

بررسی اثر ملیتین بر میزان بیان پروتئین Rac1 به عنوان مارکر متاستاز در سلول‌های سرطان معده رده AGS

مهدييه همتی^۱، ندا عيوضی^۲، آرزو چاکرزهی^۳، علی مرادي^{۴*}، جواد محيطی اردکانی^۵، امير محمودزاده^۶

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بیوشیمی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی، یزد، ایران

۴- استادیار گروه بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی، یزد، ایران

۵- دانشیار گروه بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی، یزد، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱/۲۸

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۰/۷

چکیده

مقدمه: شناخت مکانیسم‌های مولکولی در متاستاز برای طراحی و استفاده مؤثر از استراتژی‌های درمانی جدید ضروری می‌باشد. یک دسته از مولکول‌هایی که در این مکانیسم نقش داردند Rac1 است. با توجه به عوارض جانبی روش‌های درمانی رایج مانند شیمی درمانی، امروزه توجه زیادی به ترکیبات طبیعی شده است که دارای اثراً اثراً جانبی کمتر و خواص ضدسرطانی هستند. ملیتین یک پپتید آمفی پاتیک مشتق شده از سم زنبور عسل می‌باشد. مطالعات نشان دادند که ملیتین با تأثیر بر میزان Rac1 نقش مهمی در کاهش متاستاز سلول‌های سرطانی دارد. در این مطالعه به بررسی تأثیر ملیتین بر میزان بیان پروتئین Rac1 در سلول‌های سرطان معده رده AGS پرداخته شده است.

روش بررسی: سلول‌های AGS بعد از رشد و رسیدن به تراکم بیش از ۸۰ درصد، به مدت ۶ ساعت با غلظت‌های ۰/۲، ۰/۰۵، ۰/۰۰۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر ملیتین تیمار شدند. پس از جمع‌آوری و لیز سلول‌ها با بافر لیز، میزان بیان پروتئین Rac1 در مقایسه با کنترل به روش وسترن بلاستینگ سنجیده شد. اطلاعات به دست آمده با کنترل β -Actin مقایسه و به صورت درصد محاسبه گردید. داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS و آزمون One-Way Anova تجزیه و تحلیل شد.

نتایج: بیان پروتئین Rac1 در حضور غلظت‌های ۰/۰۲، ۰/۰۳ و ۰/۰۴ ملیتین نسبت به کنترل (۱۰۰) افزایش و غلظت ۰/۰۵ (۱۰۰±۲) شبیه به کنترل شد که تفاوت معنی‌داری دیده نشد ($p>0.05$).

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج به دست آمده ملیتین در این مطالعه تأثیری بر بیان Rac1 در سلول‌های سرطانی معده رده AGS ندارد.

واژه‌های کلیدی: سرطان معده، ملیتین، Rac1، متاستاز

*نویسنده مسئول؛ تلفن: ۰۳۵۱-۷۷۱۶۰۲۲، پست الکترونیکی: student.student1390@yahoo.com

- این مقاله برگرفته از پایان نامه دانشجویی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد می‌باشد.

مقدمه

بررسی تأثیر ملیتین بر روی میزان بیان پروتئین Rac-1 در سرطان معده رده سلولی AGS در مقایسه با گروه کنترل است.

