AUMJ Journal Alborz University of Medical Sciences
نشریه دانشگاه علوم پزشکی البرز، زمستان ۱۴۰۲، سال ۱۳، شماره ۱، صفحه‌های ۴۳-۳۴
مقاله تحقیقی

مطالعه تغییر سطح رونویسی ژن بتا-کاتنین در رده سلول سرطانی پانکراس PANC-1 تحت تیمار عصاره میخک

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۰۲/۲۴ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۸/۰۷

فائزه قربان فلاح[۱]
هادی حبیب الهی[۱*]
مهرناز احمد شعربافی[۱]

۱- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران.

*نویسنده‌مسئول:
گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران.
تلفن: +۹۸۹۲۱۷۳۹۰۳۵۳
ایمیل: hhabibollahi@yahoo.com

چکیده

توسعه سرطان پانکراس یک فرآیند بیولوژیکی پیچیده است که در آن ژن‌های مختلفی درگیر هستند. مسیر پیام رسانی *Wnt /β-catenin* نقش مهمی در ایجاد سرطان پانکراس دارد. در این پژوهش تأثیر عصاره حاوی پلی‌فنل میخک بر رده سلولی سرطانی پانکراس PANC-1 و بررسی تغییرات بیان ژنی *β-catenin* مورد ارزیابی قرار گرفت. رده سلولی سرطانی پانکراس PANC-1 از مرکز رویان اصفهان خریداری شد. پس از پاساژهای متوالی به منظور انجامMTT Assay، سلول‌ها در پلیت کشت ۹۶ خانه کشت داده شد و تیمار ۲۴ ساعتی با غلظت‌های مختلف عصاره گیاه میخک انجام گردید و میزان جذب نمونه‌ها در طول‌موج ۵۷۰ nm مشخص شد. با تفسیر نتایج حاصل از آزمون MTT، میزان IC_{50} عصاره میخک تعیین گردید. بر اساس IC_{50}، کشت سلول‌های PANC1 تحت تیمار با عصاره و بدون تیمار (کنترل) انجام شد و سپس با استفاده از کیت، استخراج RNA و سنتز cDNA از سلول‌ها صورت گرفت. با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن *β-catenin* و نیز ژن مرجع *actin*، ریل تایم PCR انجام و سپس با روش $2^{-\Delta\Delta CT}$ تفسیر گردید. ترکیبات موجود در عصاره میخک نیز با روش GC mass تعیین شد. نتایج حاصل از MTT Assay نشان داد که IC_{50} عصاره میخک در رده سلولی PANC1 در محدوده ۱۰ µg/ml است و با افزایش غلظت عصاره میخک، بقای سلولی سیر کاملا نزولی دارد. بررسی میزان تغییر رونویسی ژن *β-catenin* تحت تیمار غلظت IC_{50} عصاره میخک نیز نشان داد که این عصاره قادر است در سطح معنی‌دار $p<0/05$ باعث کاهش ۱/۲۹ برابری بیان این ژن در سطح رونویسی شود که با توجه به افزایش غیر متعارف *β-catenin* در انواع سرطان، کاهش بیان این ژن تحت تیمار عصاره میخک می‌تواند مطلوب باشد.

کلمات کلیدی: سرطان پانکراس، رده سلولی PANC-1، ژن بتا- کاتنین، عصاره میخک

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-09-05]

[DOI: 10.61186/aums.13.1.34]

مقدمه

جهش‌های خودبه‌خودی در سلول‌های سوماتیک در سراسر سلول‌های فرد در طول عمر جمع می‌شوند که اکثر این جهش‌ها اثر قابل توجهی ندارند، اما برخی می‌توانند عملکردهای کلیدی سلولی را تغییر دهند. جهش‌های سوماتیکی اولیه می‌تواند باعث اختلالات رشدی شود، در حالی که تجمع تدریجی جهش‌ها در طول زندگی می‌تواند منجر به سرطان شود[۱]. سرطان بیماری پیچیده‌ای است که به صورت موضعی رشد می‌کند و همچنین دارای ظرفیت متاستاز به اندام‌های مختلف بدن است. همچنین یک بیماری عمده می‌باشد و پیش‌بینی می‌شود که تعداد موارد سرطان در سراسر جهان در سال‌های آینده بیش از دو برابر شود و از بیماری قلبی به عنوان عامل اصلی مرگ پیشی بگیرد. علاوه بر همه این‌ها، مدیریت سرطان یک نگرانی رو به افزایش در جمعیت سالخورده است و در کشورهای در حال توسعه اهمیت فزآیندهای دارد[۲]. امروزه سرطان یکی از مهم‌ترین مشکلات سلامتی و عامل اصلی مرگ و میر در سراسر جهان است و بیش از ۸/۲ میلیون مرگ را در سال‌های اخیر به خود اختصاص داده است. پلی‌ساکاریدهای زیادی از قارچ‌ها، مخمرها، جلبک‌ها، گلسنگ‌ها و گیاهان جدا شده‌اند که خواص ضدسرطانی بالقوه دارند. فعالیتهای بیولوژیکی این پلی‌ساکاریدها توجه را در زمینه‌های بیوتکنولوژی و پزشکی به خود جلب کرده است[۳و۴]. سرطان پانکراس در رتبه دوازدهم شایعترین سرطان در جهان قرار دارد، اما به دلیل پیش‌آگهی ضعیف، هفتمین علت شایع مرگ ناشی از سرطان می‌باشد[۵]. در حال حاضر سرطان پانکراس یکی از بیماری‌های گوارشی کشنده می‌باشد که بیشتر افراد مسن را درگیر می‌کند. بیش از ۶۰ درصد موارد جدید سرطان و بیش از ۷۰ درصد مرگ و میر ناشی از سرطان در افراد مسن رخ می‌دهد. در ایالات متحده، تنها ۱۳ درصد از تمام بیماران مبتلا به سرطان پانکراس، قبل از ۶۰ سالگی تشخیص داده می‌شوند. رشد سرطان پانکراس یک فرآیند بیولوژیکی پیچیده است که بر اساس انواع مختلف ژن‌ها است[۶و۷].

