

2004_477



TÜBİTAK

TÜRKİYE BİLİMSEL VE TEKNİK ARAŞTIRMA KURUMU
THE SCIENTIFIC AND TECHNICAL RESEARCH COUNCIL OF TURKEY

Sağlık Bilimleri Araştırma Grubu
Health Sciences Research Committee

İZOGENİK ADENOKARSİNOMA HÜCRE HATLARINDA FARKLI
OLARAK İFADE EDİLEN GENLERİN METASTATİK İLİŞKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI

102S273

SBAG-2643

61623

DOÇ. DR. HATİCE GÜNEŞ
SEÇİL CERTEL
MERT SUDAĞIDAN

TEMMUZ 2004

İZMİR

İÇİNDEKİLER

ABSTRACT.....	1
ÖZET.....	2
ÖNSÖZ.....	3
GİRİŞ.....	4
GEREÇ ve YÖNTEM.....	5
A) Gereçler.....	5
B) Yöntemler.....	5
B.1 Hücre kültürü.....	5
B.2 RNA İzolasyonu.....	6
B.3 RT-PCR Analizi.....	6
B.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR).....	6
B.5. Hücre bölünmesinin MTT ile belirlenmesi.....	6
BULGULAR.....	8
A)Farklı olarak ifade edilen genlerin çeşitli hücre hatlarında ifade edilme profilleri.....	8
B) Antioksidantların hücre büyümesi üzerine etkisi.....	14
C) Antioksidantların farklı olarak ifade edilen genlerin ekspresyonu üzerinde etkisi.....	18
C.1. Yeşil çay kateşinleri ve beta-karotenin gen ekspresyonu üzerine etkisi.....	18
C.2. Likopenin gen ekspresyonu üzerine etkisi.....	21
TARTIŞMA.....	23
SONUÇLAR.....	25
REFERANSLAR.....	26

ABSTRACT

In the previous study, we identified differentially expressed genes between highly metastatic and poorly metastatic cell lines of rat mammary adenocarcinoma R3230AC. The aim of this present study was to investigate metastatic relevance of these genes in different adenocarcinoma cell lines by reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR). It was found that the gene clones FF-10 and SG-1 were expressed in non-metastatic cells but not in metastatic cells examined, suggesting potential tumor suppressive function of these genes. In addition, the effects of antioxidant compounds such as green tea catechins, lycopene and beta-carotene on the growth of adenocarcinoma cell lines as well as on the expression profiles of potential tumor suppressive genes were examined. The cells were treated with antioxidant compounds at different concentrations and the cell growth were determined with MTT Assay. At 50 μ M and higher concentrations, epigallocatechingallate (EGCG), epigallocatechin (EGC) significantly inhibited the cell growth. Significant Effect of beta-carotene and green tea catechins (GTC) was observed at 100 μ M. Lycopene affected the CAb.D5 cell growth at 3 micromole concentration. Finally, we observed that antioxidants have some effect on the expression profiles of the genes. Especially, FF-10 expression was decreased by two-fold with lycopene treatment compared to expression in untreated cells. Further studies related with expression profiles of differentially expressed genes especially FF-10, SG-1 RE-1 and RF-5 in human primer and seconder mammary tumors and transfection studies with the cDNA clones will give more definitive results about the metastatic relevance of these genes.

ÖZET

Önceki çalışmada, metastatik yeteneği yüksek olan ve çok az olan izogenik sıçan meme adenokarsinoma R3230AC hücre hatlarında farklı olarak ifade edilen genleri tesbit ettik. Bu çalışmanın amacı, farklı olarak ifade edilen bu genlerin metastatik ilişkilerini çeşitli adenokarsinoma hücre hatlarında *reverse transcriptase polymerase chain reaction* (RT-PCR) yöntemiyle araştırmaktı. FF-10 ve SG-1 gen klonlarının metastatik olmayan hücre hatlarında ifade edilmelerine rağmen metastatik hücre hatlarında ifade edilmemeleri, bu genlerin potensiyel metastatik süpressör fonksiyonlarının olabileceğini göstermektedir. Buna ilaveten, yeşil çay kateşinleri, likopen, ve beta-karoten gibi antioksidant maddelerin adenokarsinoma hücre hatlarının büyümesi ve potensiyel tümör süpressif genlerinin ifade edilme profilleri üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Hücreler değişik antioksidant maddelerle muamele edilip hücre büyümesi MTT yöntemiyle tayin edilmiştir. 50 µM ve üzerindeki konsantrasyonlarda epigallocatechingallate (EGCG), epigallocatechin (EGC) hücre büyümesini anlamlı bir şekilde engelledi. Beta-karoten ve yeşil çay kateşinin etkisi (GTC) 100 µM ve üzerindeki konsantrasyonlarda gözlemlendi. Likopen 3 mikromol konsantrasyonda hücre büyümesini etkiledi. Son olarak, antioksidantların genlerin ifade edilme profilleri üzerinde etkilerine bakıldı. Özellikle FF-10 gen klonunun ifade edilmesi, likopenle muamele edilmiş hücrelerde edilmeyenlere kıyasla 2-kat azaldı. Farklı olarak ifade edilen genlerden özellikle FF-10, SG-1 RE-1 ve RF-5'in insan primer ve sekonder meme tümörlerinde ifade edilme profillerinin incelenmesi ve bu genlerin cDNA klonlarıyla yapılacak transfeksiyon çalışmaları bu genlerin metastatik ilişkileri hakkında daha detaylı sonuçlar verecektir.

ÖNSÖZ

Kanser insan ölümlerinin en önemli nedenlerinden biridir. Çoğu kanserin öldürücü doğası, primer tümörün metastaz olarak bilinen olguyla vücudun uzak bölgelerine dağılmasından kaynaklanır. Metastaz olgusu oldukça kompleks ve çok sayıda olayları içermektedir. Bu oluşumları kontrol eden genetik değişimler veya olaylar tam olarak bilinmemektedir. Dolayısıyla metastaz olayına yol açan genlerin ve gen ürünlerinin tanımlanması günümüzdeki kanser araştırmalarının önemli konusunu oluşturmaktadır. Bir hücrenin metastaza yol açabilmesi için, metastaz oluşumunun farklı evrelerinde gerekli olan bir takım özelliklere ve bir takım spesifik gen ürünlerine sahip olma zorunluluğu vardır. Buna bağlı olarak önceki çalışmamızda, sıçan meme adenokarsinoma (R3230AC) tümör hücrelerinden elde edilen metastatik yeteneği yüksek (LN4.D6) ve az olan (CAb.D5) hücre hatlarında farklı olarak ifade edilen genleri tesbit ettik. Bu genlerin metastatik ilişkilerinin belirlenmesi amacıyla yapılan bu çalışma TÜBİTAK'ın SBAG 2643 nolu proje desteğiyle gerçekleşmiş bulunmaktadır.

Metastatik özelliklere sahip olması gerekir. Bir hücre içinde sadece bir hücre alt popülasyonunda metastaz için yeterli özelliklere sahip olduğu anlaşılmıştır. Buckley and Carlson (1988) Rous bağıli olarak R3230AC' den sıçan meme adenokarsinomuna nükleotidlerden, lef dokusuna oldukça yüksek metastaz yapma yeteneğine sahip 4 olarak tanımlanmış bir hücre alt popülasyonu elde edilmiştir (Carlson et al. 1991). Bu hücre yapımı, azalektronozozepilamamide (AZB4) aracılığıyla lektin avza (auliferi) agglutininine bağlanarak gerçekleştirilmiştir. LN4 hücre hatları (CAb) varyasyonları (nüksiyonları) genellikle, genellikle düşük düzeyde metastatik yeteneği olan CAb hücre alt popülasyonları elde edilmiştir (Carlson et al. 1991). Önceki çalışmamızda az ve azda rasturada LN4 ve CAb ile ilgili olarak ifade edilen genler, substratları ve nükleotidlerin aynı zamanda aynı hücre alt popülasyonları ile elde edilmiştir. Bu çalışmada konusunu bu genlerin metastatik ilişkilerinin belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, metastatik ve metastatik olmayan genlerin aynı hücre alt popülasyonlarında aynı genlere RNA düzeyinde ifade edilme yeteneklerini belirlemek için aynı hücre alt popülasyonları ve nükleotidleri aynı hücre alt popülasyonlarında elde edilmiş nükleotidleri araştırılmıştır.

GİRİŞ

Kanserin teşhisinde önemli ilerlemeler kaydedilmesine rağmen, kansere bağlı ölümlerin çoğu metastazdan dolayıdır. Kanser metastazı çok basamaklı bir olgudur: tümör hücreleri primer lokasyonlarından ayrılıp çevredeki dokulara yayılır, kana ve lenf damarlarına girer, angiogeneze yol açar, konakçı anti-tümör mekanizmalarından kaçır ve diğer organlarda sekonder tümörler oluşturur (Nicolson 1988; Liotta et al.1991; Fidler and Nicolson 1987). Tümör oluşumunun ve ilerlemesinin evreleri klinik olarak iyi tanımlanmış olmasına karşın, metastazı kontrol eden genetik değişimler ve gen ürünleri henüz tam olarak bilinmemektedir. Literatürdeki çalışmalar, tümör metastazının farklı kanser tiplerindeki pek çok genin aktivasyonu ve inaktivasyonu sonucu oluştuğunu ve oluşabileceğini göstermektedir (Ahmad and Hart 1997; Yokota 2000). Metastazın oluşumunu sağlayan her bir basamağın, farklı genlerin mesajcı RNA seviyelerindeki geçici veya kalıcı değişikliklerinden dolayı olabileceği bilinmektedir.