روش بررسی

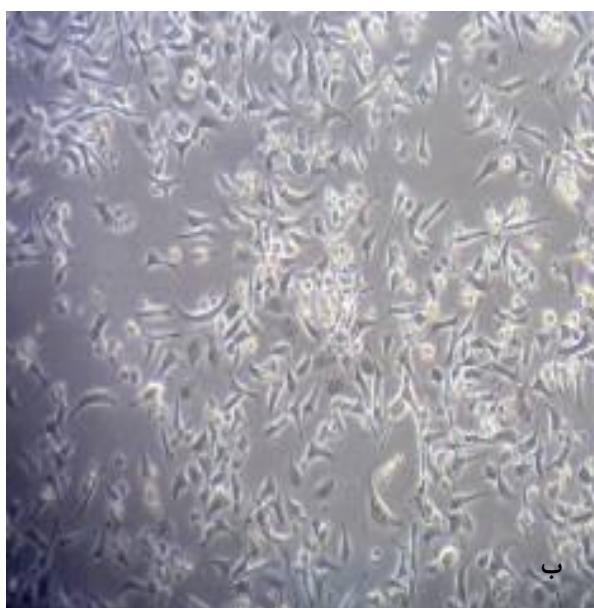
برای انجام این پژوهش تجربی ماده ملیتین به صورت خالص و تجاری از شرکت انسستیتو پاستور ایران خریداری شد. ملیتین توسط کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا - فاز معکوس (RP-HPLC) و با استفاده از ستون C18 از زهر زنبور عسل استخراج گردید و تجزیه و تحلیل فراکشن ملیتین با استفاده از SDS-PAGE خالص بودن آن را تأیید شد(۱۴). استوک زهر زنبور با غلظت ۱/۶ میلی گرم بر میلی لیتر با آب مقطر استریل تهیه شد. رده سلولی سرطان معده AGS از انسستیتو پاستور ایران تهیه و DMEM: در فلاسک ۵۰ میلی لیتری حاوی محیط کشت (Dulbecco's Minimum Essential Medium آنتی بیوتیک های پنی سیلین - استرپتومایسین (سیگما-آمریکا)، شرایط دمایی ۳۷ درجه سانتی گراد و ۵ درصد دی اکسید کربن کشت داده شد. با توجه به غلظت مهار کنندگی رشد ۵۰ درصد سلول ها (IC50) ملیتین برای مدت زمان ۶ ساعت، ۱/۲ µg/ml می باشد(۱۴) غلظت های پایین تر از IC50، ۰/۴، ۰/۳، ۰/۲ میکرو گرم انتخاب شد و سلول های AGS بعد از رسیدن تراکم سلول ها به بیش از ۸۰ درصد به مدت ۶ ساعت که زمان لازم برای مسیرهای سیگنالینگ و بیان پروتئین ها می باشد، تحت تأثیر این غلظت ها تیمار شدند. با توجه به اثرات سمی ملیتین و اینکه ملیتین باعث تخریب سلول ها می شود، باید غلظت هایی انتخاب شود که بیش از نیمی از سلول ها زنده بمانند. چون انتخاب ملیتین، آب استریل بود در گروه کنترل آب استریل هم حلال ملیتین، آب استریل بود میگردید. جهت اضافه شدن، چون حجم به جای ملیتین به محیط کشت اضافه شد. جهت جداسازی، شستشو با بافر فسفات سرد دو مرتبه انجام شد و سپس با استفاده از اسکرپر سلول ها از کف فلاسک جدا شدند. به منظور لیز، سلول ها در بافر HES ۲۲۵ میلی مول سوکروز، ۴ میلی مول Na₂EDTA، ۲۰ میلی مول HEPES و ۱ میلی مول PMSF و ۱٪ کوکتل آنتی پروتئناز به خوبی مخلوط و به مدت

در مقایسه با سایر سرطان ها، سرطان معده دومین علت اصلی مرگ و میر حاصل از سرطان و چهارمین سرطان شایع در جهان محسوب می گردد(۱،۲). پیشرفت هایی در زمینه تشخیص و درمان در جهت حیات طولانی با تشخیص اولیه سرطان پیشنهاد شده است. در حالی که شیوع عوارض سرطان معده و مرگ ناشی از آن با متاستاز همراه می باشد(۳). متاستاز شامل گسترش سلول های تومور اولیه به محل های دیگر در بدن می باشد(۴). که یک فرایند چند مرحله ای است و همراه با اختلال در مسیرهای سیگنالینگ شامل مسیرهای همراه با چسبندگی و تحرک سلول می باشد(۵). بیان پروتئین های خانواده Rho تنظیم کننده های اصلی پیش روندگی سلول و متاستاز می باشند و از دسته GTPases می باشند(۶). Rac1 عضوی از این گروه بوده که در بازسازی اسکلت سلولی و کنترل رشد سلول نقش دارد(۷). در فرایند متاستاز Rac-1 باعث تشکیل lamellipodia از طریق سازماندهی اسکلت سلولی (اکتین) و رشد میکرو توبول ها می شود(۸). مطالعات نشان داده که میزان بیان Rac-1 در سلول های سرطان معده افزایش می باشد که باعث افزایش متاستاز در سرطان معده می گردد(۹). ملیتین یک پپتید کوچک و آمفی پاتیک و جزء اصلی مشتق شده از سم زنبور Apis Mellifera است که دارای ۲۶ ریشه آمینواسیدی می باشد و دارای یک ناحیه N-ترمینال هیدروفوب (۱-۲۰ اسید آمینه) و یک ناحیه C-ترمینال هیدروفیل (۲۱-۲۶ اسید آمینه) با بار مثبت می باشد(۱۰). ملیتین با تداخل در برهمنکنش لیپید پروتئین در غشای سلول اختلال ایجاد می کند و لیز سلولی را موجب می شود(۱۱). با پیشرفت مکانیسم های مؤثر برای تحويل ملیتین به درون سلول های خاص از قبیل نانوذرات، ملیتین به عنوان هدف بزرگی برای درمان سرطان می باشد(۱۲). در سرطان کبد ملیتین با کاهش حرکت و مهاجرت سلول ها به وسیله مهار فعالیت Rac-1 از متاستاز جلوگیری می کند(۱۳). مطالعات کمی در زمینه تأثیر ملیتین روی Rac-1 و متاستاز صورت گرفته است. هدف از این مطالعه

