۱-۱-سرطان..... ۱

۱-۱-۱- کلیات درباره سرطان..... ۱

۱-۱-۲- سرطان سینه ۲

۱-۱-۲-۱- ساختار و عملکرد پروتئین P53 ..... ۴

۱-۱-۲-۲- تنظیم عملکرد پروتئین p53 ..... ۶

۱-۱-۲-۳- نقش پروتئین P53 در چرخه سلولی ۷

۱-۱-۲-۴. نقش پروتئین P53 در آپوپتوز ۸

۱-۱-۴- نقش پروتئین Bcl-2 در آپوپتوز..... ۱۱

۱-۲- درمان سرطان..... ۱۲

۱-۲-۱- شیمی درمانی..... ۱۲

۱-۲-۲- عوارض شیمی درمانی و محدودیت‌های آن..... ۱۳

۱-۲-۳- نقش گیاهان دارویی در درمان سرطان..... ۱۳

۱-۲-۴- غربالگری گیاهی در بررسی های سمیت سلولی ۱۴

۱-۳- آشنایی با گیاه حرا..... ۱۵

۱-۳-۱- مشخصات گیاه شناسی گیاه حرا ۱۵

۱-۳-۲- ترکیبات و اثرات زیستی گیاه حرا..... ۱۶

۱-۳-۳- فلاونوئیدها ۱۸

۱-۳-۴- اثرات ضد سرطان فلاونوئید ها ۱۸

۱-۳-۵- مکانیسم های ضد سرطان فلاونوئید ها ۱۹

۱-۳-۵-۱- القاء توقف چرخه سلولی ۱۹

۱-۳-۵-۲- القاء آپوپتوز ۲۰

۱-۴- کشت بافت جانوری ۲۱

۱-۴-۱- کلیات ۲۱

عنوان **صفحه**

۱-۴-۲- محیط کشت سلول های پستانداران ۲۲

۱-۴-۳- کاربرد های کشت سلولی ۲۳

۱-۴-۴- تکنیک سنجش MTT ۲۳

۱-۵- باکتری های مورد استفاده در این تحقیق ۲۴

۱-۵-۱. انتروکوک فکالیس ۲۴

۱-۵-۲- سالمونلا پاراتیفی ۲۵

۱-۶. کروماتوگرافی ۲۶

۱-۷- تکنیک RT-PCR ۲۷

۱-۸- FLASH- PCR ۲۷

۱-۹- اهداف و انگیزه ۲۹

۱-۹-۱. اهداف اصلی تحقیق ۲۹

۱-۹-۲. اهداف فرعی تحقیق ۳۰

۱-۹-۳. هدف کاربردی تحقیق ۳۰

فصل دوم: مواد و روش ها

۲-۱- تهیه نمونه گیاهی ۳۱

۲-۱-۱- جمع آوری گیاه ۳۱

۲-۱-۲- تهیه عصاره تام ۳۱

۲-۱-۳- تهیه نمونه برای انجام کروماتوگرافی ۳۲

۲-۱-۴- کروماتوگرافی کاغذی ۳۲

۲-۱-۴-۱- مواد و وسایل لازم ۳۲

۲-۱-۴-۲- روش کار ۳۲

۲-۱-۵- ستون کروماتوگرافی ۳۳

۲-۱-۵-۱- مواد و وسایل مورد نیاز ۳۳

۲-۱-۵-۲- روش کار ۳۳

عنوان **صفحه**

۲-۱-۶- بررسی فیتوشیمیایی فراکشن M ۳۶
۲-۱-۶-۱- تشخیص حضور آلکالوئیدها ۳۶
۲-۱-۶-۲- تشخیص حضور فلاونوئیدها ۳۶
۲-۱-۶-۳- تشخیص حضور تانن ها ۳۷
۲-۱-۷- تهیه غلظت های مختلف عصاره های تام جهت بررسی اثر سمیت سلولی ۳۷
۲-۲- تهیه محیط کشت و محلول های مورد نیاز کشت سلولی ۳۸
۲-۲-۱- تهیه آب دیونیزه استریل ۳۸
۲-۲-۲- تهیه محلول PBS استریل ۳۸
۲-۲-۳- تهیه محیط کشت DMEM استریل ۱۰٪ FCS ۳۸
۲-۲-۳-۱- مواد مورد نیاز برای تهیه محیط کشت DMEM ۳۸
۲-۲-۳-۲- روش آماده سازی ۳۹
