

التأثير السمي للأزورين المنتج من بكتريا *pseudomonas aeruginosa* PS 21 في الخطوط الخلوية السرطانية AMN-3 و Hep-2

نهاد طه محمد جدوع*، هيفاء هادي حساني*، امال محمد علي**، ايمن علي حسن**

* جامعة بغداد - كلية العلوم - قسم علوم الحياة

** الجامعة المستنصرية - المركز العراقي لبحوث السرطان والوراثة الطبية

الخلاصة:

هدفت الدراسة الى الكشف عن قابلية الأزورين المستخلص من بكتريا *pseudomonas aeruginosa* في تثبيط نمو خطين من خطوط الخلايا السرطانية المتمثلة بخلايا سرطان الحنجرة البشري (Human Larynx epidermoid carcinoma Hep-2) وخلايا سرطان الغدة اللبينية الفأري (ANM-3) Mouse Mammary Adenocarcinoma باستخدام فحص السمية (cytotoxicity). أظهرت النتائج ان تأثير الأزورين المستخلص المنقى جزئياً يعتمد على تركيزه وعلى نوع الخلية المستخدمة ووقت التعرض فقد أظهر المستخلص فعالية تثبيطية عالية عند التراكيز العالية (125، 250) مايكروغرام / مل ولأوقات التعرض جميعاً، في حين أختزل التأثير التثبيطي تدريجياً مع انخفاض التركيز المستعمل. ونتج عن معاملة الخلايا بالتراكيز الواطئة تحفيز الخلايا على التضاعف والانقسام في هذين الخطين الخلويين وبنسب مختلفة قياساً بالسيطرة (100%)، فقد ازدادت حيوية خلايا Hep-2 خلال مدة 24 ساعة الاولى من التعرض فقط، في حين تمكنت خلايا AMN-3 من النمو والتكاثر في أوقات التعرض جميعاً (24، 48، 72 ساعة).

الكلمات المفتاحية: *pseudomonas aeruginosa*، الأزورين، PS 21

المقدمة:

ففي أحد الدراسات [5] تم أستخلاص Colicin من بكتريا *Escherichia coli* وبينت تأثيره بوصفه مثبطاً لنمو خلايا سرطان الغدة اللبينية الفأري في الحيوانات المختبرية وكونه قاتلاً للخلايا السرطانية خارجالجسم الحي *in vitro*، وان للسكريات المتعددة Polysaccharids المعزولة من مخفظة بكتريا *Klebsiella* فعالية مضادة لسرطان الغدة اللبينية الفأري من خلال تحفيزها للخلايا المناعية [6]، أما الذايفانات المعوية الخام المنتجة من *E. coli* فعملت على تقليل حجم الورم السرطاني في الغدة اللبينية المغروس في الفئران بنسبة تصل الى (83 - 89)% عند حقنها مباشرة في الورم [7].

وفي دراسة حول التأثير السمي الوراثي لمستخلص حامض التكويك الجداري (WTA) Wall Teichaic Acid) بكتريا *Enterococcus faecalis* في الخطوط الخلوية السرطانية Hep-2 و AMN-3 فقد أظهر تثبيطاً جيداً لهذين الخطين [8]. كما وأثبتت الباحثة [9] التأثير السمي الوراثي لمتعدد السكريد خارج الخلوئي (EPS) Exopolysaccharids) بكتريا *E. faecium* في الخطين الخلويين السرطانيين Hela و AMN-3 المستخلص من *E. faecium* وأظهر فعالية تثبيطية للخلايا السرطانية دون التأثير في الخلايا الطبيعية ((REF Rat Embryo Fibroblast).