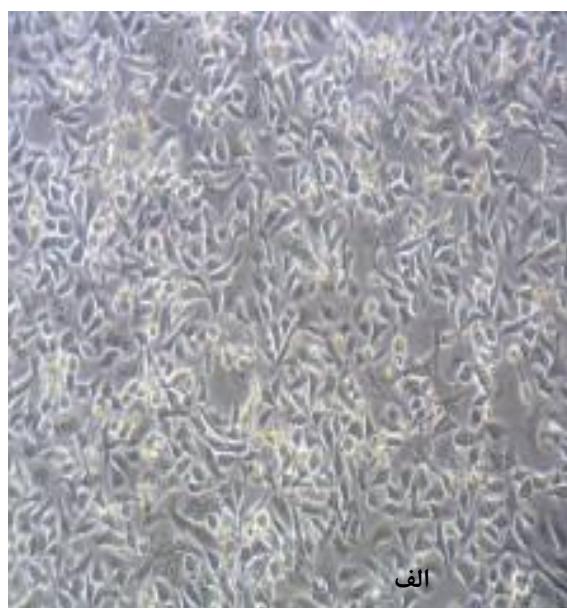
۱:۲۰۰۰ در محلول TBS/T انکوبه شد. پس از شستشو، باندها به روش کمی لومینسانس تقویت شده ECL (GE/Amersham Gel Documentation Healthcare-انگلستان) و دستگاه Gel documentation and analysis عکسبرداری شدند. نتایج به دست آمده از تکرار سه بار آزمایش به صورت میانگین \pm انحراف معیار بیان شد و داده‌های به دست Gel documentation and analysis آمده توسط دستگاه system با استفاده از نرمافزار مخصوص خود دستگاه تجزیه و تحلیل و داده‌ها با نرمافزار SPSS نسخه ۱۴ و آزمون آماری Anova One-Way مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. برای بررسی و مقایسه، باندهای پروتئین موردنظر با کنترل داخلی β -Actin نرمال شدند و سپس هر یک از باندهای $0/۲$ ، $۰/۳$ ، $۰/۴$ میکروگرم بر میلیلیتر ملیتین با باند کنترل Rac1 مقایسه و نتایج به صورت درصدی بیان شدند. سطح معنی‌داری کمتر از $۰/۵$ در نظر گرفته شد.

نتایج

سلول‌های AGS بعد از رشد و رسیدن به تراکم ۸۰% با غلظت‌های $۰/۲$ ، $۰/۳$ ، $۰/۴$ ملیتین با توجه به IC50 (نمودار ۱) به مدت ۶ ساعت تیمار شدند. سلول‌ها قبل و بعد از تیمار با ملیتین با میکروسکوپ معکوس بررسی گردیدند (شکل ۱ الف و ب).