۲-۲-۴- تهیه محلول تریپسین-EDTA ۲۵/. درصد ۳۹
۲-۲-۵- تهیه محلول تریپان بلو ۳۹
۲-۲-۶- تهیه محلول MTT ۴۰
۲-۲-۷- تهیه محلول دوکسوروبیسین ۴۰
۲-۳- روش های کشت سلولی و بررسی اثر سمیت سلولی ۴۰
۲-۳-۱- رده های سلولی مورد استفاده ۴۰
۲-۳-۲- واکشت دادن سلول ها ۴۰
۲-۳-۳- منجمد نمودن و ذخیره کردن سلول ها ۴۲
۲-۳-۴- کشت سلول های فریز شده ۴۲
۲-۳-۵- روش شمارش سلول ها ۴۳
۲-۳-۶- روش استفاده از هموسایتومتر برای شمارش سلول ها ۴۳
۲-۳-۷- رسم منحنی استاندارد ۴۵
۲-۳-۸- رسم منحنی رشد رده سلولی MDA-MB 231 ..... ۴۶
۲-۳-۹- بررسی اثر سمیت سلولی ۴۷

عنوان **صفحه**

۲-۳-۱۰- تیمار سلول های سرطانی MDA-MB 231 با فراکشن M ۴۹
۲-۴. استخراج DNA ژنومی قطعه قطعه شده از سلول های سرطانی تیمارشده ۴۹
۲-۴-۱- دستگاه ها و مواد مورد نیاز ۴۹
۲-۴-۲- روش استخراج DNA ۴۹
۲-۵- تعیین کیفیت و کمیت DNA ۵۰
۲-۵-۱- تعیین غلظت و خلوص DNA به روش اسپکترو فتومتری..... ۵۰
۲-۵-۲- تعیین کیفیت DNA توسط ژل آگارز ۵۱
۲-۵-۲-۱- مواد مورد نیاز برای الکتروفورز ژل آگارز ۵۱
۲-۵-۲-۲- تهیه ژل آگارز ۵۳
۲-۵-۲-۳- انتقال DNA به ژل ۵۳
۲-۶- بررسی تغییرات مورفولوژیک در سلول سرطانی تیمار شده با فراکشن M ۵۴
۲-۷- جداسازی Total RNA ۵۴
۲-۷-۱- دستگاه ها و مواد مورد نیاز ۵۴
۲-۷-۲- غیر فعال سازی RNAase در جداسازی RNA ۵۵
۲-۷-۳- روش تهیه آب تیمار شده با DEPC ۵۶
۲-۷-۴- RNX ^{TM} PLUS ۵۶
۲-۷-۵.- مراحل استخراج RNA تام ۵۶
۲-۸- سنتز cDNA از RNA ۵۷
۲-۸-۱- دستگاه ها و مواد مورد استفاده در واکنش RT ۵۷
۲-۸-۲- آنزیم نسخه بردار معکوس ۵۸
۲-۸-۳- پرایمر ۵۹
۲-۸-۴- روش سنتز cDNA ۶۰
۲-۹- PCR ۶۱
۲-۹-۱- دستگاه ها و مواد مورد استفاده ۶۱
۲-۹-۲- پرایمر و شناساگر نشاندار Bcl-2 ..... ۶۱

عنوان **صفحه**

۲-۹-۳- پرایمر و شناساگر نشاندار p53 ..... ۶۲
۲-۹-۴- پرایمر و شناساگر نشاندار GAPDH ۶۳
۲-۹-۵- روش انجام PCR برای ژن Bcl-2 و ژن TP53 ..... ۶۴
۲-۹-۶- ارزیابی کمی محصول PCR ۶۵
۲-۹-۶-۱- مواد و دستگاه های مورد نیاز ۶۵
۲-۹-۶-۲- FLASH- PCR ۶۵
۲-۱۰- تست حساسیت میکروبی ۶۷
۲-۱۰-۱- سویه های باکتری ۶۷
۲-۱۰-۲- تهیه محیط کشت مولر هینتون آگار ۶۷
۲-۱۰-۳- تهیه محیط کشت بلاد آگار ۶۷
۲-۱۰-۴- کشت آمپول های لیوفیلیزه ۶۷
۲-۱۰-۵- روش تعیین حساسیت باکتری به مواد ضد میکروبی ۶۸
۲-۱۰-۶- انجام تست آنتی بیوگرام ۶۹
۲- ۱۱- آنالیز آماری ۷۰

