بسم الله الرحمن الرحیم

دانشگاه تربیت مدرس

تاییدیه اعضای هیات داوران حاضر در جلسه دفاع از پایان‌نامه کارشناسی ارشد

خانم مهرنوش یزدان بخش رشته بیوتکنولوژی پزشکی پایان‌نامه کارشناسی ارشد خود را با عنوان « مهاربیان ژن TPD52 به وسیله microRNA سنتتیک در سلولهای رده سرطان سینه MCF-7 به منظور کاهش رشد و تکثیر آنها » در تاریخ ۱۳۹۰/۳/۴ ارائه کردند.

بدینوسیله اعضای هیات داوران نسخه نهایی این پایان‌نامه را از نظر فرم و محتوا تایید کرده و پذیرش آنرا برای تکمیل درجه کارشناسی ارشد پیشنهاد می‌کنند.

نام و نام خانوادگی و امضاء اعضای هیأت داوران:

دکتر مهدی فروزنده مقدم (استاد راهنما)

دکتر محمد جواد رسایی (استاد ناظر)

دکترمجید صادقی زاده (استاد ناظر)

دکتر حسین عبدل تهرانی (استاد ناظر و نماینده تحصیلات تکمیلی)

آیین‌نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهشهای علمی

دانشگاه تربیت مدرس

مقدمه: با عنایت به سیاست‌های پژوهشی و فناوری دانشگاه در راستای تحقق عدالت و کرامت انسانها که لازمه شکوفایی علمی و فنی است و رعایت حقوق مادی و معنوی دانشگاه و پژوهشگران، لازم است اعضای هیأت علمی، دانشجویان، دانش‌آموختگان و دیگر همکاران طرح، در مورد نتایج پژوهشهای علمی که تحت عناوین پایان‌نامه، رساله و طرحهای تحقیقاتی با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد زیر را رعایت نمایند:

ماده ۱- حق نشر و تکثیر پایان نامه/ رساله و درآمدهای حاصل از آنها متعلق به دانشگاه می باشد ولی حقوق معنوی پدید آورندگان محفوظ خواهد بود.

ماده ۲- انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان‌نامه/ رساله به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجامع علمی باید به نام دانشگاه بوده و با تایید استاد راهنمای اصلی، یکی از اساتید راهنما، مشاور و یا دانشجوی مسئول مکاتبات مقاله باشد. ولی مسئولیت علمی مقاله مستخرج از پایان نامه و رساله به عهده اساتید راهنما و دانشجو می باشد

تبصره: در مقالاتی که پس از دانش‌آموختگی بصورت ترکیبی از اطلاعات جدید و نتایج حاصل از پایان‌نامه/ رساله نیز منتشر می‌شود نیز باید نام دانشگاه درج شود.

ماده ۳- انتشار کتاب و یا نرم افزار و یا آثار ویژه (انری هنری مانند فیلم، عکس، نقاشی و نمایشنامه) حاصل از نتایج پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی کلیه واحدهای دانشگاه اعم از دانشکده ها، مراکز تحقیقاتی، پژوهشکده ها، پارک علم و فناوری و دیگر واحدها باید با مجوز کتبی صادره از معاونت پژوهشی دانشگاه و براساس آئین‌نامه‌های مصوب انجام شود.

ماده ۴- ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه یافته ها در جشنواره‌های ملی، منطقه‌ای و بین‌المللی که حاصل نتایج مستخرج از پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرح‌های تحقیقاتی دانشگاه باید با هماهنگی استاد راهنما یا مجری طرح از طریق معاونت پژوهشی دانشگاه انجام گیرد.

ماده ۵- این آیین‌نامه در ۵ ماده و یک تبصره در تاریخ ۸۷/۴/۱ در شورای پژوهشی و در تاریخ ۸۷/۴/۲۳ در هیأت رئیسه دانشگاه به تایید رسید و در جلسه مورخ ۸۷/۷/۱۵ شورای دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب در شورای دانشگاه لازم‌الاجرا است.