ب

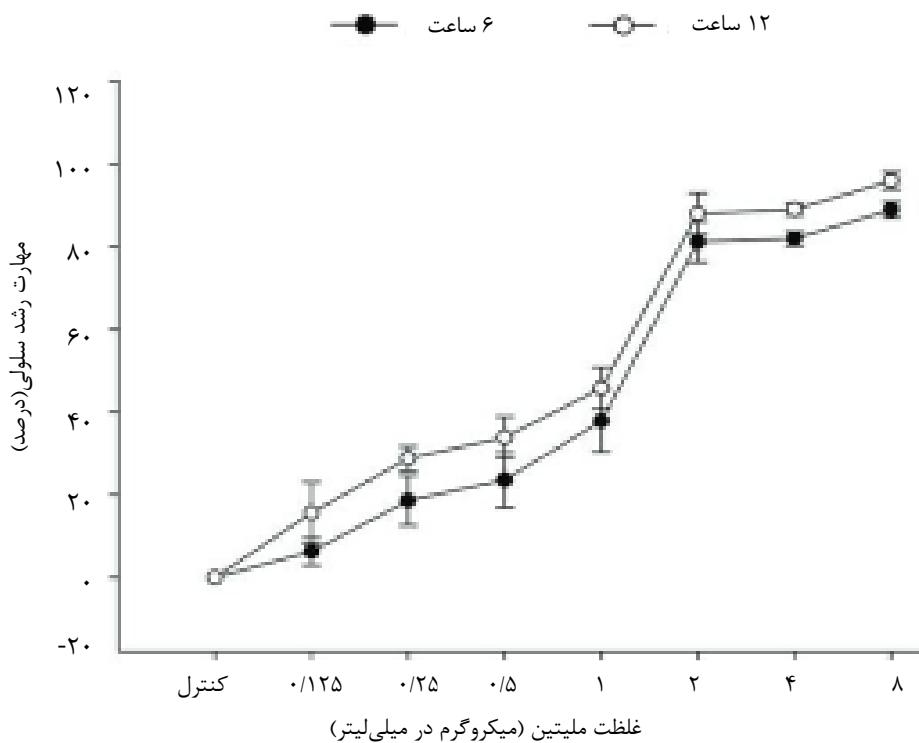


الف

شکل ۱: عکس‌های میکروسکوپی از کشت سلول AGS (الف) قبل از تیمار با ملیتین- (ب) بعد از تیمار با ملیتین در غلظت $۰/۴$

۱۵ دقیقه روی یخ انکوبه و سپس ورتكس شدند. برای جداسازی بقایای سلول‌های تخریب شده، سلول‌های لیز شده در دمای ۴°C درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۶۰۰ g سانتریفیوز گردیدند. محلول رویی به منظور انجام آزمون‌های ایمونوبلاتینگ جدا و در ۸۰°C درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. پس از آن مقدار پروتئین به روش برادفورد تعیین غلظت شد.

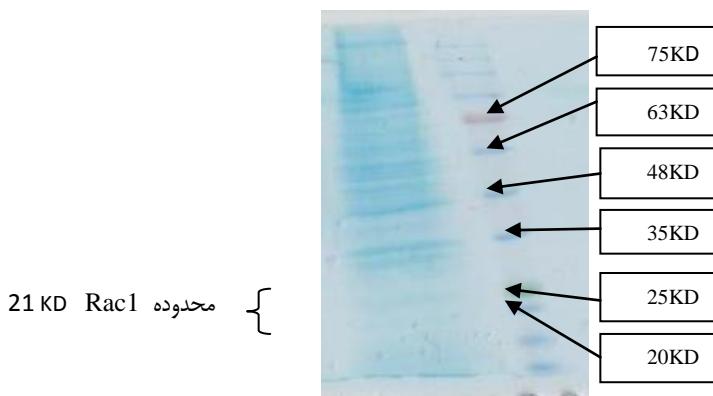
جهت الکتروفورز و ایمونوبلاتینگ، مقدار $۱۰۰\text{ }\mu\text{g}$ از نمونه‌ها روی ژل پلی اکریلامید $۱۰\%\text{ SDS-PAGE}$ (SDS-PAGE) بارگذاری شد و با ولتاژ ثابت ۸۰ V میلی‌ولت عمل جداسازی انجام گردید و سپس به کاغذ نیترو سلولز انتقال داده شدند. بعد از انتقال، غشای نیتروسلولز با محلول $۵\%\text{ }\text{H}_2\text{O}_2$ بدون چربی به مدت ۲ ساعت انکوبه شد. پس از شستشو کامل با بافر شستشو TBS/T (Tris Buffer Salin- $0.1\%\text{ Twin}20$) غشا با آنتی‌بادی‌های اولیه علیه Rac1 (Cell signaling) با غلظت $۱:۱۰۰$ و β -Actin (Santa Cruz Biotechnology) با غلظت $۱:۵۰۰$ رقیق شده در محلول $۵\%\text{ آلبومین سرم گاوی (BSA)}$ به مدت یک شب در دمای ۴°C درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. پس از شستشو، غشا به مدت دو ساعت در دمای محیط با آنتی‌بادی ثانویه کونژوگه شده با HRP: Horseradish Peroxidase با غلظت



نمودار ۱: اثر غلظت‌های مختلف ملیتین بر رشد سلول‌های سرطانی معده AGS

رنگ‌آمیزی شده و سپس با محلول رنگ بر رنگبری انجام شد (شکل ۲).