Wnt ها گلیکوپروتئین‌های ترشح شده‌ای هستند که به عنوان لیگاند برای تحریک مسیرهای انتقال سیگنال با واسطه گیرنده در مهره‌داران و بی‌مهرگان عمل می‌کنند[۹]. فعال‌سازی مسیرهای *Wnt* می‌تواند تکثیر سلولی، بقا، رفتار سلولی و سرنوشت سلولی را تعدیل کند که اغلب به صورت ترکیبی با مسیرهای دیگر کار می‌کنند، از جمله مسیرهای فاکتور رشد فیبروبلاست (FGF) و مسیرهای فاکتور رشد (TGF-β) β. انواع مختلف سرطان با بی‌نظمی در مسیر سیگنال‌دهی *Wnt/ β-catenin* گزارش شده و تغییر در سیگنال‌دهی *Wnt/ β-catenin* با پیشرفت سرطان روده بزرگ و سرطان پانکراس مرتبط است[۸]. بیماران مبتلا به آدنوکارسینوم پانکراس اغلب چندین جهش لیگاندهای *Wnt* دارند که توسعه و پیشرفت زیر مجموعه‌های سرطان پانکراس به تناوب بستگی به مسیر *Wnt/β-catenin* دارد. β-catenin یکی از مهم‌ترین ژن‌های درگیر در افزایش خطر ابتلا به سندرم‌های ارثی سرطان پانکراس است زیرا تقریباً ۵ تا ۱۰ درصد سرطان پانکراس ارثی هستند[۱۰].

تومورهای غدد برون‌ریز پانکراس که به عنوان آدنوکارسینوم مجرای پانکراس نامیده می‌شود، حدود ۹۵ درصد موارد را تشکیل می‌دهد. تومورهای غدد درون‌ریز پانکراس که به ندرت رخ می‌دهد در قسمت‌های غدد درون‌ریز است و به نام تومورهای عصبی غدد پانکراس نامیده می‌شود و کمتر از ۵ درصد از همه موارد را شامل می‌شود[۱۱،۱۲]. عوامل ژنتیکی در هر دو زیرگروه از سرطان پانکراس (تومورهای غدد برون‌ریز پانکراس و تومورهای غدد درون‌ریز پانکراس) تأثیر گذار است. جهش در ژن‌های CDKN2A و SMAD4، TP53، KRAS جزء این عوامل می‌باشد که به عنوان محرک‌های سرطان پانکراس نام برده می‌شوند[۱۳،۱۴]. اکثر بیماران مبتلا به سرطان پانکراس تا اواخر دوره بیماری فاقد علائم خاص بیماری هستند که منجر به تظاهر دیرهنگام و نرخ بقای ناگوار ۵ ساله می‌شود[۱۵]. بسیاری از علائم و نشانه‌ها که توسط تعداد زیادی از بیماران مبتلا به سرطان پانکراس گزارش شده شامل کاهش اشتها، مدفوع رنگ پریده، درد شکم، زردی، نفخ غیر معمول، کاهش وزن، ادرار تیره، یبوست، خارش، خستگی و سوزش غیر معمول می‌باشد[۱۶].

تصویربرداری با توموگرافی کامپیوتری، تصویربرداری رزونانس مغناطیسی، سونوگرافی آندوسکوپی، توموگرافی انتشار پوزیترون و اکتساب بافت با آسپیراسیون با سوزن ظریف از جمله روش‌های تشخیص سرطان پانکراس است[۱۷]. روش‌های درمانی موجود برای سرطان پانکراس شامل شیمی‌درمانی، جراحی یا رادیوتراپی است. با این حال، شیمی‌درمانی سرطان پانکراس معمولاً منجر به عوارض جانبی جدی در درمان بیماران می‌شود[۱۸].

Syzygium aromaticum که به عنوان میخک شناخته می‌شود، یک گیاه استوایی همیشه سبز است و یکی از محبوب‌ترین گیاهان معطر است که برای پخت و پز به عنوان ادویه یا چاشنی در بسیاری از فرمولاسیون‌های

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-09-05]

[DOI: 10.61186/aums.13.1.34]

صنایع غذایی استفاده می‌شود و خواص درمانی در سراسر جهان دارد. عصاره هیدروالکلی این گیاهان که به عنوان تنتور نیز نامیده می‌شود، یک شکل دارویی محبوب از گیاهان دارویی است[۱۹،۲۰،۲۱]. میخک در سیستم داروهای سنتی به دلیل اهمیت در دندانپزشکی، خاصیت ادرارآوری، معطر بودن و فعالیت ضدنفخ، آسم و نیز تأثیر در اختلالات مختلف آلرژیک معروف است. علاوه بر این، فعالیت‌های ضدالتهابی، ضدویروسی، ضدمیکروبی، ضدباکتریایی، ضدقارچی و ضدتوموری از میخک گزارش شده است و اثبات شده که این گیاه دارای خواص آنتی‌اکسیدانی، ضداسپاسم، ضدعفونی‌کنندگی، ضدحساسیت و ضدجهش‌زایی و ضدسرطان است[۱۸،۱۹،۲۲].