تعد بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* بكتريّة ممرضة منتهزة للفرص بالنسبة للإنسان والحيوان والنبات ففي الإنسان تسبب تلوّثاً للحروح

يعد سرطان من المشاكل الصحية الرئيسة والكبرى في العالم، وأحد المسببات المهمة في زيادة حالات الوفيات بين الأطفال والبالغين وقد شكل تحدياً كبيراً للعديد من الباحثين لعدم وجود أنظمة علاجية فعالة للحد منه بشكل نهائي، لذلك سعى الباحثون لأيجاد طرائق جديدة وبأساليب متطورة لعلمهم يجدون ضالتهم في الكشف عن عقار جديد يحد من السرطان، ولم يغيب عن بال المختصين في مجال الأحياء المجهرية أستثمار الأحياء المجهرية بوصفها عوامل ضد سرطانية anticancer فالبحوث التي أجريت في استخدام البكتريا علاجاً للسرطان ترجع الى القرن التاسع عشر، إذ يعد العالم William Coley هو أول من أستخدم البكتريا بوصفها وسيلة لعلاج الأورام السرطانية وأحداث التنخر، فقد قام بحقن خليط لجنسين من البكتريا المقتولة وهي *Serratia marcescens* و *Streptococcus pyogenes* بطريقتين، الأولى مباشرة بالورم والاخرى في مجرى الدم وأطلق على هذه المعالجة سموم كولي Coley toxin أو اللقاح البكتيري المختلط (1) Mixed Bacterial Vaccine (MBV).

تلت هذه المرحلة أستعمال أنواع عدة من البكتريا في تقليل نسبة نمو الورم فقد أستعملت *Mycobacterium bovis* لقاحاً لعلاج سرطان المثانة السطحي Superficial bladder cancer بوساطة تحفيز الجهاز المناعي وتثبيط أنتشار تقدم السرطان [2]، ومن البكتريا المرضية الأخرى التي أستعملت لعلاج السرطان هي *Listeria monocytogenes* و [3] *Salmonella Spp.* الا أن البكتريا الحية تنتج تأثيرات جانبية وسمية مما أدى الى الحد من أستعمالها في علاج مرضى السرطان [4]، لذلك تم التوجه الى البحث عن منتجات بكتيرية نقية أو مرتبطة مع مركبات أخرى.

في العراق جرت محاولات عديدة لأستخلاص منتجات بكتيرية وتجريبها في علاج السرطان.

Corresponding author:

Amal M.Ali

Al- Mustansiyra University, Iraqi Center of Cancer and Genetic Medicin.

Tel: 07901990240

E-mail: amal_genetic@yahoo.com

12 - أخذ الرائق الذي هو عبارة عن أجزاء البلازما المحيطة بالخلية Periplasmic Fraction والحاوي على الـ azurin وأهمل الراسب.

13 - أضيف الى الرائق كل من المحاليل الأتية Tris-HCl بتكيز 10ملي مولر و 1 ملي مولر لمحول CuSO₄ و 0.1 ملي مولر من K₄Fe(CN)₆ لغرض المحافظة على استقرار الـ azurin.

14 - خفض pH المحلول ما بين 3.9 - 4.5 بأضافة حامض الخليك الثلجي Glaicial acetic acid بتكيز 1 مولاري وذلك لترسيب معظم البروتينات الاخرى الموجودة في منطقة الفراغ البلازمي Periplasmic Space المفصولة مع الأزورين ثم قيست امتصاصية للمستخلص الخام عند الطولين الموجيين (625,280) نانو ميتر ثم حسبت ثم spectral ratio للقرائين المذكورتين اذ يجب ان تكون النسبة اعلى من 0.5 بعد ذلك تم تنقيته جزئياً [15]، ثم حدد تركيز البروتين الكلي بالاعتماد على الطريقة المطلقة [16 Absolute Method].