فصل سوم: نتایج

۳-۱- نتایج نمونه گیاهی ۷۱
۳-۱-۱- تهیه عصاره تام ۷۱
۳-۱-۲- تهیه فراکشن از عصاره متانولی برگ حرا ۷۲
۳-۱-۳- نتایج کنترل کیفی عصاره متانولی ۷۳
۳-۱-۳-۱- تعیین حلال مناسب به عنوان بافر آنالیز با استفاده از کروماتوگرافی کاغذی ۷۳
۳-۱-۳-۲- نتایج فیتوشیمی فراکشن M ۷۵
۳-۲- نتایج کشت سلولی ۷۶
۳-۲-۱- رسم منحنی استاندارد جذب رده سلولی MDA-MB 231 ..... ۷۶
۳-۲-۲- منحنی رشد رده سلولی MDA-MB 231 ..... ۷۶

عنوان **صفحه**

۳-۲-۳- بررسی اثر سمیت سلولی عصاره های برگ گیاه حرا بر رده سلولی MDA-MB 231 ..... ۷۷
۳-۲-۴- بررسی اثر سمیت سلولی عصاره های برگ حرا بر سلول نرمال رده L929 ..... ۷۷
۳-۲-۵- بررسی اثرضد رشد وتکثیر عصاره متانولی بر رده سلولی MDA-MB 231 ..... ۷۹
۳-۲-۶- بررسی اثر سمیت سلولی فراکشن‌ها بر رده سلولی MDA-MB 231 ..... ۸۰
۳-۲-۷- بررسی اثر سمیت سلولی فراکشن M بر رده سلولی MDA-MB 231 ..... ۸۲
۳-۳- تعیین IC_{50} ۸۳
۳-۴- بررسی آپوپتوز در رده سلولی MDA-MB 231 تیمار شده با فراکشن M ۸۵
۳-۴-۱- بررسی تغییرات مورفولوژیک ۸۵
۳-۴-۲- بررسی قطعه قطعه شدن DNA ۸۶
۳-۴-۳- بررسی بیان دو ژن TP53 و Bcl-2 ..... ۸۷
۳-۴-۳-۱- استخراج Total RNA ۸۷
۳-۴-۳-۲- بررسی کمی نتایج PCR ۸۷
۳-۵- بررسی تست ضد میکروبی ۸۸

فصل چهارم: بحث

۴-۱- بحث درباره خاصیت ضد سرطانی عصاره های قطبی و غیر قطبی ۹۰
۴-۲- بحث درباره اثر ضد سرطانی فراکشن های جدا شده از ستون کروماتوگرافی ۹۱
۴-۳- بحث درباره ترکیب موثر موجود در فراکشن M ۹۲
۴-۴- بحث درباره اثر فراکشن M بر القاء آپوپتوز در سلول سرطانی MDA-MB 231 ..... ۹۴
۴-۴-۱- تغییرات مورفولوژیک ۹۴
۴-۴-۲- قطعه قطعه شدن DNA ژنومی ۹۴
۴-۴-۳- بیان ژن *TP53* ۹۵
۴-۴-۴- بیان ژن *Bcl-2* ۹۷
۴-۵- بحث درباره اثر ضد باکتریایی عصاره متانولی ۹۸
۴-۶- پیشنهادات ۹۸
پیوست ها ۹۹