مواد و روش‌ها

رده سلولی، پاساژ و انجماد سلول‌ها

در این تحقیق رده سلولی PANC1 از مرکز رویان اصفهان خریداری شد و تعویض محیط فلاسک صورت گرفت و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور co_2 قرار گرفت. سلول‌ها جهت بررسی کیفیت و سلامت زیر میکروسکوپ مشاهده شده و تعویض محیط صورت گرفت. پس از پر شدن ۷۰ تا ۸۰ درصدی فلاسک از سلول، پاساژ سلولی انجام شد. برای این منظور تمامی محیط رویی درون فلاسک خارج شد و با PBS شستشو داده و سپس Trypsin_EDTA 0.05 به فلاسک اضافه و به مدت ۷ دقیقه در انکوباتور قرار داده شد. جهت خنثی کردن اثر Trypsin، محلول کمپلکس(شامل DMEM, FBS, Pen strep, Glutamax, NEAA) افزوده و سپس سانتریفیوژ به مدت ۷ دقیقه با سرعت ۲۰۰۰ rpm انجام گردید. رسوب سلولی حاصل از سانتریفیوژ با محلول کمپلکس به خوبی مخلوط و به فلاسک‌ها اضافه و به مدت ۷۲ ساعت انکوبه شد. به منظور منجمد نمودن سلول‌ها و ذخیره سازی آن‌ها، رسوب سلولی حاصل از سانتریفیوژ با FBS و DMSO مخلوط و به کرایوویال منتقل شد.

عصاره گیری گیاه میخک

۲۵ گرم پودر گیاه میخک در ۵۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر در دمای ۹۰ درجه‌سانتی‌گراد مخلوط شد تا حجم نهایی پس از چند ساعت به ۲۰۰ میلی‌لیتر برسد. پس از سرد شدن، با گاز استریل صاف گردید. سپس عصاره حاصله دوباره بر روی هیتراستیرر قرار گرفت تا تبخیر شدن کامل حلال در فضای آزمایشگاه صورت گیرد. با استفاده از دستگاه فریز درایر، عصاره خمیری بدست آمده به پودر تبدیل شد. ترکیبات موجود در عصاره میخک با روش GC mass تعیین گردید. به منظور به کارگیری غلظت‌های مختلف عصاره میخک در آزمون MTT، ۰/۱ گرم عصاره پودری گیاه با ۹ ml محیط کشت DMEM و ۱ ml از PBS در فالکون ۱۵ ریخته به خوبی ورتکس شد.

MTT Assay

به منظور انجام تکنیک MTT Assay از پلیت کشت سلول ۹۶ خانه استفاده شد در هر چاهک محلول کمپلکس حاوی ۳۰۰۰ سلول ریخته شد(شمارش تعداد سلول‌ها توسط لام نئوبار صورت گرفت). در یک ستون از چاهک‌های پلیت فقط محلول کمپلکس بدون سلول به عنوان بلانک ریخته شد. پس از گذشت ۲۴ ساعت و اتصال سلول‌ها به پلیت، عصاره گیاه میخک با غلظت‌های مختلف (۱۰μg/ml، ۲۵ μg/ml ، ۵۰ μg/ml، ۱۰۰ μg/ml، ۲۵۰ μg/ml، ۵۰۰ μg/ml، ۷۵۰ μg/ml و ۱۰۰۰ μg/ml) به سلول‌ها اضافه و به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد. یک ستون نیز محیط حاوی سلول بدون تیمار (کنترل منفی)، در نظر گرفته شد. این آزمون با ۶ تکرار صورت گرفت. پس از تخلیه محلول داخل چاهک‌ها، مقدار۲۵ μl از محلول MTT به تمام چاهک‌ها (به جز خانه‌های بلانک) اضافه شد. پلیت با فویل پوشیده و به مدت ۴ ساعت انکوبه گردید. سپس تمامی محلول MTT با استفاده از سمپلر خارج شد و ۱۰۰ μl ایزوپروپانول به چاهک‌های پلیت (به جز خانه‌های بلانک) اضافه گردید. پس از تکان ۱۵ دقیقه‌ای، جذب نوری چاهک‌های پلیت با استفاده از دستگاه الایزا ریدر با طول موج ۵۷۰ nm تعیین شد.

استخراج RNA

کمپلکس حاوی سلول به پلیت کشت سلول ۳/۵ cm ریخته شد و به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد. سپس براساس IC_{50} بدست آمده غلظت مورد نظر از عصاره میخک به سلول‌ها اضافه و به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد و استخراج RNA با استفاده از کیت استخراج RNA سینا کلون طبق پروتکل صورت گرفت.

سنتز cDNA

سنتز cDNA با استفاده از کیت سینا کلون بر طبق پروتکل آن صورت گرفت.

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-09-05]

[DOI: 10.61186/aums.13.1.34]

توالی پرایمرهای مورد استفاده در Real time PCR

پرایمرهای مورد استفاده در این پژوهش مطابق جدول ۱ توسط شرکت سینا کلون سنتز گردید. در این آزمایش از ژن Actin به عنوان ژن مرجع استفاده شد.