• دراسة التأثيرات السمية للأزورين في بعض خطوط الخلايا السرطانية خارج الجسم الحي vitro in

* انواع الخلايا السرطانية المدروسة استخدمت نوعين من خطوط الخلايا السرطانية وهي :

1- (2) Hep خلايا سرطان الحنجرة البشري. Human Larynx epidermoid carcinoma
2- (3) AMN خلايا سرطان الغدة البنينية الفاري. Adenocarcinoma Mouse mammary

تم الحصول على الخططين أعلاه من المركز العراقي لبحوث السرطان والوراثة الطبية بالتمرية رقم (236) بالنسبة للأول والتميرير رقم (196) بالنسبة للثاني وهي منمأة على وسط RPMI - 1640 المزود (10 %) مصم العجل الجنيني (FCS) Fetal calf serum

*دراسة التأثير السمي الخلوي Cytotoxicity لبروتين الأزورين المنقى جزئياً في خطوط الخلايا السرطانية.

تم زرع خلايا AMN-3 و Hep-2 في أطباق الزرع النسيجي ذات الحفر المتعددة (96) مسطحة القعر [17] (Flat bottom Well).

وتضمنت التجربة ثلاث مراحل:

المرحلة الأولى: زرع أو بذار الخلايا Cell Seeding

- بعد أن تمت عملية تنمية وتكثير الخلايا السرطانية أخذت الأوعية الحاوية على طبقة أحادية متكاملة من الخلايا Confluent monolayer ثم قلعن الخلايا بأستخدام محلول التريسين - فرسين.

- أضيف 20 مل من الوسط الزرع الممزوج بالمصل بنسبة 10 % الى كل وعاء ومزج بصورة جيدة،بعدها عدت الخلايا بأستعمال شريحة عد خلايا الدم Haemocytometer بأستخدام صبغة التريان الزرقاء [17].

- نقلت محتويات وعاء الزرع بعد الرج برفق الى بيكر Beaker معقم ، وبأستخدام ماصة دقيقة Micropipett وضع 0.2 مل من عالق الخلايا في كل حفرة من حفر الطبقة (بحيث تحوي كل حفرة على ما يقارب 104×3 خلية / حفرة). تم تغطية سطح الطبقة بورق لاصق شفاف معقم خاص لهذا الغرض وحرك الطبقة بلطف ثم حضن بدرجة حرارة 37م° الى اليوم الثاني للسماح للخلايا بالالتصاق Cell attachment.

والحروق ويمكن أن تسبب أمراض الرئة الحادة والمزمئة ، كما تعد المسبب الرئيس للوفيات في الأشخاص المثظين مناعياً للذين يعانون من التليف الكيسي في الرئة [10] [Cystic Fibrosis (CF)] ، تمتلك هذه البكتريا بروتين الأزورين والذي يؤلف جزءاً من الجدار الخلوي إذ إنه يقع ضمن منطقة البلازما المحيطة بالخلية Periplasmic Space ويتكرب من 128 حامض أميني [11] ، يحتوي هذا البروتين على أيون النحاس الذي يرتبط تناسقياً بسلاسل من متعدد الببتيد Polypeptide وهذا الأرتباط يساهم في أستقراره [12].

تكمن أهمية الأزورين كعامل ضد ورمي من التأثير المباشر في الخلايا السرطانية بواسطة ظاهرة الموت الخلوي المبرمج لها [13] [Apoptosis]. لذا هدفت هذه الدراسة الى أستخلاص بروتين الأزورين من بكتريا P.aeruginosa المعزولة من العينات المرضية وتقييم سميتها في الخلايا السرطانية.

المواد وطرائق العمل:

• أستخلاص بروتين الأزورين الخام لبكتريا *Paeruginosa*

أستخلص الأزورين من عزلة البكتريا P.aeruginosa Ps21 المعزولة من الادرار [14].

مع إجراء بعض التحويرات على طريقة الأستخلاص و كما يلي :

1- حضر 5 لترات من وسط Luria - Bertani Medium LB ووزعت بقية الكمية بمجم 100 مل في دورق سعته 250 مل ووزعت بقية الكمية بمجم 500 مل على دورق سعة 1000 مل وعقم بالموصدة بدرجة 121 م° وتحت ضغط 15 باوند / انج 2 ولمدة 20 دقيقة.

