غنی‌سازی ساده و مقرون به صرفه سلول‌های بنیادی سرطان تخمدان مشتق از آسیت برای شناسایی داروهای موثر علیه آن‌ها

زینب دهقانی قبادی [۱]، قمرتاج حسین [۱*]، محمدرضا طیب زاده میگونی [۱]، شهرزاد شیخ حسنی [۲] - ۱. *گروه زیست شناسی جانوری، آزمایشگاه زیست شناسی تکوینی، دانشکده زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه تهران، تهران، ایران ۲. گروه تومور شناسی زنان ولیعصر، بیمارستان امام خمینی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران*

جمعیت کوچک سلول‌های سرطان تخمدان در آسیت، فنوتیپ‌هایی شبیه به سلول بنیادی سرطانی را نشان می دهند که مقاومت بیشتری در برابر داروهای شیمی درمانی، توانایی متاستاز به اندام‌ها و عود بیماری دارند. در مطالعه حاضر، ما برای اولین بار یک روش مقرون به صرفه را برای جداسازی سلول‌های بنیادی سرطان مشتق از مایع آسیت بدون استفاده از محیط کشت حاوی فاکتورهای رشد نو ترکیب ارائه دادیم. در این مطالعه، نمونه‌های مایع آسیت از سه بیمار با سرطان تخمدان سروزی درجه بالا (HGSOC) جمع آوری شد ودر محیط کشت (۵۰:۵۰) MCDB۱۰۵/M۱۹۹ به همراه ۱۰ ٪ سرم جنین گاوی کشت داده شد تا به صورت تک لایه رشد کنند. ویژگی‌های این سلول‌ها نشانگر بیان مارکرهای اپی‌تلیالی مانند CK-۱۸، CK-۷ و EPCAM بود. سپس، برای غنی‌سازی جمعیت سلول‌های بنیادی سرطانی (CSCs) کشت سه بعدی سلول‌های اپی‌تلیالی سرطان تخمدان در محیط کشت متشکل از ۱۰ ٪ مایع آسیت در نبود سرم انجام شد. نتایج ما نشانگر سطح بیان بالای CD۴۴، OCT۴، Nestin، CD۱۳۳، Nanog و ALDH۱ به‌طور چشمگیر و معناداری در اسفروئیدهای دوم و سوم کشت داده شده با ۱۰٪ مایع آسیت در مقایسه با کشت تک لایه بود. همچنین، در اسفروئیدهای بدست آمده از شرایط کشت با مایع آسیت مقاومت بالاتری به داروی Paclitaxel (PTX) دیده شد. کاهش قوی و معنادار نشانگرهای CSCs در اسفروئید های سوم تیمار شده با Galunisertib به عنوان مهارکننده TGFBR۱ و Verteporfin به عنوان مهارکننده فعالیت رونویسی YAP1/TAZ هم دیده شد. این روش می تواند یک روش ساده و مقرون به صرفه غنی‌سازی CSCs تخمدان برای یافتن و هدف قرار دادن مسیرهای پیام‌رسانی و مولکول‌های مهم برای حفظ و ثبات CSCs تخمدان باشد.

واژه های کلیدی: سرطان تخمدان اپی‌تلیالی، سلول‌های بنیادی سرطان، مایع آسیت، مقاومت به شیمی‌درمانی، مسیرهای پیام‌رسانی

CP83 Comparing the cytotoxic effects of ellagic acid derivatives on HT-29 Cells

Shahin Gharedaghi[1], Hanieh Khoubanfar[1], Milad Iranshahy[2], Maryam M. Matin[1,3]*, Fatemeh B. Rassouli[3]* - *1. Department of Biology, Faculty of Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran 2. Biotechnology Research Center, Pharmaceutical Technology Institute, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran 3. Novel Diagnostics and Therapeutics Research Group, Institute of Biotechnology, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran. E-mail: matin@um.ac.ir; behnam3260@um.ac.ir*

Ellagic acid, a natural phenol with valuable pharmacological activities, is frequently found in fruits, vegetables and nuts. Urolithins are main ellagic acid metabolites that induce chemopreventive and anticancer effects *in vitro* and *in vivo*. Colon cancer is among the five most common malignancies in the world. Great efforts have been undertaken to introduce novel and more effective compounds against aggressive colon cancer cells. In the present study, we evaluated and compared the effects of urolithins A, B, and the methylated form of urolithin A (UA,UB, mUA, respectively) on human colon cancer cells. After UA, UB and mUA were synthesized, HT-29 cells, a human colon cancer cell line, were treated with increasing concentrations of these three agents for four consecutive days. To note, 0.4% DMSO was used as control treatment. For viability assessment of cells, alamar blue was used and optical density of cells was detected at 600 nm. Determination of cell viability 96 h after administration of 10 µM UA, UB and mUA indicated that 69%, 91%, and 100% of cells were alive, respectively. Regarding 20 µM concentration, viability of cells was calculated as 72%, 85% and 98% for UA, UB and mUA, respectively. In addition, upon 96 h treatment with 40 µM of UA, UB and mUA, cell viability was as 72%, 60% and 96%, respectively. The highest cytotoxic effects were observed 4 days after treatment with 80 µM UA, UB and mUA, as cell viability was dramatically decreased down to 56%, 50% and 67%, respectively. To sum up, the current findings revealed that in concentrations < 80 µM, UA induced more toxic effects in comparison with other ellagic acid derivatives. Although, more research is required to confirm our results on other colon cancer cell lines.