مقدار ۱۰۰ میکروگرم از نمونه‌های لیز شده با بافر لیز، روی ژل پلی اکریلامید ۱۰٪ بردگ شد برای اطمینان از لیز نمونه‌ها و بررسی باندها بعد از الکتروفورز ژل مورد نظر با کماسی بلو



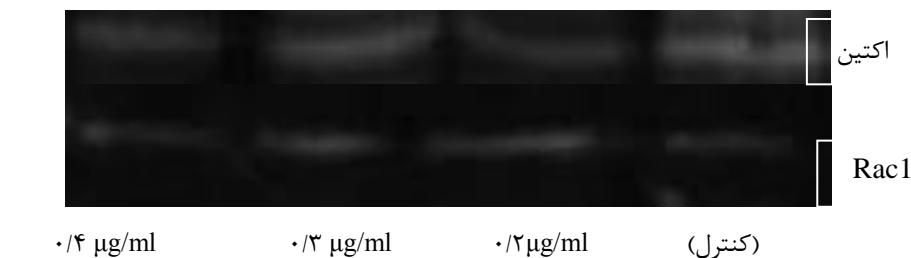
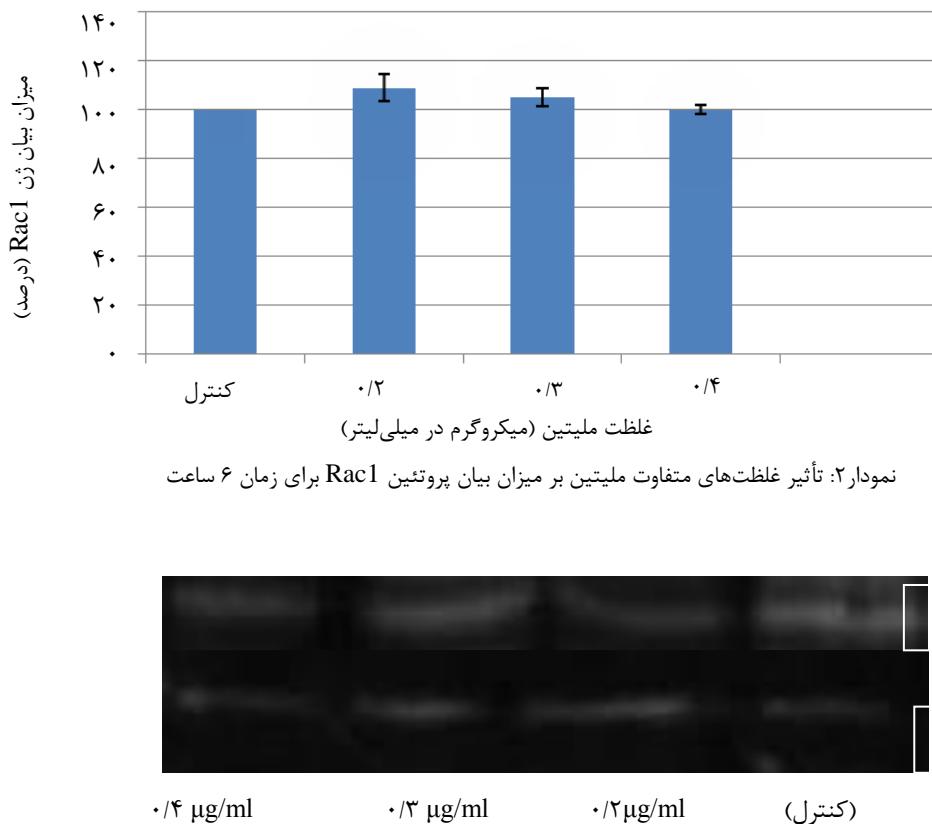
شکل ۲: بررسی الگوی نمونه لیز شده سلول‌های AGS با استفاده از ژل الکتروفورز ۱۰٪ (SDS-PAGE). M (Marker) S (Lysis sample)

تیمار سلول‌ها با غلظت‌های ۰/۳، ۰/۲، ۰/۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر ملیتین و کنترل به مدت ۶ ساعت تأثیری روی میزان

همانطور که در نمودار ۲ آمده است یافته‌های به دست آمده از تأثیر ملیتین روی میزان بیان پروتئین Rac1 نشان داد که

غلظت 4×10^{-4} متابه کنترل بوده که اختلافات معنی‌دار نبودند ($p > 0.05$) (نمودار ۲، شکل ۳).