2- لقع الدورق الحاوي على 100 مل من وسط LB بمزوع فتي (بعمر 18 ساعة) وبمجم 1 مل للعزلة PS21 ثم حضن بالحاضنة الهزازة بدرجة 37 م° ولمدة 18 ساعة لتنشيط البكتريا وتطبعها على الوسط.

3- تم تلقيح الدوارق الحاوية على وسط LB بنسبة 2 % (حجم / حجم) من العالق البكتيري المنشط وحضنت الدوارق بدرجة 37 م° لمدة 18 ساعة بالحاضنة الهزازة.

4- جمعت الخلايا بواسطة النبد المركزي المبرد (Cooling Centrifuge) بسرعة 3500 دورة/ دقيقة لمدة 15 دقيقة.

5- أهمل الرائق وعلق الراسب 1.2 لتر من محلول Tris-HCl ذي الرقم الهيدروجيني (8) بتكيز 10 ملي مولر

6- عمل لها نبد مركزي بسرعة 3500 دورة / دقيقة ثم علق راسب الخلايا 25 % سكروز المضاف اليه 0.1 ملي مولر من مادة Ethylen Diamine tetra acetic (EDTA) acid والحضن وبمجم نهائي 400 مل.

7 - تم مجانسة الخلايا بواسطة التحريك بأستخدام جهاز Magnatic Stirrer الحاوي على القضيب المغناطيسي في درجة حرارة الغرفة ولمدة 15 دقيقة.

8 - نبد المحلول بواسطة الطرد المركزي المبرد Cooling Centrifuge بسرعة 3500 دورة / دقيقة لمدة 15 دقيقة.

9- أهمل الرائق وعلق الراسب بماء بارد مثلج Ice-Cold وبمجم 400 مل.

10- وضع المحلول على جهاز المحرك المغناطيسي Magnatic Stirrer بدرجة حرارة الغرفة ولمدة 15 دقيقة.

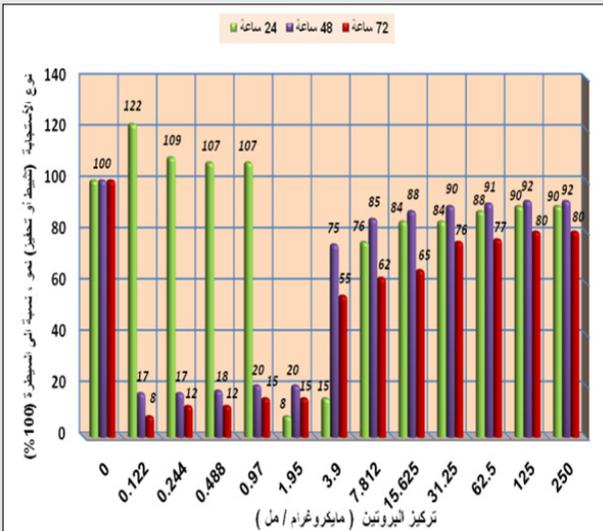
11 - نبد المحلول بالظروف نفسها المذكورة أعلاه.

الخلايا أعمدت بالدرجة الاساس على التركيز المستعمل لمستخلص الأزورين ووقت التعرض.

أظهر مستخلص الأزورين المنقى جزئياً لاسيما بالتركيز المرتفعة (125 ، 250) مايكروغرام/مل بعد 24 ساعة من التعرض تأثيراً تثبيطياً ، فقد بلغت النسبة المئوية لتثبيط نمو الخلايا السرطانية 90 % . وأكدت نتائج التحليل الاحصائي أن الفرق معنوي عند مستوى احتمالية (P ≤ 0.05) مقارنة مع مجموعة السيطرة (100 %).