Hücrelerin metastatik olabilmesi için bir çok spesifik özelliklere sahip olması gerekir. Bir tümör içinde, sadece bir hücre alt popülasyonunun metastaz için yeterli özelliklere sahip olduğu bilinmektedir (Buckly and Carlsen 1988). Buna bağlı olarak R3230AC sıçan meme adenokarsinoma hücrelerinden, lenf dokusuna oldukça yüksek metastaz yapma yeteneğine sahip LN4 olarak isimlendirilen tümör hücre alt popülasyonu elde edilmiştir (Carlsen et al. 1990). Bu hücre hattının isoglobotetraosylceramide (iGb4) aracılığıyla lektin soya fasülyesi agglutinine bağlandığı gösterilmiştir. LN4 hücre hattı iGb4'e karşı üretilen monoklonal antikörlerle ayrıştırıldığında çok düşük metastatik yeteneği olan CAb hücre alt popülasyonu elde edilmiştir (Carlsen et al. 1993). Önceki çalışmamızda bu iki hücre hattında (LN4 ve CAb) farklı olarak ifade edilen genler, subtraktif hibridizasyon yöntemiyle tayin edildi (Gunes & Carlsen). Bu çalışmada sözkonusu bu genlerin metastaz ile ilişkilerinin bulunup bulunmadığını belirlemek amacıyla, metastatik ve metastatik olmayan çeşitli sıçan ve insan adenokarsinoma hücre hatlarında bu genlerin RNA düzeyinde ifade edilme profilleri incelenmiştir. Ayrıca, yeşil çay kateşinleri, beta karoten ve likopen gibi antioksidant maddelerin, tümör hücre hatlarının büyümesi ve farklı olarak ifade edilen bazı genlerin RNA düzeyinde ifade edilmesi üzerindeki etkileri araştırılmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

A. Gereçler

Hücre hatları aşağıda belirtilen kaynaklardan elde edildi. Sıçan meme adenokarsinoma hücre hatları CAb.D5, LN4.D6, 13762 CT, sıçan prostat adenokarsinoma hücre hatları AT-1, MATLyLu Kanada'nın Saskatchewan Kanser Merkezinden Dr. Svein Carlsen'dan; Sıçan prostat adenokarsinoma hücre hatları AT-2, AT-3 ve MATLu Hollanda'nın Nijmegen Üniversite Medikal Merkezinden Dr. J.A. Schalken'den; insan meme adenokarsinoma hücre hatları MCF-7, HBL-100 ve MDA-MB-453 Bilkent Üniversitesinden Dr. Mehmet Öztürk'den; insan prostat adenokarsinoma hücre hattı DU145, Gülhane Askeri Tıp Akademisinden; İnsan serviks adenokarsinoma hücre hattı HeLa Ege Üniversitesi Ebiltem'den Dr. İsmet Gürhan'dan elde edildi.

PRMI-1640 hücre besi ortamı ve tripsin Sigma ve Biological Industries'den; Fetal Bovine Serum (FBS), trypan blue, gel loading solution, MTT, sodium bicarbonate, Green tea catechin (GTC), Epigallocatechin gallate (EGCG), β carotene, Epigallocatechin (EGC), Lycopene, phenol Sigma'dan satın alındı. DMSO, sodium citrate, sodium chloride Merck'den elde edildi. Fetal Calf Serum (FCS) Biological Industries'den; Penicilin Streptomycine Biochrom Chemical Co.'dan; Ethidium Bromide, 2-Mercaptoethanol, EDTA (Disodium Salt Dihydrate), sodium phosphate (monobasic and dibasic) Amresco Chemical Co.'dan; DEPC Serva Chemical Co.'dan; Tetrahydrofurane (THF) Lachema Co.'dan satın alındı. Hücre kültürü şişeleri Corning Star'dan; polypropylene tubes ve disposable pipetler Greiner'dan alındı.

RNA izolasyonu için Nucleospin® RNA II Kit ve cDNA sentezi için Advantage™ RT-for-PCR Kit BD Biosciences, Clontech'den satın alındı.

B. Yöntemler

B.1 Hücre Kültürü:

Hücreler %10 Fetal bovine serum, 100 U/ml penisilin ve 100 μ g/ml streptomisin içeren RPMI-1640 besi ortamında %95 nem ve %5 karbondioksit içeren 37 derecelik inkübatörde büyütüldüler. Kültür kabının yüzeyini % 80-90 kapladıklarında tripsinize edilip RNA izolasyonu için kullanıldılar.

B.2 RNA İzolasyonu:

RNA izolasyonu Nucleospin RNA II Kit (BD Biosciences Clontech)'de belirtilen protokole göre yapıldı. RNA örneklerinin kalitatif ve kantitatif özellikleri UV-Visible spektrofotometride 260 nm ve 280 nm'deki adsorbsiyonlarına bakılarak belirlendi. 260 ve 280 nm'deki adsorbsiyon oranları 1.8 ve üzerindedir. RNA örnekleri nukleaz içermeyen suda -80 derecede saklandı.

B.3 RT-PCR Analizi:

cDNA sentezi bütün örneklerden 1µg RNA kullanılarak Advantage RT-for PCR Kit kullanılarak kit'de belirtilen protokole göre gerçekleştirildi. cDNA örnekleri -80 derecede saklandı.

B.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR):

Her bir gen için dizayn edilen primer çiftleri kullanılarak ilgili genler PCR ile çoğaltıldı. PCR karışımı cDNA, 0.2 mM dNTP, 3 mM MgCl₂, 1x PCR buffer, 2U Taq Polimeraz ve 1 µM primer içerdi. PCR reaksiyonu *DNA thermal cycler*'da (Techne Progen) aşağıda belirtilen parametrelerce gerçekleştirildi: 2 dakika 94 °C'de başlangıç denatürasyonu; 1 dakika 94 °C'de denatürasyon, 1 dakika 54 °C'de birleşme (annealing), 1 dakika 72 °C'de sentez; 10 dakika 72 °C'de sentez. PCR reaksiyonu belirtilen bu koşullarda 35-40 döngüde tamamlandı. PCR ürünleri % 1.5 'lik agaroz-etidium jelde yürütüldü. DNA bantlarının yoğunluğu *Jel Dökümantasyon Sistemiyle* (Vibert Lourmat, France) belirlendi ve her bir gen için mRNA seviyesi internal kontrol olarak kullanılan GAPDH seviyesine normalize edildi.

B.5. Hücre bölünmesinin MTT ile belirlenmesi:

In vitro tetrazoliuma dayalı renk oluşumu yöntemi antioksidantlarla muamele edilen hücrelerin büyümesini ölçmek için kullanıldı. Bu yöntem hücredeki mitokondrial enzimlerin etkisiyle sarı suda çözünen substrat olan 3-(4,5 dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromidin suda çözünmeyen mor formazan kristallerine dönüşmesini içermektedir.

Hücreler tripsinize edilip 96-kuyucuklu tabağa 2×10^4 hücre/kuyu olacak şekilde ekildi. Bir gün 37 °C'de, %95 nem oranı ve %5 CO₂ içeren inkübatörde büyütüldü. Yeşil çay kateşinleri DMSO'da çözüldü ve son konsantrasyon 1µM, 10µM, 50µM, 100µM, ve 200µM olacak şekilde hücrelere eklendi. 3 gün karbondioksitli inkübatörde büyütüldü. Hücrelerden besi ortamı

(medium) uzaklaştırıldı ve 200 µl yeni besi ortamı eklendi. Daha sonra 20 µl MTT (5mg/ml in PBS) hücrelere eklendi ve hücreler 4 saat inkübatörde bekletildi. Hücreleri içeren her bir kuyucuğa 200 µl DMSO eklendi ve oda sıcaklığında 5 dakika orbital çalkalayıcıda (150 rpm) inkübe edildi. Her bir kuyucuğun absorbanı 540 nm’de ELISA okuyucusuyla belirlendi.

Likopen %5’lik tetrahydrofurane (THF) içinde çözüldü. Likopenin hücre büyümesi (3, 6,9,18 µM konsantrasyonda) ve gen ekspresyonu üzerindeki (6 µM) etkisi MTT ve RT-PCR analizleriyle belirlendi.

BULGULAR

A. Farklı Olarak İfade Edilen Genlerin Çeşitli Hücre Hatlarında İfade Edilme Profilleri

Önceki çalışmamızda metastatik yeteneği düşük olan hücre hattı CAb.D5 'de FA-8 (sıçan alfa 2 kolojen IV), FC-1 (sıçan aldehit dehidrogenaz), FC-6 (sıçan proalfa 1 kolojen 3), FC-7 (ribozomal protein L4), FF-10 (osteoblast/osteosit faktör 45), FG-6 (yeni), FH-2 (sıçan sitokeratin 8) olarak isimlendirilen cDNA klonlarının metastatik hücre hattı LN4.D6' e kıyasla farklı olarak ifade edildiği bulundu. Aynı şekilde, RB-8 (nötrofil kemoatraktan 2), RB-9 (insan LGN protein), RD-4(fare aspartilaminopeptidaz), RE-1 sıçan keratin 5 mRNA), RE-12 (yeni), RF-5 (fare keratin epidermal tip 1) olarak isimlendirilen cDNA klonları ise sadece metastatik hücre hattı olan LN4.D6' de ifade edildiği gösterildi (Güneş ve Carlsen 2003). Metastatik ilişkilerinin olup olmadığını göstermek amacıyla yapılan bu çalışmada, genlerin ifade edilme profilleri çeşitli hücre hatlarında RT-PCR yöntemiyle araştırıldı. PCR ile çoğaltılan PCR ürün sinyalinin logaritması ile cDNA miktarının logaritması arasında doğrusal bir ilişki gözlemlendi. Dolayısıyla her bir gen için cDNA konsantrasyonu, PCR ürününde doğrusal artışın gözlemlendiği bölgeden seçildi. Genlerin çeşitli hücrelerde ifade edilme motifleri aşağıda gösterildiği gibidir:

FA-8 (sıçan alfa 2 kolojen IV):

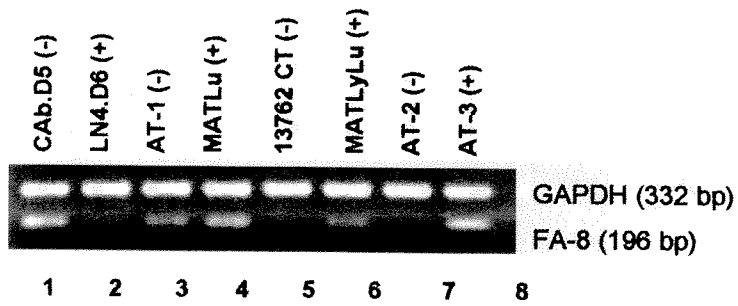
FA-8 klonunun metastatik ve metastatik olmayan hücre hatlarında ifade edilme profillerine bakıldığında, metastatik olmayan CAb.D5 ve AT-1 hücrelerinde ifade edildiği gözlemlendi (Şekil 1, A). FA-8 metastatik hücre hattı olan LN4.D6' da yok denecek kadar az ifade edilmesine karşın, diğer metastatik hücre hatlarında da ifade edildiği bulundu. Bu sonuç, FA-8'in CAb.D5 hücrelerinin düşük metastatik potansiyelde olması üzerinde etkisi olmadığını göstermektedir.

FC-1 (sıçan aldehit dehidrogenaz) :

FC-1 klonunun ifade edilme modeli, hücrelerin metastatik durumuyla korelasyon göstermedi çünkü FC-1 hem metastatik hem de metastatik olmayan hücre hatlarında ifade edildi (Şekil 1, B). Buna ilaveten, 13762 CT ve AT-2 metastatik olmayan hücre hatlarında FC-1 ifade edilmedi. FC-1'nin ifade edilme seviyesi LN4.D6, MATLu ve MATLyLu metastatik hücre hatlarında, metastatik olmayan hücre hattı CAb.D5'e kıyasla 4-kat, 1.3-kat ve 2-kat daha az ifade edildi.

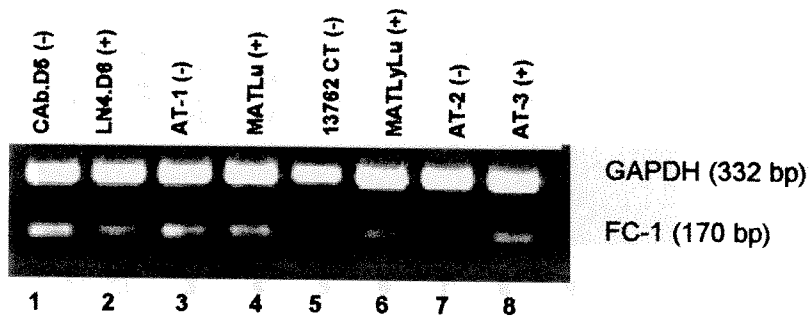
A)

FA-8



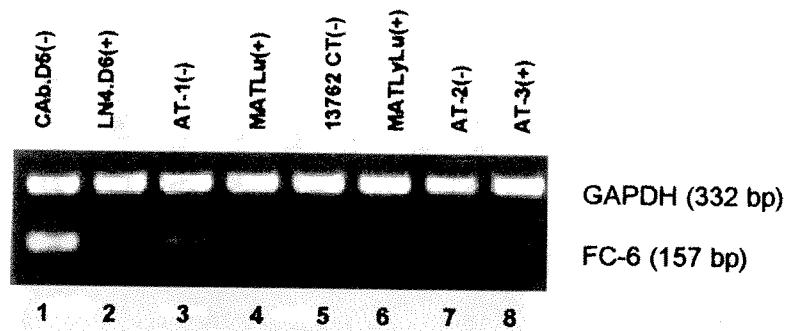
B)

FC-1



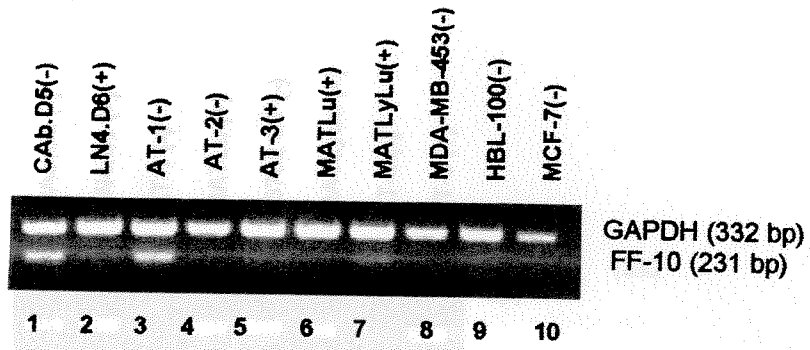
C)

FC-6



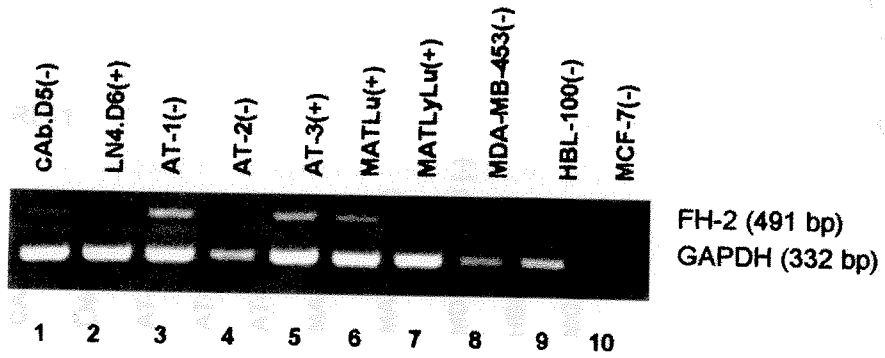
D)

FF-10



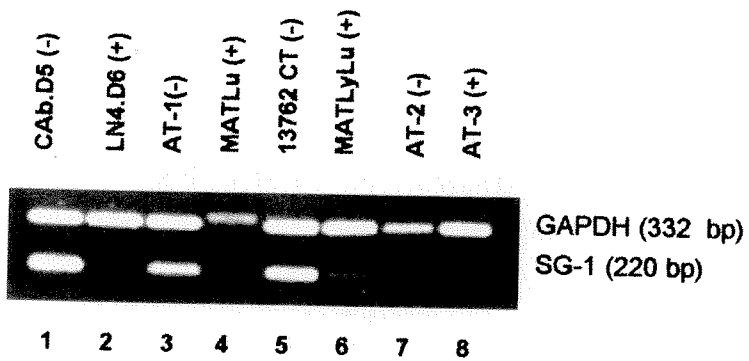
E)

FH-2



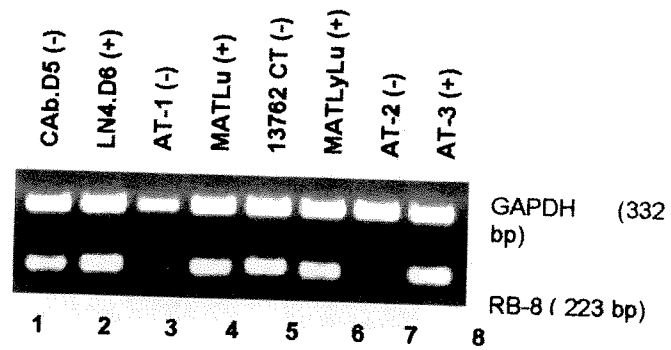
F)

Rat SG-1



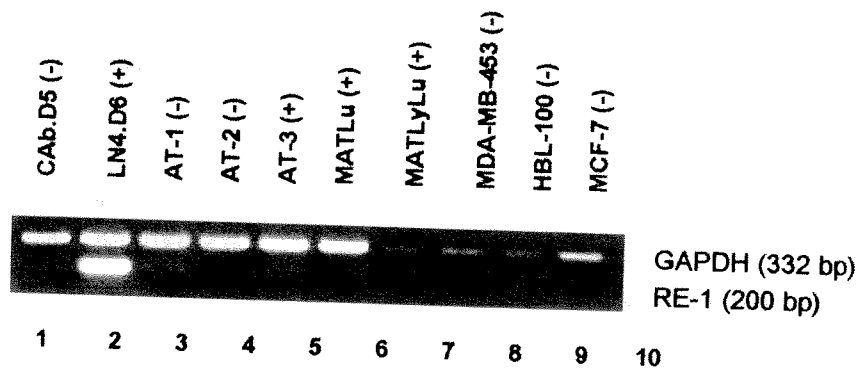
G)

RB-8



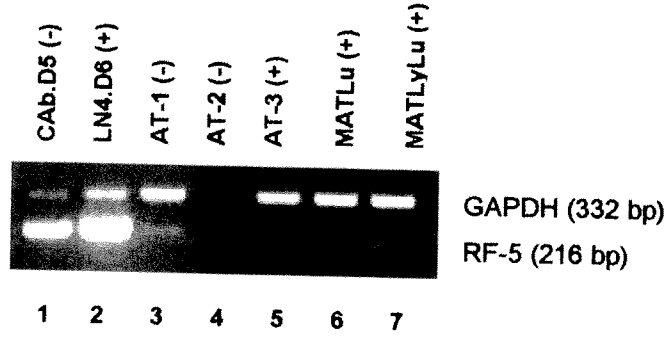
H)

RE-1



D)

RF-5



Şekil 1. Farklı olarak ifade edilen genlerin farklı hücre hatlarında ifade edilme profilleri. GAPDH internal kontrol olarak kullanıldı. Metastatik hücre hatları artı (+) olarak; metastatik olmayan hücre hatları eksi (-) olarak tanımlandı.