بیان پروتئین Rac1 ندارد. نتایج حاصل از آزمون آماری One-Way ANOVA نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها وجود ندارد و برای غلظت‌های 0.2×10^{-4} و 0.3×10^{-4} نسبت به کنترل افزایش و



شکل ۳: باندهای حاصل از وسترن بلاستینگ Rac1 در غلظت‌های مختلف ملیتین در مقایسه با کنترل با اکتین

بحث و نتیجه گیری

بیان گیرنده‌های مرگ در این سلول‌ها می‌شود(۱۸). این پیتید با مهار بیان MMP-9 که در متاستاز نقش دارد از مهاجرت سلول سرطانی جلوگیری می‌کند(۱۹). Gayski و همکاران بیان کردند که ملیتین چندین مکانیسم از قبیل تغییرات چرخه سلولی و مهار رشد و تکثیر سلولی و القا آپوپتوز در سلول‌ها را باعث می‌شود(۲۰). همچنین تحقیقات نشان داده‌اند که Rac1 پروتئینی است که در مهاجرت و متاستاز سلول‌های سرطانی نقش دارد(۲۱). متاستاز و مهاجرت سلول در چهار مرحله شامل قطبی شدن و برآمدگی قسمتی از سلول و تماس مجدد این قسمت به سطح جدید و جایه جایی سلول و جمع شدن آن می‌باشد که در این مراحل نیازمند پلیمریزاسیون اکتین و Rac1 می‌باشد(۲۲). WU و همکاران در مطالعه‌ای بیان کردند که

علیرغم پیشرفت‌های موجود در زمینه جراحی و شیمی درمانی، سرطان معده مشکل عمدۀ سلامت جهانی می‌باشد(۱۵). متاستاز سلول‌های سرطانی به عنوان بزرگترین مانع در درمان سرطان مطرح است(۱۶). امروزه ترکیبات طبیعی که خواص ضدسرطانی و آنتی‌متاستازی دارند با این رویکرد که روش‌های درمانی مدرن اثرات جانبی دارند، توجه محققان را به خود جلب نموده است. ملیتین به عنوان یک ترکیب طبیعی مشتق شده از سم زنبور عسل می‌باشد و تحقیقات نشان داده‌اند ملیتین با مهار VEGFR-2 و مسیرهای سیگنالینگ MAPK، فعالیت آنتی‌آثیوزنر و آنتی‌توموری دارد(۱۷). همچنین مطالعات نشان داده‌اند که ملیتین باعث مهار رشد سلول‌های سرطان تخمدان و آپوپتوز از طریق افزایش

نشان دادند که ملیتین به صورت In vitro و In vivo از طریق کاهش بیان Rac1 از متاستاز سلول‌های سرطانی جلوگیری می‌کند(۱۳). نتایج مطالعه حاضر حاکی از آن است که ملیتین تأثیری روی میزان بیان پروتئین Rac1 در سلول‌های AGS ندارد که همسو بودن این دو مطالعه را رد می‌کند.

در این مطالعه رده سلولی AGS از سرطان معده بررسی شد و با توجه به اینکه هر ارگانی از بدن ویژگی‌ها و سیگنال‌های خاص خود را دارد و یک دارو نمی‌تواند بر روی انواع رده‌های سلول‌های سرطانی ارگان‌های مختلف به میزان یکسان اثر داشته باشد، عدم تأثیر ملیتین بر روی پروتئین مورد نظر در یکی از رده‌های سلولی سرطان معده را توجیه می‌کند. اینکه ملیتین از مسیر دیگر در سلول‌های سرطان معده از متاستاز و رشد آنها جلوگیری می‌کند قابل بررسی و تحقیق می‌باشد. مطالعه حاضر ارتباط بین تأثیر ملیتین روی بیان Rac1 در سلول‌های سرطانی AGS را رد می‌کند.

سپاسگزاری

در اینجا لازم می‌دانیم از همکاری کلیه استادی و کارکنان گروه بیوشیمی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوqi یزد کمال تشکر را داشته باشیم.

افزایش بیان Rac1 همراه با افزایش متاستاز در سرطان معده بوده است(۹). Wang و همکاران در مطالعه‌ای گزارش کردند که اهداف داخل سلولی ملیتین گروه‌های مختلفی از قبیل کانال‌های کلسیمی و فسفولیپازها است که یکی از آنها Rac1 می‌باشد(۲۳). با توجه به نقش Rac1 در متاستاز، اهمیت تحقیقات در زمینه مهار این پروتئین و جلوگیری از متاستاز را عنوان می‌کند. Mahmoodzadeh و همکاران در مطالعه‌ای نشان دادند که ملیتین مهارکننده رشد سلول‌های سرطان معده رده سلولی AGS می‌باشد و این اثر مهاری با افزایش غلظت ملیتین و مدت زمان اثر، افزایش می‌یابد(۱۴). همچنین در مطالعه‌ای دیگر بیان شد که ملیتین بر سلول‌های گردن رحم رده سلولی HE LA تأثیر مهاری داشته است(۲۴). بنابراین در این دو مطالعه اثر مهاری ملیتین بر روی این دو رده سلولی بررسی شده است. در مطالعه حاضر سعی شده تا تأثیر ملیتین بر روی یکی از پروتئین‌های اصلی دخیل در متاستاز بررسی گردد که نتایج حاصل از تیمار سلول‌های AGS با ملیتین و آنالیز باندهای حاصل از وسترن بلات نشان داد که پپتید مورد نظر تأثیری بر میزان بیان پروتئین Rac1 ندارد. با توجه به مطالعاتی که در سرطان کبد توسط Liu و همکاران انجام شد،