«اینجانب مهرنوش یزدان بخش دانشجوی رشته بیوتکنولوژی پزشکی ورودی سال تحصیلی ۸۷ مقطع کارشناسی ارشد دانشکده علوم پزشکی متعهد می شوم کلیه نکات مندرج در آیین نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پروهش های علمی دانشگاه تربیت مدرس را در انتشار یافته های علمی مستخرج از پایان نامه / رساله تحصیلی خود رعایت نمایم. در صورت تخلف از مفاد آیین نامه فوق الاشعار به دانشگاه وکالت و نمایندگی می دهم که از طرف اینجانب سمت به لغو امتیاز اختراع بنام بنده و یا هرگونه امتیاز دیگر و تغییر آن به نام دانشگاه اقدام نماید ضمناً نسبت به جبران فوری ضرر و زیان حاصله براساس برآورد دانشگاه اقدام خواهم نمود و بدینوسیله حق هرگونه اعتراض را از خود سلب نمودم ».

امضا

تاریخ

آئین‌نامه پایان‌نامه (رساله)های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان‌نامه (رساله)های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس، مبین بخشی از فعالیت‌های علمی پژوهشی دانشگاه است. بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش آموختگان این دانشگاه سبب به رعایت موارد ذیل متعهد می‌شوند.

ماده ۱ : در صورت اقدام به چاپ پایان‌نامه (رساله)ی خود، مراتب را قبلاً به‌طور کتبی به دفتر "دفتر نشر آثار علمی" دانشگاه اطلاع دهد.

ماده ۲ : در صفحه سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه)، عبارت ذیل را چاپ کند:

" کتاب حاضر، حاصل پایان‌نامه کارشناسی ارشد نگارنده در رشته بیوتکنولوژی پزشکی است که در سال ۱۳۹۰ در دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی جناب آقای دکتر فروزنده مقدم ، از آن دفاع شده است.

ماده ۳ : به منظور جبران بخشی از هزینه‌های انتشارات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت چاپ) را به "دفتر نشر آثار علمی" دانشگاه اهداء کند. دانشگاه می‌تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر در معرض فروش قرار دهد.

ماده ۴ . در صورت عدم رعایت ماده ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ شده را به‌عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس، بادا به کند

ماده ۵ . دانشجو تعهد و قبول می‌کند در صورت خودداری از پرداخت‌های بهای خسارت، دانشگاه مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند، به علاوه به دانشگاه حق می‌دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه، معادل وجه مذکور در ماده ۴ را از محل توقیف کتابهای عرضه شده نگارنده برای فروش، تأمین نماید.

ماده ۶ : اینجانب مهرنوش یزدان بخش دانشجوی رشته بیوتکنولوژی پزشکی مقطع کارشناسی ارشد تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می‌شوم

نام و نام خانوادگی مهرنوش یزدان بخش

تاریخ و امضا ۱۳۹۰/۱۰/۱۰

دانشگاه تربیت مدرس
دانشکده علوم پزشکی

پایان‌نامه

دوره کارشناسی ارشد در رشته بیوتکنولوژی پزشکی

عنوان

مهار بیان ژن TPD52 به وسیله microRNA سنتتیک در سلولهای رده سرطان سینه MCF-7 به منظور کاهش رشد و تکثیر آنها

نگارش

مهرنوش یزدان بخش

استاد راهنما

دکتر مهدی فروزنده مقدم

بهار 1390

تقدیم به:

به آنان که فروغ نگاهشان،

گرمی کلامشان

و روشنی رویشان

سرمایه های جاودانه ی زندگی من است...

تقدیم به خانواده ی عزیزم

تشکر و قدردانی:

با تشکر از زحمات استاد گرامی جناب آقای دکتر فروزنده که با شکیبایی فراوان مرا در این مسیر راهنمایی فرمودند.

با تشکر از سایر اساتید گروه بیوتکنولوژی پزشکی که همواره راه نمای دانشجویان گروه هستند.

با تشکر از همه ی دوستان عزیزم در گروه بیوتکنولوژی پزشکی که در طول مسیر، همیشه یار و همراهم بودند.

