

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



مدیریت تحصیلات تکمیلی
دانشکده علوم پایه
گروه ژنتیک

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته ژنتیک

مطالعه اثر اسیدسیالیک بر بیان ژن های *HMGA1* و *HMGA2* در سلول های گلیوبلاستوما 1321N1

اساتید راهنما :

دکتر محمد حدادی

دکتر حمید گله داری

تهیه و تدوین:

سارینا حیدران

زمستان

۱۴۰۱

چکیده

سرطان گلیوبلاستوما یکی از شایع ترین و تهاجمی ترین سرطان های سیستم عصبی مرکزی بوده، که در مقابل انواع درمان های سرطان مانند جراحی، رادیوتراپی و شیمی درمانی مقاوم است و دارای پیش آگاهی ضعیف می باشد و درمان آن با کارایی پایین محدود می شود. سن زنده ماندنی بیماران پس از درمان با کارآمدی بالا، کمتر از یک سال است و در حدود ۲ درصد بیماران کم تر از ۳ سال زنده می مانند. روش ایمنوتراپی که بر استفاده از واکسن های پپتیدی، واکسن های دندریتیک سل، گیرنده کیمبریک آنتی ژنی سلول های T، درمان با ممانعت از ژن های کنترل چرخه سلولی و درمان آنکولیتیک و پروسی تمرکز دارد نتایج بهتری نشان داده است. یکی از ترکیباتی که در غشا سلول بویژه سلول عصبی زیاد می باشد، ترکیب اسیدسیالیک است که تحقیقات نشان دهنده افزایش غلظت آن در سلول های مربوط به سرطان کلورکتال، پستان وغیره بوده است و منجر به القای متاستاز سلول های توموری می شود. با توجه به گزارشات علمی در خصوص اثر القایی ریزمحیط سلول بر بیان فاکتورهای متاستازی در سلول، در تحقیق حاضر بدنبال دستیابی به تعریف مولکولی از اثر سیالیک اسید بر سیگنالینگ های مرتبط با متاستاز، بدنبال بررسی اثر این تیمار بر بیان ژن های *HMGA1* و *HMGA2* بوده است. ژن *HMGA2* یک واسط رونویسی است که *motility* و *self-renewal* را در سلول های بنیادی نرمال و سرطانی وساطت می کند. ژن *HMGA2* بعنوان یک عامل القای تهاجم در سلول های گلیوبلاستوم مطرح می باشد. یکی از مواردی که سبب تنوع در سرطان گلیوبلاستوم و ایجاد مقاومت درمانی آن می باشد، وجود سلول های بنیادی است. یکی از فاکتورهای رونویسی مهمی که در این مسیر می تواند فعالیت کند. *HMGA1* است که بر بیان ژن *Sox2* به عنوان مارکر اصلی سلول های بنیادی اثرگذار است. افزایش بیان *HMGA1* سبب افزایش میزان تکثیر، تهاجم و آنژیوژنز می شود. در ابتدا دوز موثر اسید سیالیک با روش MTT بر روی رده سلولی گلیوبلاستوم مشخص گردید و پس از تیمار سلول در دوزهای مختلف، استخراج RNA و سپس سنتز cDNA بطور همزمان در سلول های تیمار شده و سلول های بدون تیمار (به عنوان کنترل) انجام گردید. در نهایت بررسی کمی تغییرات بیانی دو ژن *HMGA1* و *HMGA2* با روش Real Time PCR انجام و آنالیزهای مربوطه انجام شد. هر دو ژن در دوز $200\mu\text{M}$ اسید سیالیک افزایش بیانی معنی داری را نشان دادند اما در دوزهای بالاتر با کاهش شدید و معنی داری مشاهده گردید. با توجه به گزارشات گذشته که اثر القایی اسید سیالیک را بر ریز محیط های بسیاری از سرطان ها نشان داده اند، در اینجا نیز به خوبی مشاهده می شود سیالیک اسید در غلظت های کم باعث افزایش بیان ژن هایی می شود که سبب گسترش سلول های توموری می شوند. اما در غلظت های بالا، کاهش شدیدی را در رونوشت های دو ژن هدف در این مطالعه ایجاد می کند که شرایط مناسب برای مهار رشد و گسترش تومور را فراهم خواهد کرد. با توجه به اینکه اسید سیالیک به عنوان یک قند طبیعی در بسیاری از بافت های بدن تولید می گردد، توصیه می شود که با بدنبال کردن مسیرهای سیالیک اسید از متاستاز سرطان بخصوص گلیوبلاستوم جلوگیری گردد.