جدول ۱: پرایمرهای مورد استفاده در پژوهش

منبع	ژن	پرایمر	توالی
(۲۳)	Actin	Reverse primer	3'-GGGCACGAAGGCTCATCATT-5'
		Forward primer	3'-AGCGAGCATCCCCCAAAGTT-5'
(۲۳)	β–catenin	Reverse primer	3'-ATGGTGCGTACAATGGCAGA-5'
		Forward primer	3'-ACTTGCCACACGTGCAATTC-5'

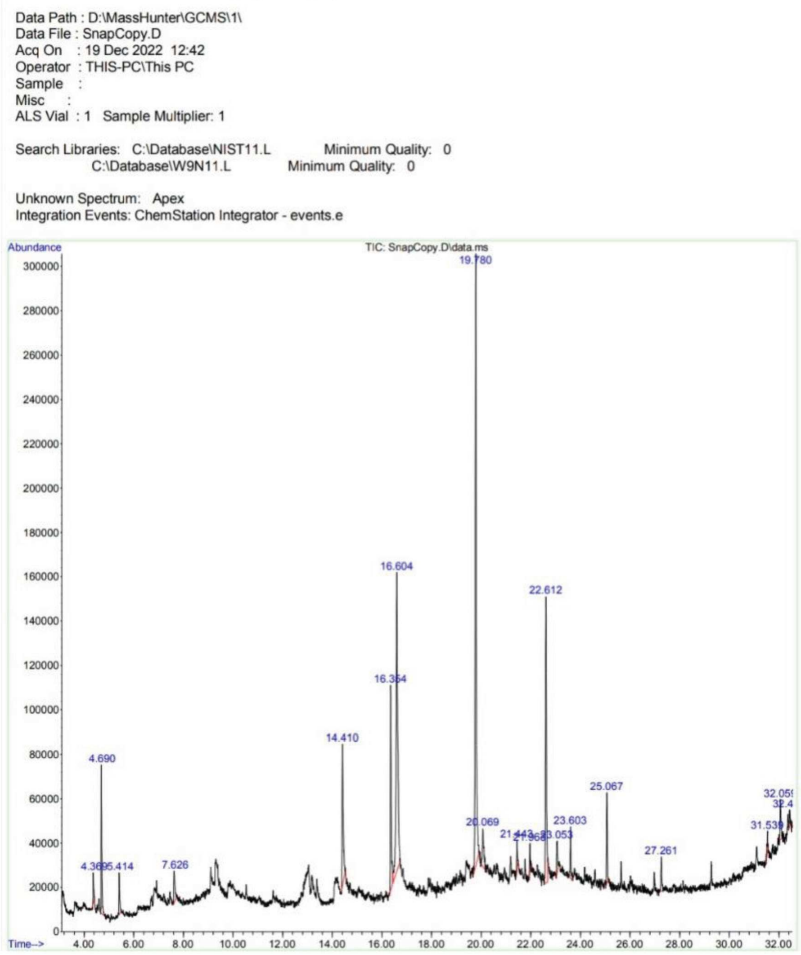
Real time PCR

Real time PCR توسط کیت شرکت سینا کلون بر طبق پروتکل صورت گرفت.

آنالیز نتایج حاصل از ریل تایم PCR به روش $2^{-\Delta\Delta Ct}$انجام شد و میزان Fold Change محاسبه گردید.

یافته‌ها

نمودار GC–MS:



[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-09-05]

[DOI: 10.61186/aums.13.1.34]

ترکیبات میخک

جدول ۲: ترکیبات عصاره میخک بر اساس GC-mass

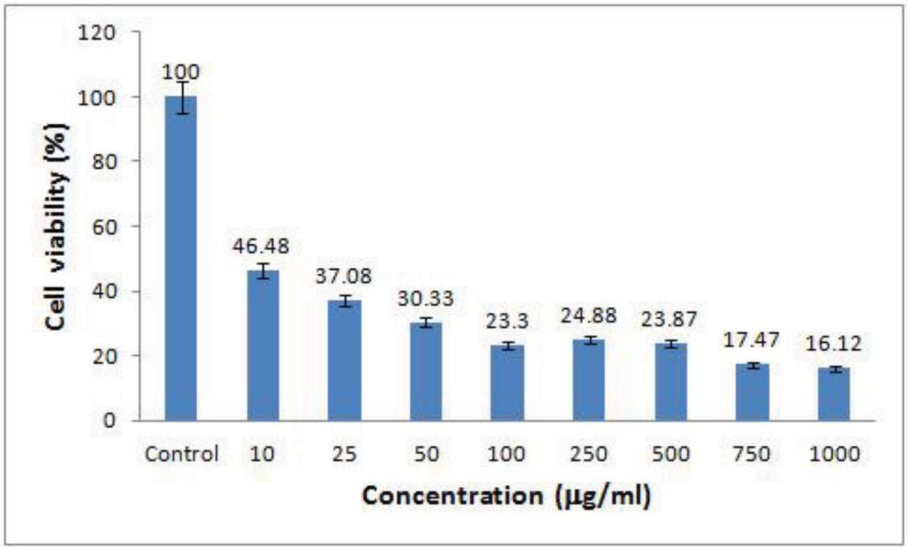
Peak number	Compound's name	Retention time	Peak area %	Molecular formula
1	2-Imidazolidinethione	4.369	0.71	C3H6N2S
2	Silane, trimethyl(2-methylpropoxy)-	4.689	4.67	C7H18OSi
3	2,2-Dimethyl-3-pentanol	5.416	1.23	C7H16O
4	1,2-Cyclopentanedione	7.624	1.70	C5H6O2
5	2,3-DIHYDRO-BENZOFURAN	14.411	6.85	C9H10O
6	2-Methoxy-4-vinylphenol	16.356	7.96	C9H10O2
7	Cyclohexasiloxane, dodecamethyl-	16.602	21.44	C12H36O6Si6
8	Cycloheptasiloxane, tetradecamet-	19.778	28.24	C14H42O7Si7
9	Hexadecamethylcyclooctasiloxane	20.070	2.52	C16H48O8Si8
10	2-Methyl-7-phenylindole	21.443	0.89	C15H13N
11	1H-Benzimidazole	21.964	0.77	C7H6N2
12	Cyclooctasiloxane, hexadecamethyl-	22.610	12.56	C16H48O8Si8
13	2H-1,2,3-Triazole	23.051	1.45	C2H3N3
14	Indole-2-one, 2,3-dihydro-	23.606	1.87	C8H7NO
15	Cyclononasiloxane, octadecamethyl-	25.065	3.25	C18H54O9Si9
16	Hexadecamethyl-cyclooctasioxane	27.262	1.40	C16H48O8Si8
17	1H-Indole, 2-phenyl-	31.536	0.44	C14H11N
18	Arsenous acid, tris(trimethylsilyl) ester	32.057	1.52	C9H27AsO3Si3
19	2,4,6-Cycloheptatrien-1-one, 3,5...	32.423	0.53	C7H6O