چکیده:

سرطان، نتیجه ی عملکرد نادرست ژنوم و تغییر الگوی بیان ژنی در سلول هاست. در بیشتر سرطان های سینه، یکی از ژن هایی که افزایش بیان نشان می دهد، ژن TPD52 (Tumor Protein D52) است. این افزایش بیان، باعث افزایش رشد مستقل از سطح سلول ها می شود. بنابراین، شاید با کاهش بیان این ژن، بتوان به درمان این سرطان ها کمک کرد. یکی از روش های کاهش بیان ژن ها، مهار پس از رونویسی آن ها و یک روش نوین این کار، استفاده از microRNA های شبیه سازی شده ی سنتتیک می باشد که با الگوبرداری از microRNA ها که به طور طبیعی در سلول ها موجود بوده و بیان ژن ها را تنظیم می کنند، ساخته شده اند. چون در این روش، از مسیرهای اندوژن سلولی استفاده می شود، انتظار می رود که کارآیی بالایی داشته باشد. در این تحقیق، از یک سازه ی بیان کننده ی یک microRNA ی سنتتیک طراحی شده علیه TPD52، استفاده شد تا بیان این ژن را در سلول های رده سرطان سینه MCF-7 که این ژن را بیشتر از حد طبیعی بیان می کنند، کاهش دهد و نتیجه در این سلول ها بررسی شود.

با اندازه گیری بیان TPD52 در سلول های تیمار شده با سازه ی بیان کننده ی microRNA و سلول های تیمار شده با وکتور خالی به وسیله ی Real-time PCR و مقایسه ی آن ها، تا حدود 80% کاهش بیان نسبی در سلول های تیمار شده با سازه ی بیان کننده ی microRNA مشاهده شد. نتایج تست MTT انجام شده نیزحدود 20% کاهش در سلول های زنده ی این گروه را نشان داد. بنابراین، می توان نتیجه گرفت که microRNA ی طراحی شده، موجب کاهش بیان TPD52 شده است و کاهش بیان این ژن، موجب افزایش مرگ سلول ها شده است.