عنوان **صفحه**

منابع و مأخذ ۱۰۲

فهرست شکل‌ها

عنوان **صفحه**

شکل ۱-۱- نمایی از ساختار پروتئین p53 ..... ۴
شکل ۱-۲- تغییرات پس از ترجمهٔ پروتئین p53 و پایداری آن در سلول..... ۷
شکل ۱-۳- مکانیسم توقف چرخه سلولی در طی آسیب DNA..... ۸
شکل ۱-۴- نمایی از مسیر درونی آپوپتوز ۱۱
شکل ۱-۵- نمایی کلی از گیاه حرا ۱۷
شکل ۱-۶- نمایی از برگ و میوه گیاه حرا ۱۷
شکل ۱-۷- ساختار کلی فلاونوئیدها ۱۸
شکل ۱-۸- احیای ترکیب زرد رنگ MTT به کریستال های فورمازان ۲۴
شکل ۱-۹- نمایی از اتصال شناساگر نشاندار به DNA در طی فرایند FLASH ۲۸
شکل ۲-۱- نمایی از یک لام هموسایتومتر ۴۴
شکل ۲-۲- تصویر پلیت ۹۶ چاهکی ۴۶
شکل ۲-۳- تصویر نشانگر اندازه DNA ۵۳
شکل ۲-۴- تصویر دستگاه آشکارساز ۶۶
شکل ۲-۵- نمایی از تست حساسیت میکروبی با روش انتشار دیسک ۷۰
شکل ۳-۱- نتایج حاصل از کروماتوگرافی کاغذی برای عصاره متانولی ۷۳
شکل ۳-۲- نتایج حاصل از کروماتوگرافی کاغذی برای فراکشن ۹ ..... ۷۴
شکل ۳-۳- نتایج حاصل از کروماتوگرافی کاغذی برای فراکشن ۲-۹ ..... ۷۴
شکل ۳-۴- نمودار منحنی استاندارد جذب رده سلولی MDA-MB 231 ..... ۷۶
شکل ۳-۵- نمودار منحنی رشد رده سلولی MDA-MB 231 ..... ۷۷
شکل ۳-۶- نمودار اثر سمیت سلولی پنج عصاره مختلف برگ گیاه حرا بر رده سلولی MDA-MB 231 ... ۷۸
شکل ۳-۷- نمودار اثر سمیت سلولی پنج عصاره مختلف برگ گیاه حرا بر سلول نرمال L929 ..... ۷۹
شکل ۳-۸- نمودار اثر آنتی پرولیفریشن عصاره متانولی ۸۰
شکل ۳-۹- نمودار اثر سمیت سلولی فراکشن M بر رده سلولی MDA-MB 231 و L929 ..... ۸۲
شکل ۳-۱۰- تغییرات مورفولوژیکی سلول ها ی تیمار شده ۸۵

عنوان **صفحه**

شکل ۳-۱۱- تصویر ژل آگارز DNA ژنومی سلول سرطانی تیمار شده ۸۶
شکل ۳-۱۲- نمودار میزان بیان ژن *TP53* در سلول سرطانی MDA-MB 231 تیمار شده ۸۸
شکل ۳-۱۳- نمودار میزان بیان ژن *BCL-2* در سلول سرطانی MDA-MB 231 تیمار شده ۸۸
شکل ۳-۱۴- تست حساسیت بر روی انتروکوک فکالیس ۸۹
شکل ۳-۱۵- تست حساسیت بر روی سالمونلا پاراتیفی ۸۹
شکل ۴-۱۶- ساختار مولکولی لوتئولین ۹۳

فهرست جدول‌ها

عنوان **صفحه**

جدول ۲-۱- سیستم حلال مورد استفاده جهت جداسازی فراکشن‌ها در ستون اول ۳۴
جدول ۲-۲- سیستم حلال مورد استفاده جهت جداسازی فراکشن‌ها در ستون دوم ۳۵
جدول ۲-۳- سیستم حلال مورد استفاده جهت جداسازی فراکشن هادر ستون سوم ۳۵
جدول ۲-۴- حجم مورد نیاز از محلول استوک و محیط کشت جهت تهیه غلظت های مختلف عصاره ها ۳۸
جدول ۲-۵- مواد مورد نیاز جهت تهیه ۱ لیتر PBS ۳۷
جدول ۲-۶- مقدار مواد مورد نیاز جهت ساخت یک لیتر محیط DMEM ۳۹
جدول ۲-۷- درصد آگارز با توجه به اندازه مولکولی DNA ۵۲
جدول ۲-۸- مواد موجود در بافر PCR ۵۸
جدول ۲-۹- مواد مورد استفاده برای ساخت cDNA ۶۰
جدول ۲-۱۰- برنامه سنتز cDNA از RNA تام ۶۰
جدول ۲-۱۱- مشخصات پرایمر Bcl-2–For ۶۱
جدول ۲-۱۲- مشخصات پرایمر Bcl-2 –Rev ۶۱
جدول ۲-۱۳- شناساگر نشاندار Bcl-2 ..... ۶۲
جدول ۲-۱۴- مشخصات پرایمر p53 –For ۶۲
جدول ۲-۱۵- مشخصات پرایمر p53–Rev ۶۲
جدول ۲-۱۶- مشخصات شناساگر نشاندار p53 ..... ۶۲
جدول ۲-۱۷- مشخصات پرایمر GAPDH –For..... ۶۳
جدول ۲-۱۸- مشخصات پرایمر GAPDH –Rev ۶۳
جدول ۲-۱۹- مشخصات شناساگر نشاندار GAPDH ۶۳
جدول ۲-۲۰- غلظت و میزان مواد مورد استفاده در PCR ۶۴
جدول ۲-۲۱- برنامه تعیین شده جهت PCR ژن TP53 ..... ۶۴
جدول ۲-۲۲- برنامه تعیین شده جهت PCR ژن BCL-2 .....۶۵
جدول ۳-۱- درصد عصاره های استخراج شده از برگ حرا ...../..... ۷۱
جدول ۳-۲- درصد فراکشن های بدست آمده در هر مرحله ستون کروماتوگرافی ۷۲