بیشترین درصد ترکیبات عصاره میخک به ترتیب شامل Cycloheptasiloxane tetradecamet (با سطح پیک ۲۸/۲٤٪)، Cyclohexasiloxane dodecamethyl (با سطح پیک ۲۱/٤٤٪) و Cyclooctasiloxane hexadecamethyl (با سطح پیک ۱۲/٥٦٪) تعیین گردید.

نتایج حاصل از MTT Assay

بر اساس نتایج حاصل از ٦ تکرار در هر غلظت به کار گرفته شده از عصاره میخک مشخص شد که این عصاره در غلظت نزدیک به ۱۰ µg/ml قادر است حدود نیمی از سلول‌ها را از بین ببرد. بر این اساس، درصد بقای سلولی (Cell viability) یا به عبارت دیگر IC_{50} این آزمون،۱۰ µg/mlتعیین شد (نمودار ۱).

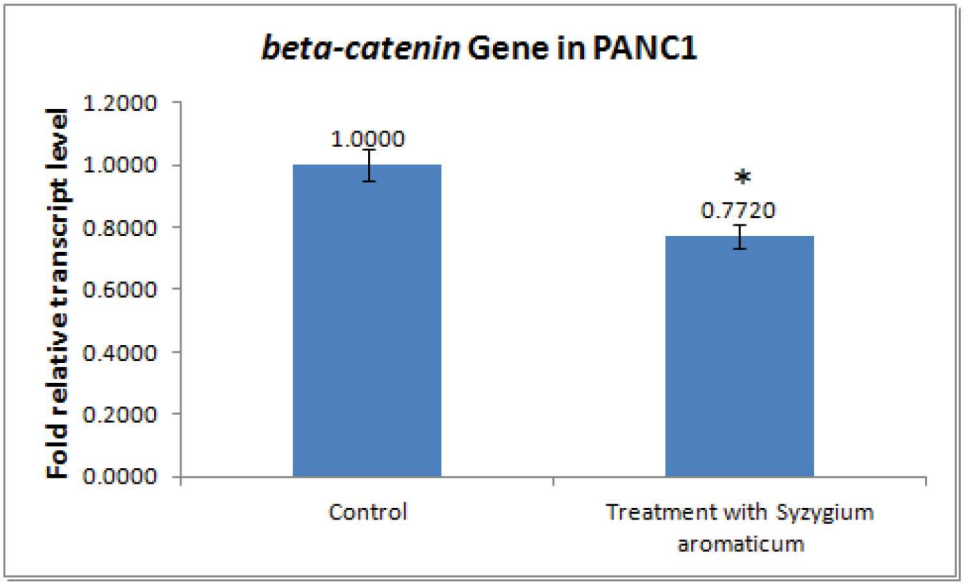
[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-09-05]
[DOI: 10.61186/aums.13.1.34]



نمودار ۱: آزمون MTT – تأثیر کشندگی سلولی غلظت‌های مختلف عصاره میخک بر رده سلولی PANC1

نتایج حاصل از Real time PCR

با به کارگیری غلظت IC50 عصاره میخک، بررسی بیان ژن *β–catenin* در نمونه‌های تیمار شده با عصاره میخک نسبت به نمونه‌های کنترل (بدون تیمار) که با قیاس با ژن مرجع *Actin* صورت گرفت نشان داد که عصاره میخک در سطح معناداری p<۰/۰۵ باعث کاهش ۱/۲۹ برابری رونویسی ژن *β–catenin* شده است (نمودار ۲).