کلمات کلیدی: سرطان، سرطان سینه، RNAi، microRNA، miRNA، TPD52

فهرست مطالب

فصل اول: مقدمه و مروری بر مطالعات انجام شده 1

1-1) مقدمه ای بر سرطان 2

1-1-1) فراوانی سرطان ها 3

1-1-2) سرطان سینه 4

1-1-3) تاریخچه سرطان، تشخیص و درمان آن 4

1-2) ژن درمانی سرطان 6

1-2-1) الیگونوکلئوتیدهای آنتی سنس 7

1-2-1-1) مزایای الیگونوکلئوتیدهای آنتی سنس 9

1-2-2) ریبوزیم ها 9

1-2-3) DNAzymes 10

1-2-4) RNAi 10

1-2-4-1) مزایا و معایب RNAi 11

1-2-4-2) Transitive RNAi 13

1-2-4-3) Small temporal RNA 14

1-2-4-4) Short Hairpin RNA 14

1-2-4-5) miRNA 14

1-3) مکانیسم های RNAi 15

1-3-1) مکانیسم عمل siRNA 16

1-3-2) مکانیسم عمل miRNA 18

1-3-3) مکانیسم عمل shRNA 19

1-4) اهمیت miRNA ها در سرطان 21

1-4-1) miRNA ها و سرطان سینه 22

2-4-1) استفاده از miRNA ها برای هدف قرار دادن mRNA ها 23
1-2-4-1) فن آوری miRNA ی شبیه سازی شده 24
1-1-2-4-1) مزایا و مشکلات روش miR-Mimic 25
5-1) ژن TPD52 26
فصل دوم :مواد و روش ها 29
1-2) مواد، وسایل و دستگاه ها 30
1-1-2) آنزیم ها 30
2-1-2) بافرها 30
3-1-2) محیطهای کشت 31
1-3-1-2) محیطهای کشت و ذخیره سازی باکتری 31
2-3-1-2) محیطهای کشت و ذخیره سازی سلول های یو کاریوتی 32
3-3-1-2) مواد موجود در محیطهای کشت سلول های یو کاریوتی 33
4-1-2) آنتی بیوتیک ها 34
5-1-2) پلاسمید 34
6-1-2) الیگونوکلئوتید ها 35
7-1-2) کیت ها 36
8-1-2) رده های سلولی 36
9-1-2) وسایل 37
10-1-2) دستگاه ها 37
11-1-2) سایر موارد 37
2-2) روش ها در زمینه ی مولکولی 38
1-2-2) تهیه پلاسمید 38
2-2-2) طراحی و ساخت microRNA علیه رونوشت TPD52 39
1-2-2-2)طراحی pre-miRNA 39

2-2-2-2) مراحل هیبریداسیون دو رشته یmicroRNA 41
2-2-3) اتصال قطعات microRNA دو رشته ای به وکتور (لیگاسیون)..... 42
2-2-4) تهیه باکتری مستعد برای ترانسفورماسیون..... 44
2-2-5) انتقال محصول لیگاسیون به باکتری مستعد 45
2-2-6) تأیید کلونینگ..... 45
2-2-6-1) تأیید کلونینگ با روش Colony PCR 45
2-2-6-2) تخلیص پلاسمیدها برای انجام تست تعیین توالی 47
2-3) روش ها در مرحله ی سلولی..... 49
2-3-1) تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی سلول های MCF-7 به بلاستیسیدین 49
2-3-2) تهیه جمعیت سلولی MCF-7 بیان کننده miRNA 49
2-3-2-1) مرحله ترانسفکشن..... 49
2-3-2-2) مرحله انتخاب 50
2-3-3) مرحله تخلیص RNA 51
2-3-4) ساخت cDNA با استفاده از آنزیم M-MuLV 52
2-3-5) REAL TIME PCR..... 53
2-3-5-1) تکثیر ژن TPD52 با استفاده از پرایمرهای اختصاصی 53
2-3-5-2) تکثیر ژن بتا اکتین با استفاده از پرایمرهای اختصاصی..... 55
2-3-6) بررسی نتایج Real-time PCR 56
2-3-7) تست MTT..... 56
فصل سوم :نتایج و یافته ها..... 58
3-1) تهیه ی سازه ی مورد نظر 59
3-1-1) تهیه ی پلاسمید مورد نیاز 59
3-1-2) طراحی microRNA علیه ژن TPD52..... 59
3-1-3) نتایج مربوط به ساخت قطعه pre-microRNA..... 60

2-3) کلون کردن قطعه ژنی miRNA در پلاسمید.....60
1-2-3) نتایجColony PCR 61
2-2-3) نتیجه تعیین توالی.....62
3-3) مرحله ی سلولی 63
1-3-3) تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی سلولهای MCF-7 به بلاستیسیدین 63
2-3-3) نتایج مرحله ترانسفکشن 63
3-3-3) نتایج شمارش سلولی 64
4-3) استخراج RNA و cDNA سازی.....66
5-3) Real Time PCR.....66
1-5-3) تهیه منحنی های استاندارد 66
2-5-3) بررسی تغییر بیان ژن TPD52 70
6-3) نتایج تست MTT..... 72
فصل چهارم: بحث، نتیجه گیری و پیشنهادها 74
1-4) بحث و نتیجه گیری..... 75
2-4) پیشنهاد ها..... 80
فهرست منابع 82
چکیده انگلیسی..... 91

فهرست جدول ها

جدول 2-1) مقادیر مورد استفاده جهت انجام Colony PCR 46
جدول 2-2) چرخه دماییColony PCR 46
جدول 2-3) مقادیر مورد استفاده جهت انجام Real Time PCR جهت تکثیر ژن TPD52..... 54
جدول 2-4) چرخه دمایی Real Time PCR جهت تکثیرTPD52 54
جدول 2-5) مقادیر مورد استفاده جهت انجام Real Time PCR جهت تکثیر ژن بتا اکتین 55
جدول 2-6) چرخه دمایی Real Time PCR جهت تکثیر بتا اکتین 55
جدول 3-1) نتایج بررسی بیان نسبی در 3 گروه 71