FC-6 (sıçan proalfa 1 kolojen 3):

FC-6 metastatik olmayan hücre hattı CAb.D5'de anlamlı bir şekilde ifade edildi (Şekil 1,C). Metastatik olmayan hücre hatları 13762 CT, AT-2 ve AT-3 hücre hatlarında FC-6 ekspresyonu gözlenmedi. Diğer hücre hatlarında FC-6'nın ifade edilme seviyesi yok denecek kadar az olduğu kaydedildi.

FF-10 (osteoblast/osteosit faktör 45):

FF-10 klon metastatik olmayan CAb.D5 ve AT-1 hücre hatlarında anlamlı bir şekilde ifade edilmesine rağmen diğer hücre hatlarında ifade edilmedi (Şekil 1, D). Bu sonuçlar, FF-10 geninin bu hücre hatlarında metastazı önleyici etkisi olduğunu gösterebilir.

FH-2 (Sıçan sitokeratin 8):

FH-2 ekspresyonuna bakıldığında en çok ifade edilme seviyesi AT-1 hücre hattında gözlemlendi (Şekil 1, E). Buna rağmen FH-2'nin metastatik AT-3 ve MATLu hücre hatlarında da ifade edilmesi, bu genin metastatik ilişkisinin olup olmadığı konusunda kesin bilgi vermemektedir.

Sıçan SG-1:

SG-1 klon metastatik olmayan hücre hatları olan CAb.D5, AT-1 ve 13762 CT hücre hatlarında ifade edilmesine rağmen metastatik hücre hatlarında ifade edilmedi (Şekil 1, F). Sadece MATLyLu metastatik hücre hattında metastatik olmayan hücre hatlarındakine kıyasla çok az seviyede SG-1 ifadesi gözlemlendi. Özellikle Dr. Carlsen'nın laboratuvarında metastatik potansiyelleri test edilmiş olan metastatik (LN4.D6, MATLu ve MATLyLu) ve metastatik olmayan (CAb.D5, AT-1 ve 13762 CT) hücre hatlarında SG-1 ekspresyonunun hücrelerin metastatik potansiyelleriyle korelasyon içinde olması, bu genin metastatik süpressör etkisinin olabileceğini göstermektedir.

Ayrıca insan SG-1 geni için dizayn edilen primerler kullanılarak RT-PCR analizlerinde, SG-1 ekspresyonu hem metastatik olmayan CAb.D5 ve AT-1 sıçan hücre hatlarında hem de metastatik olmayan insan MDA-MB-453 ve HBL-100 hücre hatlarında tesbit edildi.

RB-8 (Nötrofil kemoatraktant 2):

RB-8 ekspresyonunun hem metastatik hem de metastatik olmayan hücre hattında ifade edilmiş olması bu genin hücrenin metastatik karakteriyle ilişkisi olmadığını göstermektedir (Şekil 1, G).

RE-1 (Sıçan keratin 5 mRNA):

RE-1 incelenen bütün hücre hatları içinden sadece LN4.D6 hücre hattında ifade edildi (Şekil 1, H).

RF-5 (Fare keratin epidermal tip 1):

Farklı hücre hatlarında RF-5 ekspresyonuna bakıldığında, hem LN4.D6 hem de CAb.D5 hücre hatlarında ifade edildiği kaydedildi (Şekil 1, I) ancak RF-5 ekspresyonu CAb.D5 hücrelerinde LN4.D6'dekine kıyasla 1.4-kat daha az ifade edildiği bulundu.

Diğer farklı olarak ifade edilen genlerin (FC-7, FG-6, RB-9, RD-4 ve RE-12) değişik hücre hatlarında ifade edilme profillerinin incelenmesi planlanmış olmasına rağmen, söz konusu bu genler için elde edilen primerler çalışmadı. FF-10 geninin insan homologu BLAST araştırmasıyla elde edilip primer dizayn edildi. İnsan hücre hatlarında FF-10 ifadesine bakıldığında, bütün hücre hatlarında ifade edildiği gözlemlendi.

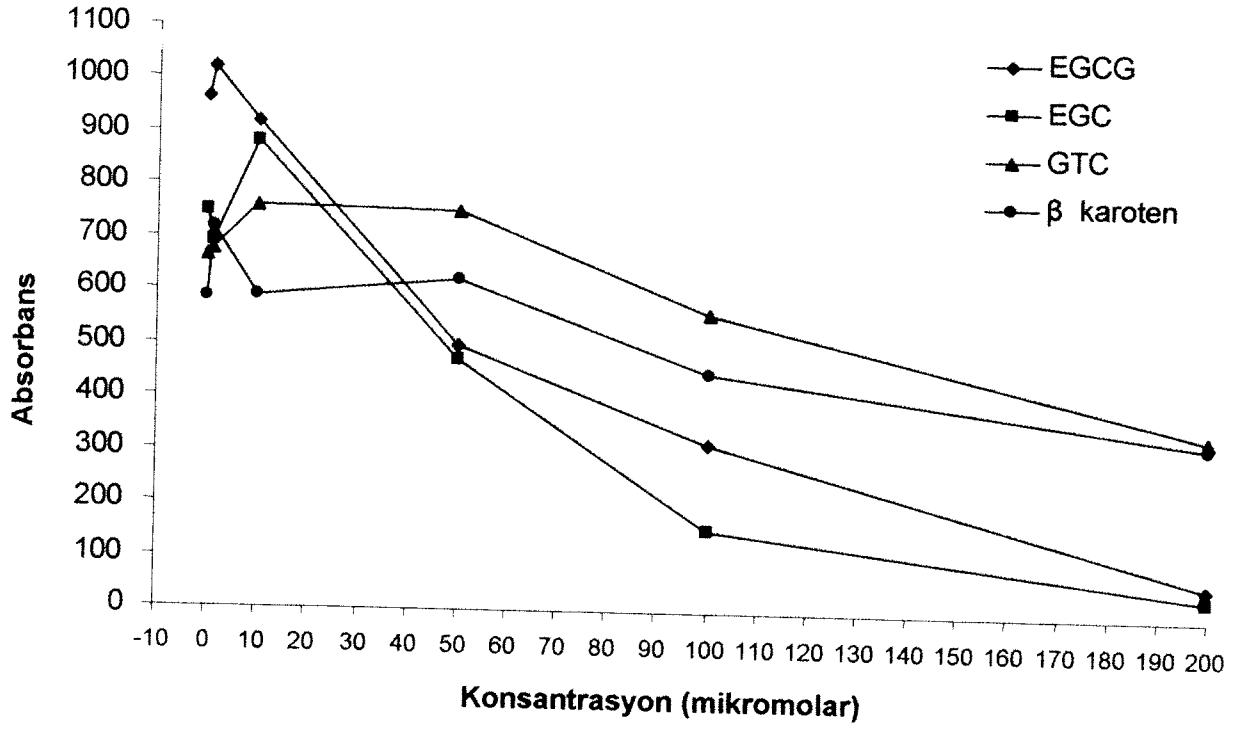
B) Antioksidantların Hücre Büyümesi Üzerine Etkisi

Literatüre göre antioksidantların tümör hücrelerinin büyümesi üzerinde etkileri olabileceğine dair bilgiler bulunmaktadır. Dolayısıyla, bu çalışmada yeşil çay kateşinlerinin, beta-karotenin ve likopenin bazı tümör hücrelerinin bölünmeleri üzerinde etkileri araştırıldı.

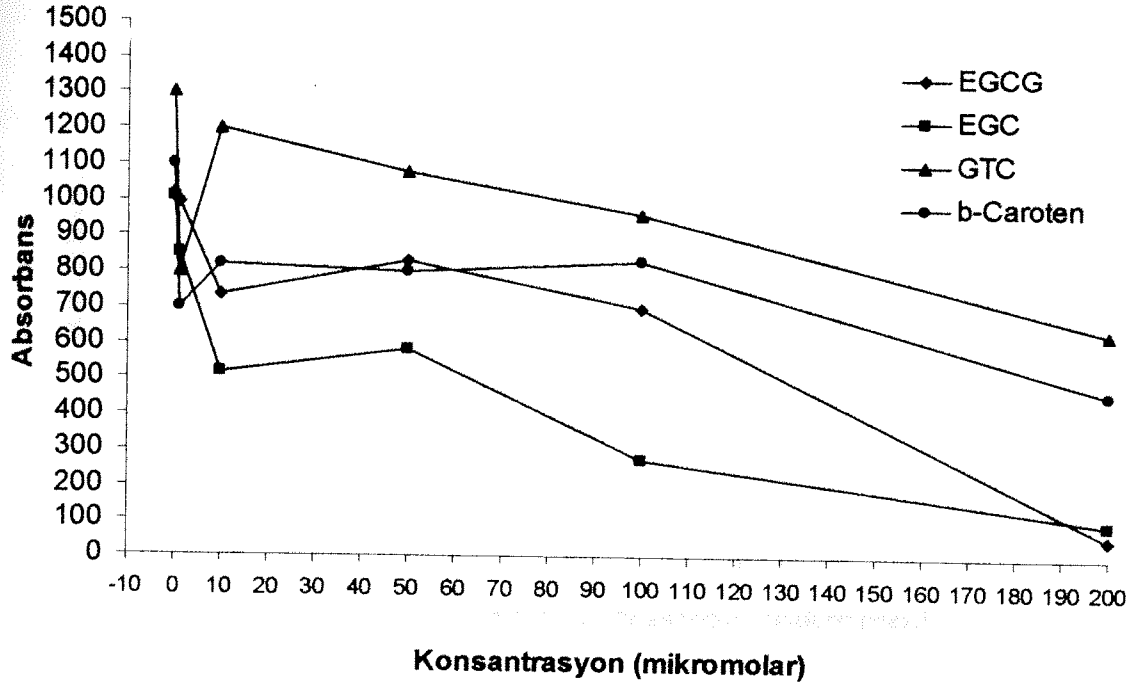
Yeşil çay kateşinleri ve beta-karotenin HeLa ve DU145 hücre hatlarının bölünmeleri üzerinde etkileri farklı konsantrasyonlarda incelendi. Epigallokateşingallate (EGCG) ve epigallokateşin (EGC), 50 µm (mikromol) konsantrasyonda kontrol grubuna kıyasla (antioksidantlarla muamele edilmeyen hücreler) HeLa hücre büyümesini 2-kat azalttı (Şekil 2). Bu antioksidantların hücre büyümesi üzerindeki negatif etkisi 100 µm ve 200 µm konsantrasyonlarda giderek arttı. Yeşil çay kateşini (GTC) ve beta karoten de hücre bölünmesi üzerinde negatif etki gösterdi fakat bunların gösterdiği en etkili konsantrasyon 100 µm ve 200 µm'da gözlemlendi (Şekil 2).