References:

- 1- Roder DM. *The epidemiology of gastric cancer*. Gastric Cancer 2002; 5 (Suppl 1): 5-11.
- 2- Anderson WF, Camargo MC, Fraumeni Jr JF, Correa P, Rosenberg PS, Rabkin CS. *Age-specific trends in incidence of noncardia gastric cancer in US adults*. JAMA 2010; 303(17): 1723-8.
- 3- Yasui W, Oue N, Aung PP, Matsumura S, Shutoh M, Nakayama H. *Molecular-pathological prognostic factors of gastric cancer: a review*. Gastric Cancer 2005; 8(2): 86-94.
- 4- Kamai T, Shirataki H, Nakanishi K, Furuya N, Kambara T, Abe H, et al. *Increased Rac1 activity and Pak1 overexpression are associated with lymphovascular invasion and lymph node metastasis of upper urinary tract cancer*. BMC Cancer 2010; 10(1): 164.
- 5- Baugher PJ, Krishnamoorthy L, Price JE, Dharmawardhane SF. *Rac1 and Rac3 isoform activation is involved in the invasive and metastatic phenotype of human breast cancer cells*. Breast Cancer Res 2005; 7(6): R965-74.

- 6- Ridley AJ, Schwartz MA, Burridge K, Firtel RA, Ginsberg MH, Borisy G, et al. *Cell migration: integrating signals from front to back*. Science 2003; 302(5651): 1704-9.
- 7- Schnelzer A, Prechtel D, Knaus U, Dehne K, Gerhard M, Graeff H, et al. *Rac1 in human breast cancer: overexpression, mutation analysis, and characterization of a new isoform, Rac1b*. Oncogene 2000; 19(26): 3013-20.
- 8- Yang N, Higuchi O, Ohashi K, Nagata K, Wada A, Kangawa K, et al. *Cofilin phosphorylation by LIM-kinase 1 and its role in Rac-mediated actin reorganization*. Nature 1998; 393(6687): 809-12.
- 9- WU K, JIANG L. *Expression and significance of Rac1 and Pak1 in gastric cancer*. Intl J Pathol Clin Med 2010; 6: 004.
- 10- Terra R, Guimarães JA, Verli H. *Structural and functional behavior of biologically active monomeric melittin*. J Mol Graph Model 2007; 25(6): 767-72.
- 11- Sharma S. *Melittin resistance: a counterselection for ras transformation*. Oncogene 1992; 7(2): 193-201.
- 12- Son DJ, Lee JW, Lee YH, Song HS, Lee CK, Hong JT. *Therapeutic application of anti-arthritis, pain-releasing, and anti-cancer effects of bee venom and its constituent compounds*. Pharmacol Ther 2007; 115(2): 246-70.
- 13- Liu S, Yu M, He Y, Xiao L, Wang F, Song C, et al. *Melittin prevents liver cancer cell metastasis through inhibition of the Rac1-dependent pathway*. Hepatology 2008; 47(6): 1964-73.
- 14- Mahmoodzadeh A, Morady A, Zarrinnahad H, Pooshang Bagheri K, Ghasemi-Dehkordi P, Mohdavi M, et al. *Isolation of melittin from bee venom and evaluation of its effect on proliferation of gastric cancer cells*. Tehran Univ Med J 2012; 70(12): 760-7. [Persian]
- 15- Correa P, Piazuelo MB, Camargo MC. *The future of gastric cancer prevention*. Gastric Cancer 2004; 7(1): 9-16.
- 16- Chambers AF, Matrisian LM. *Changing views of the role of matrix metalloproteinases in metastasis*. J National Cancer Inst 1997; 89(17): 1260-70.
- 17- Huh JE, Kang JW, Nam D, Baek YH, Choi DY, Park DS, et al. *Melittin suppresses VEGF-A-induced tumor growth by blocking VEGFR-2 and the COX-2-Mediated MAPK Signaling pathway*. J Nat Prod 2012; 75(11): 1922-9.
- 18- Jo M, Park MH, Kollipara PS, An BJ, Song HS, Han SB, et al. *Anti-cancer effect of bee venom toxin and melittin in ovarian cancer cells through induction of death receptors and inhibition of JAK2/STAT3 pathway*. Toxicol Appl Pharmacol 2012; 258(1): 72-81.
- 19- Park JH, Jeong YJ, Park KK, Cho HJ, Chung IK, Min KS, et al. *Melittin suppresses PMA-induced tumor cell invasion by inhibiting NF-κB and AP-1-dependent MMP-9 expression*. Mol Cells 2010; 29(2): 209-15.
- 20- Gajski G, Garaj-Vrhovac V. *Melittin: a lytic peptide with anticancer properties*. Environ Toxicol Pharmacol