فهرست شکل ها و نمودارها

شکل 1-1) مکانیسم عمل siRNA در مقایسه با miRNA 17

شکل 1-2) مکانیسم عمل shRNA 20

شکل 2-1) شمای وکتور 38

شکل 2-2) منطقه ای از وکتور که miRNA در آن درج می شود 40

شکل 2-3) مراحل هیبریداسیون رشته های microRNA 41

شکل 3-1) تشکیل pre-miRNA های دو رشته ای 60

شکل 3-2) نتیجه ی Colony PCR 61

شکل 3-3) پلاسمید تخلیص شده 62

شکل 3-4) نتیجه ی تعیین توالی پلاسمید 62

شکل 3-5) سلول های ترانسفکت شده و نشده 64

شکل 3-6) نمودار تکثیر منحنی استاندارد ژن β actin 67

شکل 3-7) رسم منحنی استاندارد و تعیین بازده برای ژن β-actin 68

شکل 3-8) بررسی منحنی melt ژن β actin 68

شکل 3-9) نمودار تکثیر منحنی استاندارد ژن ژن TPD52 69

شکل 3-10) رسم منحنی استاندارد و تعیین بازده برای ژن TPD52 69

شکل 3-11) بررسی منحنی melt ژن TPD52 70

نمودار3-1) درصد سلول های مرده در گروه های مختلف 65

نمودار3-2) نمودار بیان نسبی ژن TPD52 در 3 گروه 72

نمودار3-3) نتایج تست MTT 73

فصل اول

مقدمه و مروری بر مطالعات انجام شده

1-1) مقدمه ای بر سرطان

سرطان، پیچیده ترین بیماری ژنتیکی است[1]. رشد غیر طبیعی و خارج از کنترل سلول هایی است که در گذشته، سلول هایی طبیعی بوده اند[2]. علت این رویداد، تجمع تغییرات ژنتیکی و اِپی ژنتیکی در DNA در گذر زمان است که این تغییرات در DNA سلولی می توانند تصادفی یا ارثی باشند[2-4]. وقوع این تغییرات در بعضی از ژن ها باعث بروز مشکل در عملکرد سلول می شود و این عملکرد نادرست منجر به سرطانی شدن آن می شود. شناسایی این ژن ها با مقایسه DNA افراد بیمار و خانواده های با درصد بالای ابتلا به سرطان، با DNA افراد سالم، میسر می شود. 95-90 درصد سرطان های شناخته شده ارثی به نظر نمی رسند.

اولین خاصیت مشترک در انواع سلول های سرطانی، توانایی تقسیم سریع و نامحدود است. سایر این خواص، عبارتند از عدم نیاز به پیام های رشد برای تقسیم و مقاومت در برابر مرگ برنامه ریزی شده سلول که نتیجه ی این خواص، ایجاد یک تجمع سلولی از سلول های سرطانی است که تومور نام دارد. یک تومور می تواند بر عملکرد بافت محلِ آن یا بافتهای اطراف اثر بگذارد، زیرا سلول های توموری، خود عملکرد مناسبی نداشته و در نتیجه توانایی تأمین انرژی لازم برای تقسیمات فراوان خود را ندارند، بنابراین برای رشد، از بافت سالمِ اطراف خود کمک می گیرند. این پدیده حتی در سرطان هایی که تومور ایجاد نمی کنند نیز دیده می شود. برای مثال، در لوکمی نیز سلول های غیرعادی در مغز استخوان به قیمت از بین رفتن[1] سلول های طبیعی خونی ایجاد می شوند[2و5].

[1] At the expense of

اگر در هنگام رشد، تومور به بافتهای اطراف حمله نکند، تومور خوش خیم[1] است. اما اگر به بافتهای دور و نزدیک حمله کند، تومور بد خیم[2] است. آزاد شدن سلول سرطانی از محل اولیه تومور و مهاجرت آنها به بافتهای دور یا نزدیک در بدن و تکثیر آن و تشکیل تومورهای ثانویه، متاستاز[3] نامیده می شود.