Aynı şekilde, bu dört antioksidant maddenin DU145 prostat adenokarsinoma hücrelerinin büyümesi üzerinde etkilerine bakıldığında HeLa hücrelerindeki benzer patern elde edildi. Diğer bir deyişle, EGCG ve EGC hücre büyümesinin engellenmesi üzerinde GTC ve beta-karotene kıyasla daha etkiliydi (Şekil 3).

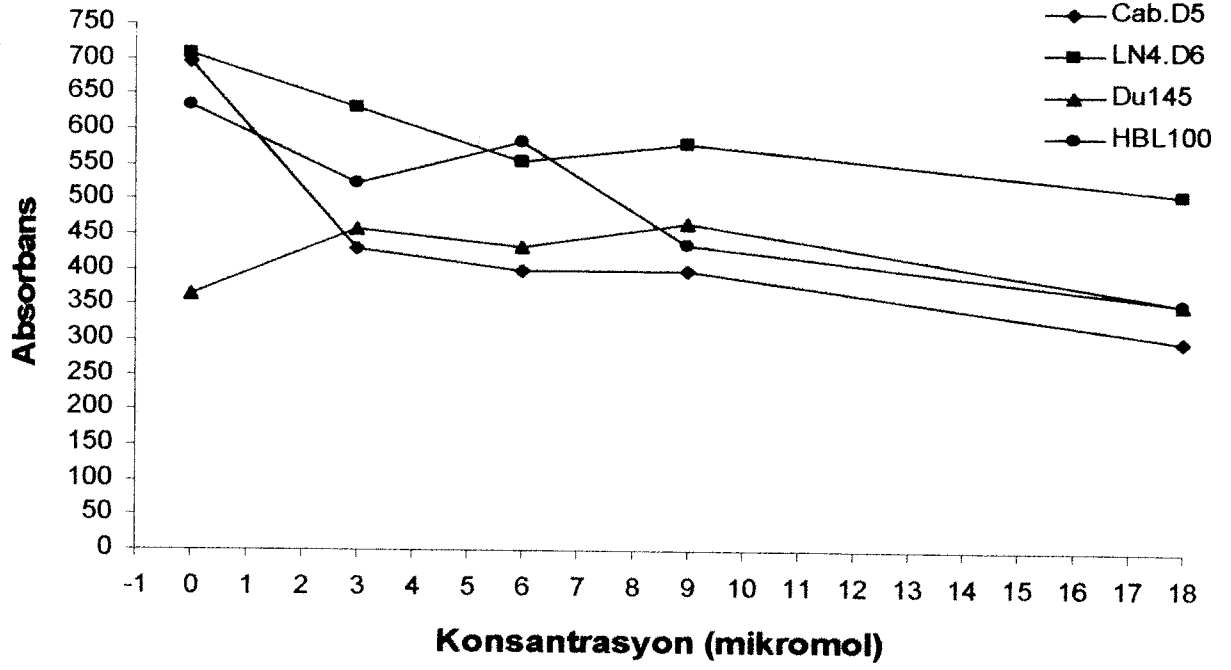
Likopenin CAb.D5, LN4.D6, DU145 ve HBL100 hücre hatlarının büyümeleri üzerinde etkilerine bakıldığında, 3 µm konsantrasyonda CAb.D5 hücrelerinin bölünmesini kontrol grubuna kıyasla (likopenle muamele edilmeyen hücreler) 1.8-kat azalttığı kaydedildi (Şekil 4). 9 µm konsantrasyonda HBL100 ve CAb.D5 hücrelerinin büyümesi anlamlı bir şekilde engellenmesine rağmen likopenin bu konsantrasyonda LN4.D6 ve DU145 hücre hatları üzerinde etkili olmadığı tesbit edildi. Özet olarak, likopen metastatik LN4.D6 ve DU145 adenokarsinoma hücre hatlarının büyümesi üzerinde etkili olmamasına rağmen, metastatik olmayan hücre hatlarından özellikle CAb.D5 hücrelerinin büyümesinin engellenmesi üzerinde anlamlı bir etki göstermiş bulunmaktadır.



Şekil 2. Yeşil çay kateşinlerinin ve beta-karotenin HeLa hcrelerinin büyümesi üzerine etkisi. Veriler duplike örneklerin ortalamasıdır. Duplike örneklerin absorbans değerleri arasındaki fark %2'den daha azdı. Deney benzer sonuçlarla iki kez daha tekrarlandı.



Şekil 3. Yeşil çay kateşinleri ve beta karotenin DU145 hücrelerinin büyümesi üzerine etkisi. Veriler duplike örneklerin ortalamasıdır. Duplike örneklerin absorbansı arasındaki fark %2'den daha azdı. Deney benzer sonuçlarla iki kez tekrarlandı.



Şekil 4. Likopenin CAb.D5, DU145, LN4.D6 ve HBL100 hücre hatlarının büyümesi üzerinde etkisi. Veriler duplike örneklerin ortalamasıdır. Duplike örneklerin absorbansı arasındaki fark %2'den daha azdı. Deney benzer sonuçlarla iki kez tekrarlandı.

C) Antioksidantların Farklı Olarak İfade edilen Genlerin Ekspresyonu Üzerinde Etkisi
CAb.D5 hücreleri yeşil çay kateşinleri, beta-karoten veya likopenle muamele edilip RNA izole edildi ve gen ekspresyon seviyesi RT-PCR analizi ile belirlendi.

C.1. Yeşil çay kateşinleri ve beta-karotenin gen ekspresyonu üzerine etkisi:

SG-1: CAb.D5 hücreleri EGCG, EGC, GTC ve beta karoten ile muamele edildiklerinde, EGC, GTC ve beta karoten gen ifadesi üzerinde benzer etki gösterdi. Şöyle ki: gen ifadesi kontrol grubuna kıyasla 1.4-kat azaldı. EGCG ile muamele edilen hücrelerde ise SG-1 ifadesi kontrol grubuna kıyasla 1.1 kat arttı (Şekil 5 A, 1,2).

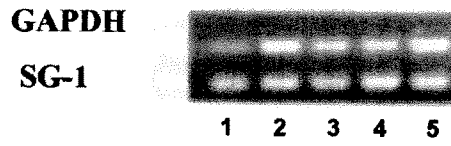
FF-10: CAb.D5 hücreleri kateşinler ve beta karoten ile muamele edildiklerinde, FF-10 ifadesi hemen hemen aynı seviyedeydi. Ancak FF-10 ifadesi kontrol grubuna kıyasla muamele edilen hücrelerde 1.3-kat azaldı (Şekil 5 B, 1,2).

FH-2: EGCG, EGC ve beta karotenle muamele edilen hücrelerde FH-2 ifadesi hemen hemen aynı seviyede ve kontrol hücrelerdekine kıyasla 1.2-kat daha az olduğu gözlenmiştir (Şekil 5. C 1,2). GTC ile muamele edilen hücrelerde ise FH-2 ifadesi kontrol grubuna kıyasla 1.9-kat gibi anlamlı bir şekilde azaldı.

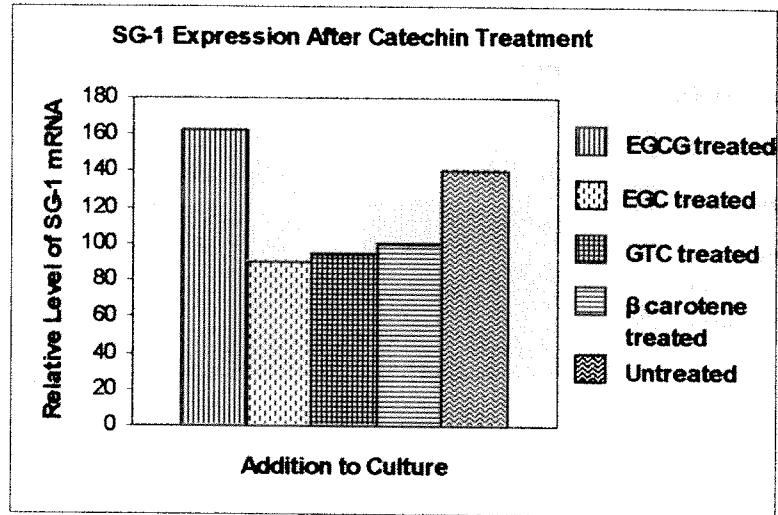
FA-8: CAb.D5 hücreleri kateşinlerle ve beta-karotenle muamele edildiğinde FA-8 ekspresyonunda herhangi bir değişiklik gözlenmedi (Şekil 5.D, 1,2).