- 2013; 36(2): 697-705.
- 21- Schmitz AA, Govek EE, Böttner B, Van Aelst L. *Rho GTPases: signaling, migration, and invasion.* Exp Cell Res 2000; 261(1): 1-12.
- 22- Yamazaki D, Kurisu S, Takenawa T. *Regulation of cancer cell motility through actin reorganization.* Cancer Sci 2005; 96(7): 379-86.
- 23- Wang C, Chen T, Zhang N, Yang M, Li B, Lü X, et al. *Melittin, a major component of bee venom, sensitizes human hepatocellular carcinoma cells to tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL)-induced apoptosis by activating CaMKII-TAK1-JNK/p38 and inhibiting I κ B α kinase-NF κ B.* J Biol Chem 2009; 284(6): 3804-13.
- 24- Zarinnahad H, Mahmoodzadeh A, Pooshang Bagheri K, Mahdavi M, Shahbazzadeh D, Moradi A. *Isolation of melittin from iranian honey bee venom and investigation of its effect on proliferation of cervical cancer- hela cell line.* J Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2013; 21(2): 226-38. [Persian]

The Effect of Melittin on Rac1 Protein Expression as a Metastatic Factor in AGS Gastric Cancer Cell Lines

Hemati M(Msc)¹, Eivazi N(MSc)², Chakerzehi A(MSc)³, Moradi A(PhD)^{*4}, Mohiti Ardakani J(PhD)⁵, Mahmoodzade A(MSc)⁶

¹⁻⁶Department of Biochemistry & Molecular Biology, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

Received: 28 Dec 2013

Accepted: 17 Apr 2014

Abstract

Introduction: Understanding the molecular mechanisms of metastasis is important for the design and effective use of novel therapeutic strategies in order to combat metastases. One class of molecules that has been implicated in metastasis is Rac1. Regarding complications of conventional therapies such as chemotherapy, current studies are evaluating natural compounds with anticancer Properties. Melittin is a natural compound derived from honey bee venom which has revealed amphipatic properties. Some studies have shown that melittin has an important role in reducing cancer cells metastasis by affecting Rac1 expression. Since the studies on melittin role in regard to Rac1 in gastric cancer cells are rare, the present study examined the effect of melittin on Rac1 protein expression in AGS gastric cancer cells.

Methods: AGS cells, after growth and reaching to 80% density, were exposed to 0.2, 0.3, 0.4 µg/ml concentrations of melittin (test groups) for six hours. Then cells were collected, lysed with lysis buffer and Rac1 protein was identified by Western blotting technique. Data were normalized with the β-Actin internal control and calculated as the relative percentage. The study data were analyzed using SPSS statistical software via One-Way Anova test.

Results: Comparison of Rac1 expression levels in AGS cancer cells showed that cells which were exposed to 6 hours of 0.2µg/ml (109±5.5), 0.3(105±3.6) melittin had higher Rac1 expression percentages compared to the control (100) and 0.4 (100±2). Rac1 expression percentages were not significant with a confidence interval (CI) of 95% (P>0.05).

Conclusion: In this study the results demonstrated that melittin does not have any effect on Rac1 in gastric cancer cells (AGS).

Keywords: Gastric Cancer; Melittin; Metastasis; Rac1

This paper should be cited as:

Hemati M, Eivazi N, Chakerzehi A, Moradi A, Mohiti Ardakani J, Mahmoodzade A. ***The effect of melittin on rac1 protein expression as a metastatic factor in AGS gastric cancer cell lines.*** J Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2014; 22(2): 1001-9.

*Corresponding author: Tel: +98 9126706056, Email: morady2008@gmail.com