بیش از 100 نوع سرطان شناخته شده که هر یک علل و نشانه های متفاوتی دارند. برای تمایز انواع مختلف، سرطان ها بسته به محل پیدایش شان نام گذاری می شوند. به عنوان مثال، کارسینوما[4] ها سرطان هایی هستند که منشأ آن ها سلول های پوست یا اپی تِلیومِ[5] اندام های داخلی است. حدود 90 درصد سرطان های انسانی، از جمله سرطان های سینه، پروستات، پوست و دستگاه گوارش[6] از این نوعند. با اینکه شباهت هایی بین سرطان های یک نوع وجود دارد، اما به دلیل امکان بروز جهش های متفاوت، هر مورد آن ها می تواند منحصر به فرد باشد[2].

1-1-1) فراوانی سرطان ها

در مردان، شایع ترین سرطان ها به ترتیب سرطان های پروستات، دستگاه تنفسی[7]، دستگاه گوارشی، مثانه[8] و ملانومای پوستی[9] هستند. اما در زنان شایع ترین سرطان، سرطان سینه است[۱،۲،۶]. پس از آن شایع ترین سرطان ها به ترتیب مربوط به دستگاههای تنفسی و گوارشی اند و لنفوم غیر هاجکین[10] و ملانومای پوستی در رده های بعدی قرار دارند[2].

[1] Benign
[2] Malignant
[3] Metastasis
[4] Carcinoma
[5] Epithelium
[6] Colorectal
[7] Lung and Bronchus
[8] Urinary bladder
[9] Skin melanoma
[10] non-Hodgkin's lymphoma

در سال 2005، سرطان در آمریکا با سبقت گرفتن از بیماری های قلبی، به عنوان اولین علت مرگ در افراد دارای زیر 85 سال سن مطرح شد[7].

2-1-1) سرطان سینه

نرخ وقوع جهانی و مرگ ناشی از سرطان سینه با وجود پیشرفت های چشمگیر در درک مکانیسم های مولکولی منجر به ایجاد سرطان، پیشرفت تومور و به وجود آمدن درمان های مولکولی هدفمند، هنوز بالاست. از سال 1990، سالانه افزایش حدود 1/5 درصدی در نرخ ابتلا به سرطان سینه دیده شده است[7].

3-1-1) تاریخچه سرطان، تشخیص و درمان آن

سرطان، قرن هاست که شناخته شده، در استخوان های مومیایی های 5000 ساله از مصر و پرو شواهدی از وجود تومور موجود است. در گذشته به علت مرگبار بودن بیماریهای عفونی، عمر، کوتاهتر بوده و در نتیجه زمان کمتری برای تجمع جهش ها موجود بوده است. بنابراین، شیوع سرطان کمتر بوده و در نتیجه بررسی روی آن کمتر صورت گرفته بود.

اولین بار، بقراط از واژه ی سرطان استفاده کرد و علت این نام گذاری، وجود یک توده ی مرکزی و خارج شدن زوایدی از آن است که ظاهری شبیه خرچنگ ایجاد می کند.

جیووانی مورگانی با انجام کالبد شکافی برای اولین بار سرطان را به عنوان علت بیماری و مرگ معرفی کرد.

برای اولین بار در 1761 یک پزشک انگلیسی به نام جان هیل پیشنهاد داد بین مواد موجود در محیط و سرطان ارتباط وجود دارد.

در 1775 جراح انگلیسی سر پرسیوال پات متوجه شد بعضی مشاغل با افزایش احتمال ابتلا به انواع خاصی از سرطان ارتباط دارند.

با تکامل میکروسکپ ها در قرن 19 میلادی، بررسی سلول ها و فعالیت آن ها ممکن شد و مشخص شد که سلول های سرطانی، شکل و رفتاری متفاوت با سلول های طبیعی همان بافت، دارند.

در اوایل قرن بیستم با به وجود آمدن تکنیک کشت سلولی، تکنیک های تشخیصی جدیدتر و بهتری برای کشف مواد شیمیایی سرطان زا به وجود آمد.