P53: Farklı olarak ifade edilen genlerin ekspresyonuna ilaveten, P53 tumor süpressör geninin ifade edilme profiline bakıldığında, beta karotenin kontrol grubuna kıyasla p53 ekspresyonuna etkilemediği gözlendi (Şekil 5.E, 1,2) . Hücrelerin EGCG, EGC ve GTC ile muamele edilmesinde ise, P53 ifadesi kontrol grubuna kıyasla 1.8, 1.5 ve 1.2 –kat azaldı.

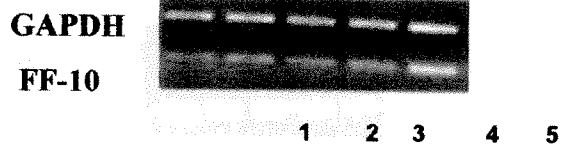
A) 1)



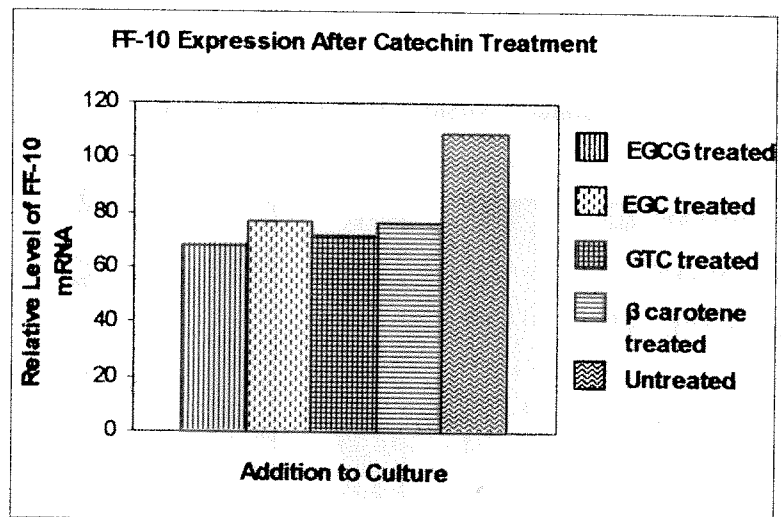
2)



B) 1)



2)



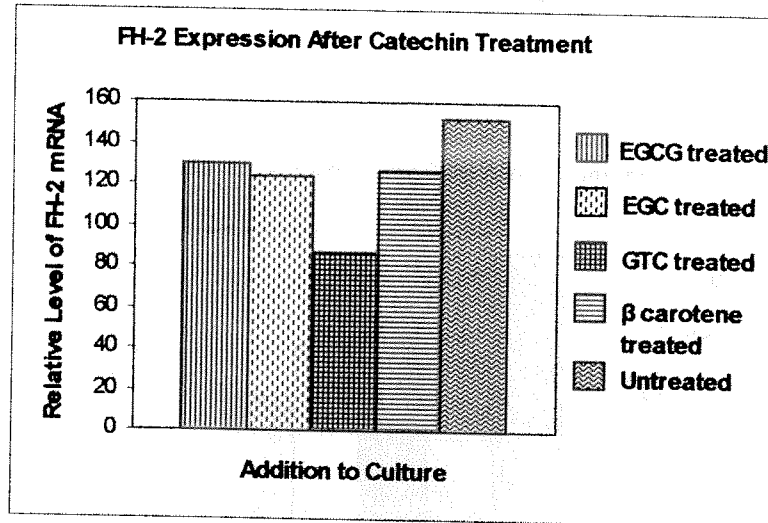
C) 1)

C) 1)

FH-2
GAPDH

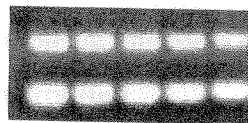


2)



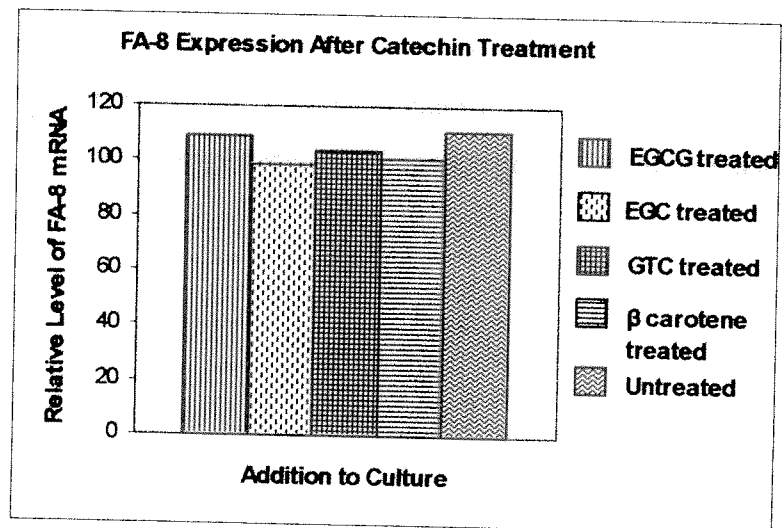
D) 1)

GAPDH
FA-8

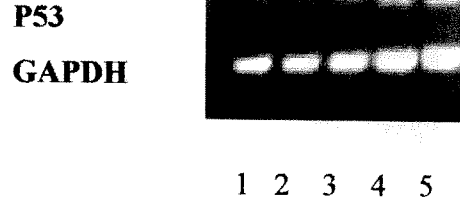


1 2 3 4 5

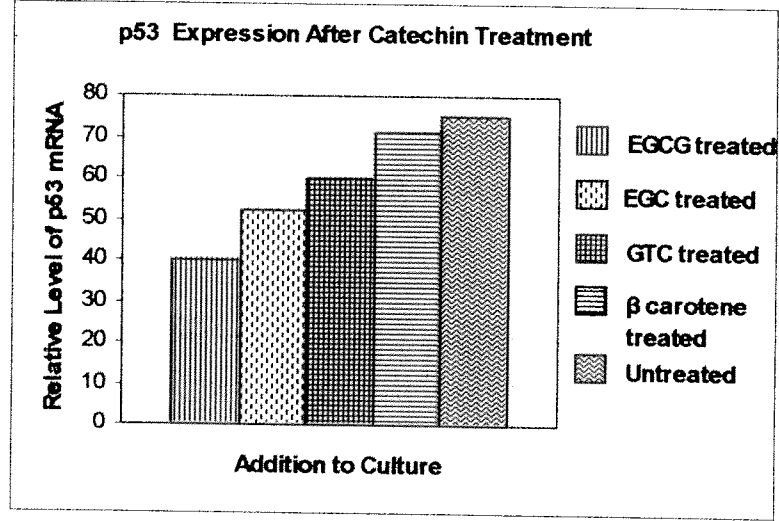
2)



E) 1)



2)

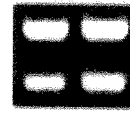
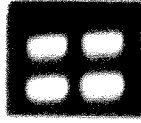


Şekil 5. Yeşil çay kateşinleri ve beta-karotenle muamele edilen CAb.D5 hücrelerinde farklı olarak ifade edilen genlerin ekspresyon profilleri.

C.2. Likopenin gen ekspresyonu üzerinde etkisi:

CAb.D5 hücreleri likopen ile muamele edilerek SG-1, FF-10, ve FH-2 genlerinin ifade edilme seviyeleri RT-PCR analizleriyle belirlendi. Likopenin kontrol grubuna kıyasla SG-1 ve FH-2 genlerinin ifade edilmesi üzerinde etki göstermediği buna karşın FF-10 genini ifade edilmesini 1.6-kat azalttığı bulundu (Şekil 6, 1,2).

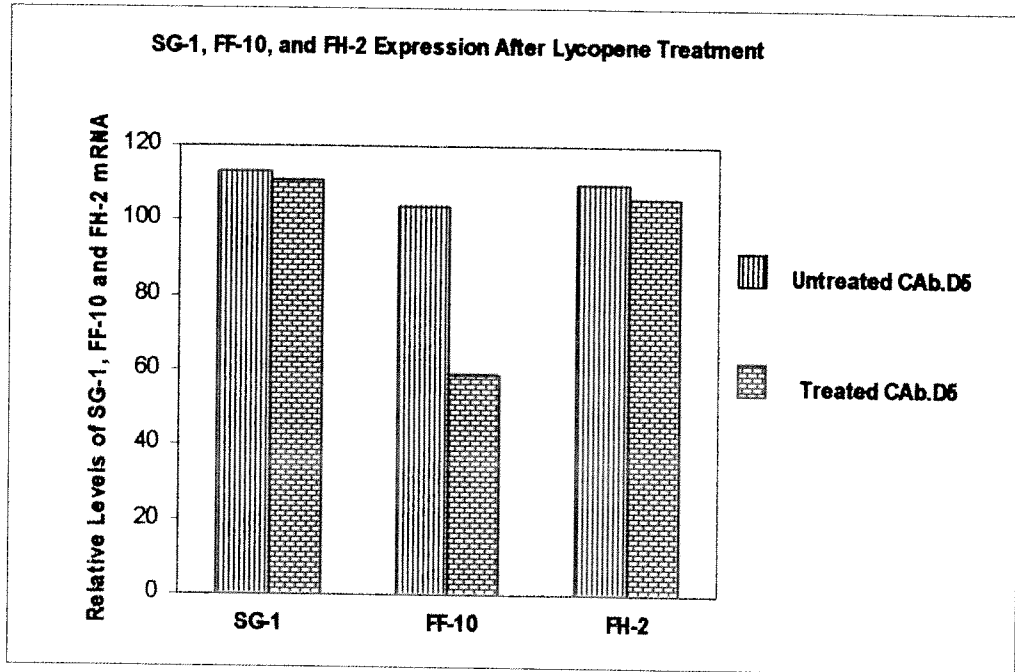
A) 1) GAPDH
SG-1



FH-2

FF-10

B) 2)



Şekil 6. Likopenin SG-1, FF-10, ve FH-2 ekspresyonu üzerinde etkisi.