نمودار ۲: تأثیر عصاره میخک بر کاهش ۱/۲۹ برابری ژن بتا– کاتنین در رده سلول سرطانی (* PANC1 بیان‌گر معنادار بودن نسبت به نمونه کنترل با p<۰/۰۵ می‌باشد)

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-09-05]

[DOI: 10.61186/aums.13.1.34]

بحث و نتیجه‌گیری

از دیرباز محصولات طبیعی و گیاهی به عنوان منابع درمانی دقیق مورد استفاده در طب سنتی برای درمان انواع بیماری‌ها از جمله عفونت‌ها و بیماری‌های بدخیم بوده است. فعالیت‌های ضد التهابی، ضد ویروسی، ضد باکتریایی، ضدقارچی و ضدتوموری میخک اثبات شده است [۲۴]. طبق مطالعاتی در سال ۲۰۲۰، تاثیر روغن میخک بر روی سلول‌های سرطانی بررسی گردید و مشخص شد که روغن میخک دارای مکانیسم ضد سرطانی می‌باشد [۲۵]. اثر پلی‌فنل جوانه میخک در بیماری‌های دیابت و سرطان نیز مورد بررسی قرار گرفته و نتایج آن نشان داده است که عصاره‌های غنی از پلی‌فنل جوانه میخک باعث مهار فعالیت آلفا آمیلاز و آلفا گلوکوزیداز می‌شود. بنابراین پلی‌فنل جوانه میخک در پیشگیری از بیماری‌های مرتبط با استرس اکسیداتیو مانند دیابت، سرطان و اختلالات قلبی موثر است[۲۶]. در سال ۲۰۱٤ اثر عصاره میخک بر روی رده‌های سلولی آناتومیکی مختلف در شرایط آزمایشگاهی بررسی گردیده و نتایج آن نشان داده که عصاره میخک خواص ضدتکثیر و آپوپتوز در موش‌های مبتلا به سرطان ریه دارد [۲۷].

در این پژوهش، تاثیر عصاره گیاه میخک بر روی رده سلولی سرطانی پانکراس PANC1 و بررسی تغییرات بیان ژن بتا- کاتنین که یکی از ژن‌های مهم در مسیر پیام رسانی wnt/ β–catenin است مورد ارزیابی قرار گرفت. براساس نتایج حاصل از MTT assay مشخص شد که عصاره میخک اثرات سیتوتوکسیک قابل توجهی بر روی این رده سلول سرطانی دارد و تنها غلظت ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از عصاره میخک قادر است حدود ۵۰ درصد از سلول‌های PANC1 را از بین ببرد. با توجه به غنای بسیار بالای ترکیبات پلی‌فنلی در گیاه میخک و اثرات ضد سرطانی اثبات شده ترکیبات فنلی، این احتمال وجود دارد که اثر سیتوتوکسیکی این گیاه مربوط به ترکیبات فنلی آن باشد. در این تحقیق، بر اساس IC۵۰ به دست آمده از آزمون MTT یعنی غلظت µg/ml ۱۰ از عصاره که در اثر تیمار با آن حدود ۵۰ درصد از سلول‌های PANC1 بقا داشتند، بررسی تغییرات بیان ژن بتا- کاتنین در سطح رونویسی مورد ارزیابی قرار گرفت. براساس نتایج حاصل از آنالیز داده‌های ریل تایم PCR مشخص شد که عصاره میخک می‌تواند باعث ۲۹/۱ برابری رونویسی ژن *β–catenin* گردد. بتا-کاتنین یکی از اجزای کلیدی و مهم در مسیر سیگنالینگ Wnt است و اثبات شده که نقش مهمی در تشکیل برخی سرطان‌ها دارد. تجمع غیر طبیعی بتا-کاتنین در اغلب سرطان‌ها گزارش شده است. پروتئین بتا-کاتنین پس از تجمع در سیتوسل، به هسته جابه جا شده و در آن‌جا با گروهی از فاکتورهای رونویسی تشکیل کمپلکس داده و بدین ترتیب برخی از ژن‌های مهم را فعال می‌کند. عملکرد بیش از حد بتا-کاتنین در بسیاری از تومورهای بدخیم به اثبات رسیده است و افزایش عملکرد بتا-کاتنین باعث ترویج غیر متعارف تکثیر سلولی، مهاجرت و تهاجم سلولی می‌گردد (Yang et al, 2017). با توجه به تحقیقات و گزارش‌های مختلف، کنترل و تعدیل بیان بتا-کاتنین می‌تواند نقش مهمی در کاهش ابتلا به سرطان و یا تسریع در بهبود سرطان داشته باشد. در پژوهش حاضر، تأثیر عصاره گیاه میخک بر کاهش ۱/۲۹ برابری رونویسی از ژن بتا-کاتنین به اثبات رسید. البته این میزان تأثیر بر اساس غلظت ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر میخک می‌باشد و احتمالا غلظت‌های بالاتر از این عصاره، اثر کاهشی بیشتری نشان دهد.

بررسی ترکیبات موجود در عصاره میخک با روش GC mass نشان داد که سه ترکیب از گروه سیکلوکسان‌ها بیشترین غلظت را در این عصاره به خود اختصاص می‌دهند. عمدتاً سیکلوکسان‌ها، هیدروکربن‌های آلیفاتیک (آلکان ها) هستند که دارای سمیت سلولی می‌باشند[۲۸]. طبق تحقیقات صورت گرفته ترکیبات اصلی عصاره ساقه کولا نیتیدا و همچنین عصاره نعنا (GC–MS) نیز شامل سیکلوهپتاسیلوکسان تترادکا متیل (۳۵,۲۸۷٪)، سیکلوهگزاسیلوکسان دودکامتیل (۲٤.۹٤۱٪)، سیکلواکتازیلوکسان هگزادکامتیل (۱۷,۵۷٤٪) هستند. به طور کلی این ترکیبات دارای خاصیت ضد توموری و آنتی اکسیدانی قابل توجهی می‌باشند[۲۹،۳۰].

