



# دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمان

دانشکده پیراپزشکی

پایان نامه مقطع کارشناسی ارشد خونشناسی و بانک خون

عنوان:

بررسی اثر مهارکننده تلومراز بر روی آپوپتوز سلول‌های میلومی U266

توسط: زهرا عامری

استاد راهنما: دکتر احمد فاطمی

اساتید مشاور: دکتر علیرضا فارسی نژاد، محسن احسان

سال تحصیلی ۱۳۹۵-۱۳۹۶

کد: ۱۰۴



**Kerman University of Medical Sciences**

**Faculty of Allied School**

In Partial Fulfillment for the Degree Master of Sciences

Title:

**Investigation of telomerase inhibition effect on cell apoptosis of  
multiple myeloma cell line U266**

By

Zahra Ameri

Supervisor:

Dr. Ahmad Fatemi

Advisers:

Dr. Ali Reza Farsinejad

Mohsen Ehsan

2017



## چکیده

**مقدمه:** تلومراز در اکثریت سرطان های انسانی از جمله در میلوم مالتیپل بیان می شود و با توجه به عدم بیان آن در سلول های سوماتیک، هدف قرار دادن آن رویکرد درمانی مؤثر برای درمان سرطان می باشد. هدف این مطالعه بررسی اثر MST-312، یک ترکیب شیمیایی مشتق شده از اپی گالوکاتچین گالات چای سبز بر روی رده ی سلول میلومی U266 می باشد.

**مواد و روش ها:** سلول های U266 با دوز های مختلف MST-312 در زمان های مختلف تیمار شدند، سپس زنده مانی این سلول ها با آزمون دفع رنگ تریپان بلو، فعالیت متابولیکی آن با استفاده از روش رنگ سنجی MTT و بررسی آپوپتوز با رنگ آمیزی این سلولها با آنکسین-7AAD/ V انجام شد. همچنین برای بررسی بیشتر آپوپتوز، بیان ژن های BAX و BCL2 بعد از تیمار کردن سلول ها با دارو و استخراج RNA، با روش Real-Time PCR بررسی شد.

**نتایج:** بیش از ۵۰٪ کاهش در زنده مانی سلول های تیمار شده در غلظت ۸ میکرومولار MST-312 به مدت ۴۸ ساعت مشاهده شد. فعالیت متابولیک سلول بعد از تیمار ۴۸ ساعته با دوز های ۲، ۴ و ۸ میکرومولار MST-312 به ترتیب ۲۵، ۴۶ و ۶۲٪ کاهش یافت. تقریباً ۳۰٪ افزایش آپوپتوز در سلول های U266 بعد از مواجهه ۴۸ ساعته با غلظت ۲ میکرومولار MST-312 مشاهده شد. تیمار سلول های میلومی با غلظت ۲ میکرومولار MST-312 به مدت ۴۸ ساعت، باعث افزایش بیان ژن BAX و کاهش بیان ژن BCL2 گردید.

**بحث و نتیجه گیری:** تیمار کوتاه مدت سلول های سرطانی میلومی با MST-312 باعث کاهش زنده مانی،

کاهش فعالیت متابولیک و افزایش آپوپتوز سلولی می شود. این موضوع نشان می دهد که MST-312 تأثیر مهارتی

انتخلی روی رشد سلول های توموری دارد و می تواند برای درمان میلوم مالتیپل کاربرد داشته باشد.

**کلید واژه:** مالتیپل میلوما، MST-312، آپوپتوز

## **Abstract**

### **Investigation of telomerase inhibition effect on cell apoptosis of multiple myeloma cell line U266**

**Introduction:** Telomerase-targeted therapy for cancer has received great attention because telomerase is expressed in almost all cancer cells but is inactive in most normal somatic cells. This study was aimed to investigate the effects of telomerase inhibitor MST-312, a chemically modified derivative of epigallocatechin gallate (EGCG), on Multiple Myeloma cell line U266.

**Materials and methods:** U266 cells were treated with different concentration of MST-312 in different times, and then cell viability by trypan blue exclusion assay, metabolic activity by MTT assay, and Apoptosis by Annexin V Apoptosis Detection Kit were measured. To further investigate apoptosis, BAX and BCL2 gene expression of the treated cells was investigated by RNA extraction and quantitative Real-Time PCR.

**Results:** MST-312 exerted a dose-dependent short-term cytotoxic effect on Multiple Myeloma cells. Over 50 % decrease in the viability of treated cells was seen in 8  $\mu$ M concentration of MST-312 within 48 h. The cytotoxic effect of MST-312 was concentration-dependent, with approximately 8, 25, 46, and 62 % reduction in metabolic activity after 48 h exposure to 0, 2, 4, and 8  $\mu$ M of MST-312, respectively. Gene expression analysis showed downregulation of antiapoptotic gene Bcl-2, and upregulation of apoptotic gene BAX. Importantly, MST-312 did not show any apoptotic effect in normal human peripheral blood mononuclear cells (PBMCs).

**Discussion and conclusion:** Inhibition of telomerase activity by MST-312 represents a novel treatment strategy for Multiple Myeloma cancer.

**Key words:** apoptosis, multiple myeloma, MST-312