TARTIŞMA

Önceki çalışmalarımızda metastatik ve metastatik olmayan hücre hatlarında farklı olarak ifade edilen genleri tesbit ettik. Bu çalışmamızda farklı olarak ifade edilen genlerin metastatik ilişkilerinin bulunup bulunmadığını belirlemek amacıyla değişik hücre hatlarında bu genlerin ekspresyonu RT-PCR ile incelendi.

Hücre dışı matriks bazal membran ve konnektif dokudan oluşmuştur ve kolojen IV bazal membranın önemli yapıtaşlarından biridir (Ahmad and Hard 1997). Tip I, II, III gibi kolojen fiberleri ise konnektif dokunun önemli elemanlarıdır. Kanser hücreleri ve stroma hücreleri tarafından üretilen enzimler hücre dışı matriksin yıkımına yol açar (Liotta et al. 1983). Dolayısıyla FA-8 (sıçan alfa 2 kolojen IV) ve FC-6 (sıçan proalfa I kolojen III) klonlarının metastatik ilişkilerinin incelenmesi bu çalışmanın önemli noktalarından olmuştur. FA-8 metastatik olmayan CAb.D5 ve AT-1 hücre hattında ifade edildi ve metastatik LN4.D6'da ifade edilmedi. Ancak FA-8'in ifade edilme profili diğer hücre hatlarında benzer modeli göstermedi. Benzer şekilde FC-6 CAb.D5 hücrelerinde yoğun bir şekilde ifade edilmesine rağmen diğer metastatik ve metastatik olmayan hücre hatlarında daha az seviyede ifade edildi. (Şekil 1). Diğer bir deyişle, incelen hücreler kapsamında FA-8 ve FC-6 klonlarının ifade edilme profilinin hücrelerin metastatik potansiyeliyle ilgili olmadığını gösterdi. Benzer şekilde, FC-1 (aldehit dehidrogenaz) ve FH-2 (sitokeratin 8) klonlarının ifade edilme profilleri de hücrelerin metastatik potansiyeliyle korelasyon göstermedi. Bu verilere göre, sözkonusu genlerin direkt olarak hücrelerin metastatik oluşumunda rol almadığı fakat indirekt olarak bu prosesinde yer alabileceği anlaşılmaktadır.

FF-10 (osteoblast/osteosit faktör 45) ve SG-1 klonlarının ifade edilme profillerine bakıldığında, FF-10 sadece metastatik olmayan CAb.D5 ve AT-1 klonlarında ifade edildi. Bu genin diğer metastatik ve metastatik olmayan hücre hatlarında ifade edilmeyişi, FF-10'nin metastatik süpressör fonksiyonunun olabileceğini göstermektedir. Aynı şekilde, SG-1'in ifade edilme profiline bakıldığında, bu genin metastatik olmayan CAb.D5, AT-1 ve 13762 CT hücrelerinde yoğun bir şekilde ifade edilmesine karşın metastatik hücre hatlarında ifade edilmeyişi (Şekil 1), SG-1'in metastatik süpressör geni olabileceğini göstermektedir. FF-10 ve SG-1 cDNA klonlarının ekspresyon vektörlerine konarak metastatik hücrelere yapılacak

transfeksiyon çalışmaları, bu genlerin metastazı önleyici fonksiyonlarını daha belirgin açıklayacaktır.

Yeşil çay kateşinlerinden EGCG ve EGC'nin insan kolorektal tümör hücrelerinin (HTC11) büyümesi üzerinde inhibitör etki gösterdiği kaydedilmiştir (Uesato et al. 2001). Diğer bir çalışmada EGCG'nin apoptoza yol açan en etkili polifenol olduğu gösterilmiştir (Azam et al. 2004). Yine diğer bir çalışmada, EGCG'nin insan pankreatik karsinoma hücrelerinin büyümesini doza bağlı olarak engellediği bilinmektedir (Moriatsu et al. 2002). Bizim çalışmamızda da yeşil çay kateşinlerinden EGC ve EGCG'nin tümör hücrelerinin büyümesi üzerinde doza bağımlı olarak engelleyici etki gösterdiği gözlenmiştir (Şekil 2, 3).

Bir çok çalışmada beta-karoten alınımları ile çeşitli kanserler arasında zıt bir ilişki olduğu belirtilmiştir. Levin et al. (1997) beta karotenin sıçan tümör hücrelerinin büyümesinin engellenmesinde etkili bir antioksidant olduğunu bildirmiştir. Literatürdeki bilgilere paralel olarak, bu çalışmada da beta karotenin tümör hücrelerinin büyümesinde engelleyici etkisi olduğu kaydedilmiştir (Şekil 2,3).

Likopenin endometrial, meme ve akciğer kanser hücrelerinin bölünmesinde etkili bir inhibitör olduğu gösterilmiştir (Giovannucci et al. 1995). Hücre kültürü çalışmalarında da likopenin kanser hücrelerinin büyümesini engellediği kaydedilmiştir (Dorgan et al. 1998). Meme, endometrial, akciğer ve lökemik kanser hücrelerinde likopenin hücre bölünmesini engelleyici etkisi doza bağlı olarak değişmiştir (Amir et al., 1995). Bizim çalışmamızda da likopenin, özellikle metastatik olmayan CAb.D5 sıçan meme adenokarsinoma hücrelerinin ve HBL100 insan normal meme hücrelerinin büyümesini engellemede metastatik sıçan meme adenokarsinoma LN4.D6 ve insan prostat adenokarsinoma DU145 hücrelerine kıyasla daha etkili olduğu gösterildi (Şekil 4). Likopen CAb.D5 hücreleri üzerinde 3 µM konsantrasyonda etkili olmasına rağmen, HBL100 hücreleri üzerinde 9 µM konsantrasyonda etkili oldu (Şekil, 4).

Antioksidant maddelerin genlerin ifade edilmesi üzerinde etkilerine bakıldığında, kontrol grubundaki hücrelere kıyasla EGC, GTC ve beta-karotenle muamele edilen hücrelerde SG-1 ifadesi 1.4-kat azaldı. EGCG ise SG-1 ifadesini 1.1 kat arttırdı. (Şekil 5).

GTC ile muamele edilen hücrelerde FH-2 ifadesi kontrol grubuna kıyasla 1.6-kat arttı. Yeşil çay kateşinleri ve beta-karoten FA-8'in ifade edilme profilini etkilemedi. Likopen SG-1 ve FH-2 ifadesi üzerinde herhangi bir etki göstermemesine rağmen, FF-10 ekspresyonunda 1.8-kat azalmaya yol açtı (Şekil 6).

Son olarak, FC-7, FG-6, RB-9, RD-4 ve RE-12 için dizayn edilen primerler çalışmadığı için bu genlerin ifade edilme profilleri çeşitli hücre hücre hatlarında incelenmedi.

SONUÇLAR

Metastatik (LN4.D6) ve metastatik yeteneği çok düşük olan CAb.D5 hücre hatlarında farklı olarak ifade edildiği tesbit edilen genlerin (Gunes and Carlsen, 2003), çeşitli adenokarsinoma hücre hatlarında ifade edilme profillerine bakılarak bu genlerin metastatik ilişkileri incelendi. Farklı olarak ifade edilen genler için dizayn edilen primerlerden FC-7, FG-6, RB-9, RD-4 ve RE-12 cDNA klonları için olanlar çalışmadı. Dolayısıyla, FA-8, FC-1, FC-6, FF-10, FH-2, RB-8, RE-1, RF-5 ve SG-1 cDNA klonlarının çeşitli hücrelerde ifade edilme profillerine bakıldı.

CAb.D5'de farklı olarak ifade edilen genler diğer hücre hatlarında incelendiğinde, özellikle FA-8, FC-1 ve FC-6'nın CAb.D5'de ifade edilme seviyeleri fazla olmasına rağmen hem metastatik hem metastatik olmayan diğer hücre hatlarında da ifade edilmesi (Şekil 1) bu genlerin hücrelerin metastatik potansiyeliyle direkt ilgili olmadığını göstermektedir. Benzer şekilde FH-2 cDNA klonunun ifade edilme profili hücrelerin metastatik durumuyla paralellik göstermedi. Buna rağmen, FF-10 ve özellikle SG-1 cDNA klonunun sadece metastatik olmayan hücre hatlarında ifade edilme profili bu genlerin metastatik supressör fonksiyonunun olabileceğini göstermektedir. Ekspresyon vektörlerine konacak FF-10 ve SG-1 cDNA klonlarıyla yapılacak transfeksiyon çalışmaları, bu genlerin hücrelerin metastatik potansiyelindeki fonksiyonlarını açıklamada yardımcı olacaktır.

LN4.D6'de farklı olarak ifade edilen genlerin çeşitli hücre hatlarında ifade edilme profiline bakıldığında, RB-8 cDNA klonunun hem metastatik hem de metastatik olmayan hücre

hatlarında ifade edilmesi (Şekil 1), bu genin direkt metastatik ilişkisinin olmadığını göstermektedir. Buna ilaveten, RE-1 sadece metastatik LN4.D6 hücre hattında ifade edildi fakat diğer hiç bir hücre hattında ifade edilmedi. Benzer şekilde, RF-5 sadece LN4.D6 ve CAb.D5 hücre hatlarında ifade edildi fakat RF-5'in ifade edilme seviyesi LN4.D6'de CAb.D5'a kıyasla 1.5-kat daha fazlaydı. RE-1 ve RF-5 cDNA klonlarıyla yapılacak transfeksiyon çalışmaları bu genlerin metastaz oluşumunda rol alıp almadıklarını gösterecektir.