تشکر و قدردانی

این پژوهش تحت حمایت معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت و در شرکت تحقیقاتی زیست فناوری ویرا آرمانیان (Vab Lab) شهر رشت انجام شد. بدین وسیله از زحمات دانشگاه آزاد اسلامی و شرکت زیست فناوری ویرا آرمانیان جهت پشتیبانی این پژوهش تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-09-05]

[DOI: 10.61186/aums.13.1.34]

منابع

1- Martincorena, I., & Campbell, P. J. Somatic mutation in cancer and normal cells. Science 2015;349(6255): 1483-1489.

2- Baskar, R., Dai, J., Wenlong, N., Yeo, R., & Yeoh, K. W. Biological response of cancer cells to radiation treatment. Frontiers in molecular biosciences 2014;1: 24.

3- Prasedya, E. S., Miyake, M., Kobayashi, D., & Hazama, A. Carrageenan delays cell cycle progression in human cancer cells in vitro demonstrated by FUCCI imaging. BMC complementary and alternative medicine 2016;16(1): 1-9.

4- Tukenmez, U., Aktas, B., Aslim, B., & Yavuz, S. The relationship between the structural characteristics of lactobacilli-EPS and its ability to induce apoptosis in colon cancer cells in vitro. Scientific reports 2019;9(1): 1-14.

5- Vogtmann, E., Han, Y., Caporaso, J. G., Bokulich, N., Mohamadkhani, A., Moayyedkazemi, A., ... & Pourshams, A. Oral microbial community composition is associated with pancreatic cancer: A case-control study in Iran. Cancer medicine, 2019;9(2): 797-806.

6- Higuera, O., Ghanem, I., Nasimi, R., Prieto, I., Koren, L., & Feliu, J. Management of pancreatic cancer in the elderly. World journal of gastroenterology 2016;22(2): 764.

7- Ariston Gabriel, A. N., Wang, F., Jiao, Q., Yvette, U., Yang, X., Al-Ameri, S. A., ... & Wang, C. The involvement of exosomes in the diagnosis and treatment of pancreatic cancer. Molecular cancer, 2020;19(1): 1-9.

8- Yao, H., Ashihara, E., & Maekawa, T. Targeting the Wnt/β-catenin signaling pathway in human cancers. Expert opinion on therapeutic targets 2011;15(7): 873-887.

9- Moon, R. Wnt/β-Catenin Pathway. Science's STKE 2005: 271.

10- Javadinia, S. A., Shahidsales, S., Fanipakdel, A., Joudi-Mashhad, M., Mehramiz, M., Talebian, S., ... & Avan, A. Therapeutic potential of targeting the Wnt/β-catenin pathway in the treatment of pancreatic cancer. Journal of Cellular Biochemistry 2018; 120(5): 6833-6840.

11- Gupta, S., Kumar, A., & Tejavath, K. K. A pharmacognostic approach for mitigating pancreatic cancer: emphasis on herbal extracts and phytoconstituents. Future Journal of Pharmaceutical Sciences 2021;7(1): 1-29.

12- Ilic, M., & Ilic, I. Epidemiology of pancreatic cancer. World journal of gastroenterology 2016;22(44): 9694.

13- Sinkala, M., Mulder, N., & Martin, D. Machine learning and network analyses reveal disease subtypes of pancreatic cancer and their molecular characteristics. Scientific reports 2020; 10(1): 1-14.

14- Yoon, K. A., Woo, S. M., Kim, Y. H., Kong, S. Y., Lee, M. K., Han, S. S., ... & Park, S. J. Comprehensive cancer panel sequencing defines genetic diversity and changes in the mutational characteristics of pancreatic cancer patients receiving neoadjuvant treatment. Gut and liver 2019; 13(6): 683.

15- Hart, P. A., Kamada, P., Rabe, K. G., Srinivasan, S., Basu, A., Aggarwal, G., & Chari, S. T. Weight loss precedes cancer-specific symptoms in pancreatic cancer-associated diabetes mellitus. Pancreas 2011; 40(5): 768-772.

16- Holly, E. A., Chaliha, I., Bracci, P. M., & Gautam, M. Signs and symptoms of pancreatic cancer: a population-based case-control study in the San Francisco Bay area. Clinical Gastroenterology and Hepatology 2004; 2(6): 510-517.

17- Zhang, L., Sanagapalli, S., & Stoita, A. Challenges in diagnosis of pancreatic cancer. World journal of gastroenterology 2018; 24(19): 2047.

18- Ali, I., Naqshbandi, M. F., & Husain, M. Cell migration and apoptosis in human lung cancer cells by clove (Syzygium aromaticum) dried flower buds

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-09-05]

[DOI: 10.61186/aums.13.1.34]

extract. Journal of Taibah University for Science 2019;13(1): 1163-1174.

19- Pulikottil, S. J., & Nath, S. Potential of clove of Syzygium aromaticum in development of a therapeutic agent for periodontal disease: a review. South African Dental Journal 2015; 70(3): 108-115.

20- Ali, I., Naqshbandi, M. F., & Husain, M. Cell migration and apoptosis in human lung cancer cells by clove (Syzygium aromaticum) dried flower buds extract. Journal of Taibah University for Science 2019;13(1): 1163-1174.