در 1903 مشخص شد عنصر پرتوزای رادیوم در درمان تومورها، مؤثر است. با اینکه هم سلول های سالم و هم سلول های سرطانی به آسیب های ناشی از اشعه X حساسند، سلول های سرطانی به صورت ارثی، توانایی کمتری برای برطرف کردن آسیب ها و بازگشت به حالت اولیه دارند. با تعیین دوزهای بی خطر، پرتودرمانی، درمان استاندارد برای بسیاری از سرطان ها شد. این روش فقط برای تومورهای موضعی[1] مناسب بوده و برای تومورهای متاستازی و سرطان های خونی، درمان های سیستماتیک مورد نیاز بود[2و4].

در 1940 برای اولین بار از شیمی درمانی استفاده شد اما اولین شیمی درمانی موفق در 1947 انجام شد که البته در آن، بهبود، موقتی بود.

بررسی های بلند مدت کلینیکی نشان داده اند که تأثیر درمان هایی از قبیل انجام جراحی و برداشتن بافت سرطانی، پرتو درمانی و شیمی درمانی ثابت مانده[2] است. علاوه بر این، این درمان ها برای بیمارانی که متاستاز دارند مفید نیستند. در طی 4 دهه ی گذشته، با وجود بررسی های فراوان و استفاده از امکانات بسیار، نرخ مرگ و میر بیماران سرطانی، در کشورهای توسعه یافته و جهان، کاهش قابل توجهی نداشته است. بنابراین برای بهبود کیفیت درمان باید از راه های جدید دیگری استفاده کرد[8-10].

[1] Localized
[2] Has reached a plateau

پیشرفت های اخیر در شناخت مسیرهای پیام رسانی مؤثر در بقای تومور، به تغییر روش های درمان سرطان، از درمان های سیتوتوکسیک و غیر هدف گیری شده به سمت درمان های هدف دار و انتخابی، کمک کرده اند[11].

افزایش دانش در زمینه مکانیسم مولکولی بیماری در سرطان، منجر به ساخت داروهای زیادی علیه سرطان شده است[12]. بر خلاف داروهای قدیمی، این داروها به سادگی قابل قرار دادن در یک کلاسه و گروه نیستند. هدف این داروها ممکن است در سطح DNA، RNA یا پروتئین باشد. به طور کلی شیمی درمانی در سطح DNA، الیگونوکلئوتید های آنتی سِنس در سطح RNA و علیه mRNA وآنتی بادی های منوکلونال و مولکول های کوچک با پروتئین ها میان کنش انجام می دهند.

چندین راه برای هدف قرار دادن RNA وجود دارد، اما از بین آنها استفاده از الیگونوکلئوتیدهای آنتی سنس از همه رایج تر است. این روش مبتنی بر وارد کردن یک رشته نوکلئوتیدی، RNA یا DNA، به درون سلول است. این رشته مکمل mRNA کد کننده ی پروتئینی است که هدف حذف شدن است. رشته اسید نوکلئیکیِ آنتی سنس و mRNA در کنار هم قرار گرفته و با هم جفت می- شوند. تشکیل دو رشته ای های پایدار، می تواند از پردازش hnRNA به mRNA بالغ یا ترجمه ی mRNA ی بالغ ممانعت کند یا باعث تخریب و تجزیه ی mRNA شود[13].

1-2) ژن درمانی سرطان

اولین موج خوش بینی در مورد ژن درمانی هدف دار زمانی به وجود آمد که نشان داده شد که می توان یک توالی بازی ساخت که با جفت شدن واتسون-کریک، در سلول به mRNA خاصی متصل شود و از ترجمه ی آن جلوگیری کند. به این روش، آنتی سنس تراپی می گویند.

دومین موج خوش بینی، با استفاده از RNA های کاتالیتیک (ریبوزیم ها) برای ژن درمانی شکل گرفت. این روش به این دلیل بر روش های درمانی آنتی سنس برتری داشت که رساندن ژن های دارای