کلمات کلیدی: سیالیک اسید، ژن *HMGA1*، ژن *HMGA2*، رده سلولی گلیوبلاستوم انسانی

Abstract

. Glioblastoma cancer is one of the most common and an aggressive cancer of the central nervous system, which is resistant to all types of cancer treatments such as surgery, radiotherapy, and chemotherapy, and has a poor prognosis. Its treatment is limited with low efficacy. The survival age of patients after high-efficiency treatment is less than one year, and about 2% of patients survive less than 3 years. The immunotherapy method shows better results for the use of peptide vaccines, dendritic tuberculosis vaccines, and chimeric receptors from T gene cells, treatment with architectures from cell cycle control genes and focus virus oncolytic treatment. One of the compounds that are abundant in cell membranes, especially nerve cells, is sialic acid. Research has shown its increase in cells related to colorectal cancer, breast, etc., which leads to the induction of tumor cell metastasis. According to the scientific reports about the induction effect of the cell microenvironment on the expression of metastasis factors in the cell, in the present research, in order to achieve a molecular definition of the effect of sialic acid on the signaling related to metastasis, it has sought to investigate the effect of this treatment on the expression of *HMGA2* and *HMGA1* genes. The *HMGA2* gene is a transcriptional mediator that mediates motility and self-renewal in normal and cancer stem cells. The *HMGA2* gene is considered as an invasion factor in glioblastoma cells. One of the things that cause diversity in glioblastoma cancer and its treatment resistance is the presence of stem cells in this cell. One of the important transcription factors that can work in this path is *HMGA1* through epigenetic and affects *Sox2* gene expression as the main stem cell marker. Increased expression of *HMGA1* increases proliferation, invasion and angiogenesis. First, the effective dose of sialic acid was determined by the MTT method on the glioblastoma cell line, and after the treatment of cells in different doses, RNA extraction and then cDNA synthesis were performed simultaneously in treated cells and untreated cells (as control) was done. Finally, a quantitative analysis of the expression changes of two *HMGA1-HMGA2* genes was done by real-time method and related analyzes were performed. Both genes showed a significant increase in the dose of 200 micro molar sialic acid, but in higher doses, there was a significant decrease. According to the past reports that have shown the inducing effect of sialic acid on the microenvironment of many cancers, it can be seen here that sialic acid in low concentrations increases the expression of genes that prevent the spread of tumor cells. But in high concentrations, it causes a severe reduction in the transcripts of the two target genes in this study, which will provide suitable conditions for tumor growth and expansion. Considering that sialic acid is produced as a natural sugar in many tissues of the body, we suggest to prevent the metastasis of cancer, especially glioblastoma, by suppressing and inhibiting sialic acid metabolism.

Keywords: Sialic acid, *HMGA1* gene, *HMGA2* gene, human Glioblastoma cell line



University of Zabol
Management of graduate education
Faculty of Basic Sciences
Genetics group

Dissertation to obtain a master's degree in the field of genetics

**Study of Sialic acid effect on the *HMGA1* and
HMGA2 gene expression in glioblastoma cell
lines 1321N1**

Supervisors:

Dr. Mohammad Haddadi

Dr. Hamid Galeh Dari

By:

Sarina Heydaran

2023 Winter