Keywords: ellagic acid, urolithin, colon cancer, cytotoxicity

مقایسه اثر سایتوتوکسیک مشتقات الاژیک اسید روی سلول های HT-۲۹

شاهین قره داغی[۱] ، هانیه خوبان‌فر [۱]، میلاد ایران‌شاهی[۲]، مریم مقدم متین[۱و۳]، فاطمه بهنام رسولی[۳] – *[۱]گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران، [۲]مرکز تحقیقات زیست‌فناوری، موسسه فناوری دارویی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران، [۳]گروه تحقیقات تشخیصی و درمانی جدید، مرکز زیست‌فناوری، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران*

اسید الاژیک، یک فنل طبیعی با فعالیت های دارویی ارزشمند، اغلب در میوه‌ها ، سبزیجات و آجیل‌ها یافت می‌شود. اورولیتین‌ها متابولیت‌های اصلی اسید الاژیک هستند که در شرایط *in vitro* و *in vivo* اثرهای شیمیایی و ضد سرطانی دارند. سرطان روده بزرگ در میان پنج بدخیمی شایع در جهان است. تلاش‌های زیادی برای معرفی ترکیبات جدید و موثرتر در برابر سلول‌های سرطانی تهاجمی روده بزرگ انجام شده است. در مطالعه حاضر، ما اثرات urolithin A، B و فرم متیله شده urolithin A (mUA)، را به ترتیب بر سلول‌های سرطانی روده بزرگ انسان ارزیابی و مقایسه کردیم. پس از سنتز UA ، UB و mUA ، سلول های HT-۲۹، یک رده سلول سرطانی روده بزرگ انسان، با افزایش غلظت این سه عامل برای چهار روز متوالی تیمار شدند. گفتنی است، تیمار شاهد ۰,۴٪ DMSO بود. برای ارزیابی زنده ماندن سلول ها، از آلامار بلو استفاده شد و تراکم نوری سلول‌ها در ۶۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. تعیین میزان زنده ماندن سلول ۹۶ ساعت پس از تجویز ۱۰ میکرومولار UA ، UBو mUA نشان داد که به ترتیب ۶۹ ، ۹۱ و ۱۰۰٪ سلول ها زنده بودند. با توجه به غلظت ۲۰ میکرومولار، زنده ماندن سلول‌ها به ترتیب برای UA، UB و mUA به‌ترتیب ۷۲، ۸۵، و ۹۸٪ محاسبه شد. علاوه براین، پس از ۹۶ ساعت تیمار با ۴۰ میکرومولار UA ، UBو mUA ، ماندگاری سلول به ترتیب ۷۲، ۶۰ و ۹۶٪ بود. بالاترین اثرات سیتوتوکسیک ۴ روز پس از تیمار با ۸۰ میکرومولار UA، UBو mUA دیده شد، زیرا زنده ماندن سلول به ترتیب به ۵۶، ۵۰ و ۶۷٪ کاهش یافت. به‌طور خلاصه، یافته‌های فعلی نشان داد که در غلظت های ۸۰< میکرومولار، UA باعث اثرات سمی بیشتری در مقایسه با سایر مشتقات اسید الاژیک داشت. اگرچه، تحقیقات بیشتری برای تایید نتایج ما در سایر رده های سلول سرطانی روده بزرگ مورد نیاز است.

کلمات کلیدی: الاژیک اسید، اورولیتین، سرطان روده بزرگ، سایتوتوکسیسیتی

CP85 Prevalence of *Vibrio parahaemolyticus* species and frequency of *tdh* pathogenic gene in strains isolated from Persian Gulf fish and shrimp

Mohasseneh Ghari[1], Afsaneh Karamostaji[2*], Maryam Sadat Mirbagheri Firoozabad[3*], Sayed Mahdi Ghasemi[1]- *1. Department of Biotechnology, Faculty of Biological Sciences and Technology, Shahid Ashrafi Esfahani University, Esfahan, Iran 2. Infectious and Tropical Diseases Research Center, Hormozgan Health Institute, Hormozgan University of Medical Sciences, Bandar Abbas, Iran 3. Department of Biology, Faculty of Science, Yazd University, Yazd, Iran. E.mail: M.Mirbagheri@yazd.ac.ir*

Vibrio are gram-negative, curved bacilli, halotolerant bacteria that live in sea waters. The present study was performed to determine the prevalence of *Vibrio parahaemolyticus* species and the frequency of tdh pathogenic gene in *Vibrio parahaemolyticus* isolated from fresh fish and shrimp samples and salt.

In this descriptive cross-sectional study, 118 samples consisting of fresh and salted fish and shrimp were collected from different regions of the Persian Gulf and immediately transferred to the lab. They were enriched and 1 g of the samples were poured into tubes containing alkaline peptone water and transferred for 6 hours at 37 ° C. After this incubation period, the samples were occulated on TCBS and incubated for 24 hours at 37 ° C. Initial identification of *Vibrio parahaemolyticus* based on the observation of green colonies that are not capable of consuming sucrose sugar and were Gram negative curved bacteria. In *Vibrio parahaemolyticus*, tdh gene was also identified on isolates using PCR. The results of the present study indicate the high prevalence of *Vibrio parahaemolyticus* in samples of fresh shrimp and salted fish. The results of biochemical tests showed that 36 out of 118 samples (30.5%) were infected with *Vibrio parahaemolyticus*. Therefore, it is suggested to use PCR method as a safe, accurate and fast test for detecting Vibrio species in seafood, in order to control the health of seafood in terms of the presence of Vibrio species.

Keywords: *Vibrio parahaemolyticus*, Seafood, Shrimp and fish, PCR, Pathogenic bacteria