Yeşil çay kateşinleri EGCG, EGC, GTC; beta karoten; ve likopenin tümör hücrelerinin büyümeleri üzerinde etkilerine bakıldığında EGCG ve EGC tümör hücre büyümesinin engellenmesinde diğer antioksidant maddelere daha etkili olduğu bulundu. Özellikle GTC ve beta karotene kıyasla daha az konsantrasyonda (50 μ M) hücre büyümesini anlamlı bir şekilde engelledi (Şekil 2). Likopenin değişik tümör hücre hatlarının büyümesi üzerindeki etkisine bakıldığında, likopen daha az konsantrasyonda (3 μ M) CAb.D5 hücrelerinin büyümesini engelledi.

Son olarak, yeşil çay kateşinleri, beta karoten ve likopenin FF-10, SG-1, FH-2 ve FA-8 genlerinin ifade edilme profilleri üzerindeki etkisine bakıldı. Yeşil çay kateşinleri ve beta karoten kontrol grubuna kıyasla FF-10 ekspresyonunu 1.4-kat azalttı. EGC, GTC ve beta-karoten SG-1 ifadesini 1.5-kat azaltırken, EGCG SG-1 ifadesini 1.2-kat arttırdı. Antioksidantların FH-2 ifadesini üzerinde anlamlı bir etkisi gözlenmezken, sadece GTC FH-2 ifadesini 1.8-kat azalttı. Bunlara ilaveten, antioksidantlar FA-8 gen ekspresyonu üzerinde hiç bir etki göstermedi. Son olarak, likopen SG-1 ve FH-2 gen ekspresyonu üzerinde hiçbir etki göstermezken FF-10 ifadesini kontrol grubuna kıyasla 1.8-kat kat azalttı.

Sonuç olarak, metastatik ve metastatik olmayan hücre hatlarında farklı olarak ifade edildiği bulunan genlerin metastatik ilişkilerine bakıldığında, SG-1 ve FF-10 dışında diğer genlerin direkt olarak metastatik ilişkilerinin olmadığı görüldü. Özellikle SG-1, FF-10, RE-1 ve RF-5 cDNA klonlarıyla yapılacak transfeksiyon çalışmaları ve bu genlerin insan primer ve sekonder meme tümörlerinde ifade edilme profillerine bakılması bu genlerin metastatik potansiyelleri üzerinde daha açıklayıcı ve destekleyici bilgiler verecektir. Ayrıca bu çalışma, bazı antioksidant maddelerin metastatik ve metastatik olmayan hücre hatlarında ifade edilen genlerin

ekpresyon profillerini nasıl etkilediğini ve çeşitli tümör hücrelerinin büyümesi üzerindeki etkilerini açıklığa kavuşturmuş bulunmaktadır.

KAYNAKLAR

- Ahmad, A., Hart, I.R. (1997) Mechanism of metastasis. *Critical Review Oncol Hemato* **26**,163-173.
- Amir, H., Karas, M., Giat, J., Danilenko, M., Levy, R., Yermiahu, T., Levy, J., Sharoni, Y. 1999. "Lycopene and 1,25-dihydroxyvitamin D3 cooperate in the inhibition of cell cycle progression and induction of differentiation in HL-60 leukemic cells", *Nutr. Cancer*. Vol. 33, pp. 105-112.
- Azam, S., Hadi, N., Khan, N.U., Hadi, S.M. 2004. "Prooxidant property of green tea polyphenols epicatechin and epigallocatechin-3-gallate: implications for anticancer properties", *Toxicol in Vitro*. Vol. 18, No. 5, pp. 555-561.
- Buckly, N.D., Carlsen, S.A. (1988) Involvement of soybean agglutinin binding cells in the lymphatic metastasis of the R3230AC rat mammary adenocarcinoma. *Cancer Res* **48**, 1451-1455.
- Carlsen, S.A., Barry, M., Newton, K. (1990) The identification of a neural glycosphingolipid antigenic marker for metastatic cells in the R3230AC rat mammary adenocarcinoma. *Clin. Exp. Metastasis* **8**, 141-151.
- Carlsen, S.A., Xie, Y., Whitfield D.M., Pang, H., Krepinsky, J.J. (1993) Isoglobotetraosylceramide is a marker for highly metastatic cells in rat mammary adenocarcinomas. *Cancer Res*. **53**, 2906-2911.
- Dorgan, J.F., Sowell, A., Swanson, C.A., Potischman, N., Miller, R., Schussler, N., Stephenson Jr., H.E. 1998. "Relationship of serum carotenoids, retinol, a-tocopherol and selenium

- with breast cancer risk: results from a prospective study in Columbia, Missouri", *Cancer Causes Control*. Vol. 9, pp. 89-97.
- Fidler, I.J., and Nicolson, G.L. (1987) The process of cancer invasion and metastasis. *Cancer Bull.* **39**, 126-131.
- Giovannucci E, Ascherio A, Rimm EB, Stampfer MJ, Colditz GA, Willett WC. 1995. "Intake of carotenoids and retinol in relation to risk of prostate cancer", *J Natl Cancer Inst*. Vol. 87, pp. 1767-76.
- Gunes, H. and Carlsen S.A. 2003. "Identification of differentially expressed genes in isogenic highly metastatic and poorly metastatic cell lines of R3230AC rat mammary adenocarcinoma", *Cell Prolif*. Vol. 36, pp. 333-346.
- Levin, G., Yeshurun, M., Mokady, S. 1997. "In vivo antiperoxidative effect of 9-cis beta-carotene compared with that of the all- trans isomer", *Nutr Cancer*. Vol. 27, pp. 293-297.
- Liotta, L.A., Steeg P.S., Stetler-Stevenson, W.G. (1991) Cancer metastasis and angiogenesis: an imbalance of positive and negative regulation. *Cell* **64**, 327-336.
- Liotta L.A, Rao C.N., Barsky S.H. Tumor invasion and extracellular matrix. *Lab Invest*. **49**, 636.
- Moriatsu, T., Yoichiro, N., Tamio, K., Hirochika, T., Takashi, K., Yasuyuki, S., Yoshifumi, T., Yoshikazu K. 2002. "Suppression of Human Pancreatic Carcinoma Cell Growth and Invasion by Epigallocatechin-3-Gallate", *Pancreas*. Vol. 25, No. 1, pp. 45-48.
- Nicolson, G.L. (1988) Cancer metastasis: tumor and host organ properties important in metastasis to specific secondary sites. *Biochim. Biophys. Acta* **948**, 175-224.

Uesato, S., Kitagawa, Y., Kamishimoto, M., Kumagai, A., Hori, H., Negasawa, H. 2001. "Inhibition of green tea catechins against the growth of cancerous human colon and hepatic epithelial cells", *Cancer Letters*. Vol. 170, pp. 41-44.

Yokota, J. (2000) Tumor progression and metastasis. *Carcinogenesis* 21, 497-503.

PROJE ÖZET BİLGİ FORMU

Proje Kodu: SBAG-2643 (102S273)
Proje Başlığı: İzogenik adenokarsinoma hücre hatlarında farklı olarak ifade edilen genlerin metastatik ilişkilerinin araştırılması
Proje Yürütücüsü ve Yardımcı Araştırmacılar: Doç. Dr. Hatice Güneş Araş. Gör. Mert Sudağıdan Seçil Certel
Projenin Yürütüldüğü Kuruluş ve Adresi: İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü Urla 35430 İzmir
Destekleyen Kuruluş(ların) Adı ve Adresi: -
Projenin Başlangıç ve Bitiş Tarihleri: 31 Aralık 2002- 31 Aralık 2004
Öz (en çok 70 kelime): Önceki çalışmada izogenik sıçan meme adenokarsinoma R3230AC hücre hatlarında farklı olarak ifade edilen genler tesbit edildi. Bu genlerin metastatik ilişkilerini belirlemek amacıyla yapılan bu çalışmada, çeşitli adenokarsinoma hücre hatlarında genlerin ifade edilme profilleri RT-PCR yöntemiyle belirlendi. FF-10 ve SG-1 gen klonlarının metastatik olmayan hücre hatlarında ifade edilmelerine rağmen metastatik hücre hatlarında ifade edilmemeleri, bu genlerin potansiyel metastatik suppressör yeteneklerinin olabileceğini göstermektedir. Ayrıca yeşil çay kateşinleri, beta-karoten gibi bazı antioksidant maddelerin tümör hücre büyümesi ve gen ifadesi üzerindeki etkileri incelenmiş olup belirli konsantrasyonlarda etki gösterdikleri bulunmuştur.
Anahtar Kelimeler: Adenokarsinoma, metastaz, antioksidant, hücre büyümesi
Projeden Kaynaklanan Yayınlar: 1. Ekspression profiles of differentially expressed genes of rat mammary adenokarsinoma in various tumor cell lines and effects of some antioxidants. (Yüksek Lisans Tezi, İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü) 2. S. Certel, M. Sudağıdan, H. Güneş . Expression profiles of differentially expressed genes of rat mammary adenocarsinoma in various tumor cell lines and effects of some antioxidants. <i>Onkologie International Journal for Cancer Research and Treatment</i> 28 , 53 (2005). 13th International AEK/AIO Congress of the German Cancer Society (Mart 13-16, 2005).
Bilim Dalı: Moleküler Biyoloji <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Doçentlik Bilim Dalı Kodu: 401.02.01