21- Köprü, S., Say, R., Karaman, K., Yilmaz, M. M., & Kaplan, M. Optimization of processing parameters for the preparation of clove (Syzygium aromaticum) hydroalcoholic extract: A response surface methodology approach to characterize the biofunctional performance. Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants 2019;16:100236.

22- Liu, M., Zhao, G., Zhang, D., An, W., Lai, H., Li, X., ... & Lin, X. Active fraction of clove induces apoptosis via PI3K/Akt/mTOR-mediated autophagy in human colorectal cancer HCT-116 cells. International journal of oncology 2018;53(3):1363-1373.

23- Shen, H., Yan, W., Yuan, J., Wang, Z., & Wang, C. Nek2B activates the wnt pathway and promotes triple-negative breast cancer chemothezrapy-resistance by stabilizing β-catenin. Journal of Experimental & Clinical Cancer Research 2019;38(1): 1-17.

24-Imran, M., Rauf, A., Abu-Izneid, T., Nadeem, M., Shariati, M. A., Khan, I. A., ... & Mubarak, M. S. Luteolin, a flavonoid, as an anticancer agent: A review. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2019;112: 108612.

25-Azadi, M., Alemi, F., Sadeghi, S., Mohammadi, M., Rahimi, N. A., Mirzaie, S., ... & Zamani, Z. An Integrative In Silico Mathematical Modelling Study of The Anti-Cancer Effect of Clove Extract (Syzygium aromaticum) Combined with In Vitro Metabolomics Study Using 1HNMR Spectroscopy. Iranian Journal of Biotechnology 2020; 18(3): e2336.

26- Atawodi, S. E., Atawodi, J. C., Pfundstein, B., Spiegelhalder, B., Bartsch, H., & Owen, R. Assessment of the polyphenol components and in vitro antioxidant properties of Syzygium aromaticum (L.) Merr. & Perry. Electronic Journal of Environmental, Agricultural & Food Chemistry 2011; 10(3).

27- Liu, H., Schmitz, J. C., Wei, J., Cao, S., Beumer, J. H., Strychor, S., ... & Lin, X. Clove extract inhibits tumor growth and promotes cell cycle arrest and apoptosis. Oncology Research Featuring Preclinical and Clinical Cancer Therapeutics 2014;21(5): 247-259.

28- Etteieb, S., Cherif, S., Kawachi, A., Han, J., Elayni, F., Tarhouni, J., & Isoda, H. Combining biological and chemical screenings to assess cytotoxicity of emerging contaminants in discharges into surface water. Water, Air, & Soil Pollution 2016;227(9): 1-12.

29- Mebude, O. O., & Adeniyi, B. GC-MS analysis of phyto components from the stem bark of Cola nitida Schott & Endl. Journal of Plant Sciences 2017;5(4): 99-103.

30- Al-Ali, Z. T. Effect of spraying with bio stimulators "Agrosign and liquid humus" in the chemical content and production of biofuel vehicles for oil of local mint plant (Mentha spicata L.). Plant Archives 2019;19(2): 2937-2943.

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-09-05]

[DOI: 10.61186/aums.13.1.34]

AUMJ Journal Alborz University of Medical Sciences
Alborz University of Medical Sciences Journal, February 2024, Vol. 13, No 1: 34-43 *Review Article*

Studying the change in transcription level of beta-catenin gene in PANC-1 pancreatic cancer cell line treated with clove extract

Received: 14 May 2023 ; Accepted: 29 Oct 2023

Faezeh Ghorban Fallah[1]
Hadi Habibollahi[1*]
Mehrnaz Ahmad Sharbafi[1]

1- Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran

* Corresponding Author:
Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran.
Tel: +98 921 739 0353
E-mail: hhabibollahi@yahoo.com

Abstract

Pancreatic cancer development is a complex biological process in which various genes are involved. The β-catenin/Wnt signaling pathway plays an important role in the development of pancreatic cancer. In this research, the effect of clove polyphenol extract on PANC-1 pancreatic cancer cell line and the changes in β-catenin gene expression were evaluated. PANC-1 pancreatic cancer cell line was purchased from the Royan center of Isfahan. After successive passages in order to perform MTT assay, the cells were cultured in 96-well culture plates and treated for 24 hours with different concentrations of clove plant extract, and the absorbance of the samples was determined at a wavelength of 570 nm. By interpreting the results of the MTT test, the IC50 value of clove extract was determined. Based on IC50, PANC1 cells were cultured under treatment with extract and without treatment (control), and then using the kit, RNA extraction and cDNA synthesis were done from the cells. Using specific primers for β-catenin gene and actin reference gene, real-time PCR was performed and then interpreted by $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. The compounds in clove extract were also determined by mass GC method. The results of MTT assay showed that the IC50 of clove extract in PANC1 cell line is in the range of 10 µg/ml and with increasing concentration of clove extract, cell survival is completely decreased. Examining the transcriptional change of β-catenin gene under the treatment of IC50 concentration of clove extract also showed that this extract is able to decrease the expression of this gene by 1.29 times at the level of transcription at a significant level of $p<0.05$, which due to the unconventional increase of β-catenin catenin in all types of cancer, reducing the expression of this gene under the treatment of clove extract can be desirable.

Key words: Pancreatic cancer, PANC-1 cell line, beta-catenin gene, clove extract

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-09-05]

[DOI: 10.61186/aums.13.1.34]