عنوان **صفحه**

جدول ۳-۳- نتایج بررسی اثر سمیت سلولی فراکشن های جدا شده از عصاره متانولی ۸۱
جدول ۳-۴- IC_{50} عصاره های مورد آزمایش و فراکشن M بر سلول سرطانی ۸۴
جدول ۳-۵- IC_{50} عصاره متانولی بر سلول سرطانی در زمان های مختلف ..... ۸۴.
جدول ۳-۶- IC_{50} عصاره های مورد آزمایش بر سلول نرمال ۸۴
جدول پ- ۱- بررسی بیان ژن TP53 با استفاده از روش FLASH- PCR.....۹۹
جدول پ- ۲- بررسی بیان ژن BCL-2 با استفاده از روش FLASH- PCR.....۹۹
جدول پ- ۳- آنالیز واریانس داده های مربوط به عصاره متانولی..... ۱۰۰
جدول پ- ۴- آنالیز واریانس داده های مربوط به عصاره اتانولی..... ۱۰۰
جدول پ- ۵- آنالیز واریانس داده های مربوط به عصاره هگزانی..... ۱۰۰
جدول پ- ۶- آنالیز واریانس داده های مربوط به عصاره کلروفرمی ۱۰۱
جدول پ- ۷- آنالیز واریانس داده های مربوط به عصاره آبی ۱۰۱

فهرست اختصارات

µ	Micro
ANOVA	Analysis of variance
DMSO	Dimethyl sulfoxide
PBS	Phosphate buffered saline
ELISA	Enzyme linked immunosorbant assay
FCS	Fetal calf serum
g	Gram
mg	Milli gram
ml	Mili liter
MTT	Dimethylthiazol diphenyl tetrazolium bromide
ºC	Degree of centigrade
pH	Potency of hydrogen

فصل اول

مقدمه و هدف

۱-۱- ســــــــرطان

۱-۱-۱- کلیات درباره سرطان

سرطان[1] یکی از شایع‌ترین و شدیدترین بیماری‌های مشاهده شده در طب بالینی است و انتظار می رود تعداد موارد جدید به ۱۵ میلیون نفر در سال ۲۰۲۰ افزایش یابد. سرطان دومین عامل شایع مرگ و میر در کشورهای توسعه یافته و سومین عامل مرگ و میر در کشور های کمتر توسعه یافته است. در ایران سومین عامل مرگ و میر محسوب می شود (۱).

سرطان بیماری است که اساساً با تکثیر غیر طبیعی و غیر قابل کنترل سلول‌ها مشخص می شود. نئوپلازی به معنی رشد جدید و نئوپلاسم یک توده بافت غیر طبیعی است که رشد آن بیش از حد و ناهماهنگ با بافت های طبیعی بدن باشد و بعد از توقف محرک‌هایی که موجب این تغییر شده اند، رشد فزاینده‌اش را ادامه دهد. این توده غیرطبیعی عملاً خود مختار است و بدون هدف میزبان خود را از بین می‌برد (۲).

سرطان توسط جهش‌های ژنتیکی بوجود می آید، اما دو اختلاف اساسی میان سرطان و دیگر بیماری‌های ژنتیکی وجود دارد. اول اینکه سرطان اساساً در اثر جهش در سلول‌های سماتیک حاصل می‌شود، در حالیکه دیگر

---

[1]- Cancer, Neoplasm