الا أن الفعالية السمية للمستخلص ضد هذا النوع من الخلايا السرطانية بدأت تقل وبصورة طردية مع انخفاض تركيز المستخلص وصولاً الى التركيز 1.95 مايكروغرام/مل فقد بلغت النسبة 8 % ؛ بمعنى آخر أن حيوية الخلايا في هذا التركيز أصبحت 92 % أما التراكيز الواطفة (0.97 ، 0.488 ، 0.244 ، 0.122) مايكروغرام/مل فقد سجلت زيادة معنوية لنمو الخلايا (P ≤ 0.05) فقد بلغت النسبة المئوية لحيوية الخلايا (107 ، 107 ، 109 ، 122) % على التوالي مقارنةً بالسيطرة.

إلا أن التأثير التثبيطي للمستخلص بدء يزداد تدريجياً بعد مرور 48 ساعة من التعرض مقارنةً مع مدة تعرض 24 ساعة فقد كان التأثير السمي للمستخلص واضحاً في التراكيز المستعملة جميعها في هذه الدراسة ، بمعنى آخر حصول انخفاض معنوي في حيوية الخلايا كلما ارتفع تركيز المستخلص حتى أصبحت نسبة التثبيط 92 % عند التركيزين (125 ، 250) مايكروغرام/مل في حين أخذت النسبة المئوية لتثبيط نمو الخلايا السرطانية Hep-2 بالانخفاض عند تعريضها للمستخلص لمدة 72 ساعة مقارنةً لفترة التعرض 48 ساعة ، فقد سجلت نسبة التثبيط عند التركيز 0.122 مايكروغرام/مل 8 % أي بنسبة حيوية مقدارها 92 % من حيوية الخلايا ، ثم أخذت نسبة التثبيط تزداد وبالتدرج وصولاً الى التركيزين (125 ، 250) مايكروغرام/مل ، فقد بلغت 80 % أي أن حيوية الخلايا انخفضت معنوياً (P ≤ 0.05) الى 20% مقارنةً مع السيطرة التي تمثل 100%.



شكل (1) النسب المئوية لمعدل تثبيط أو تحفيز نمو خلايا Hep - 2 المعاملة بتركيزات مختلفة من الأزورين المنقى جزئياً في أوقات تعرض (24 ، 48 ، 72 ، ساعة .

المرحلة الثانية: مرحلة التعرض Exposure Stage

- بعد فحص الأطباق والتأكد من نمو الخلايا فيها وتكوين طبقة أحادية كاملة عوملت الخلايا المنماة في الحفر بتركيز نصفية تراوحت بين 250 الى 0.122 مايكروغرام/مل في أنابيب اختبار معقمة بأستعمال الوسط الزرعي الخالي من المصل Serum Free Media بالطريقة الأتية:

- سكب الوسط الزرعي القديم من أطباق الزرع النسيجي بعد رفع اللاصق منه وأضيف 0.2 مل/حفرة من التراكيز أعلاه للمستخلص المنقى جزئياً وبواقع 3 مكررات لكل تركيز ، كما تم عمل مكررات للسيطرة (خلايا مضاف إليها الوسط الخالي من المصل Serum Free medium SFM فقط بدون إضافة المستخلص) ثم أعيد وضع طبقة جديدة من الورق اللاصق المعقم على سطح الطبق.

- حضنت الأطباق بدرجة حرارة 37م° وبثلاث أوقات تعرض Exposure (24 ، 48 ، 72 time) ساعة لكل طبق.

المرحلة الثالثة: الكشف عن التأثير السمي للأزورين المنقى جزئياً Cytotoxicity assay

- بعد انتهاء مدد التعرض Exposure Period أخذت الأطباق وسكبت محتوياتها بعد رفع اللاصق منها ، ثم صبغت الخلايا بأضافة 0.2 مل من صبغة البنفسج البلوري Violet Crystal وتركت لمدة 20 دقيقة وبعدها أزيلت الصبغة بغسل الأطباق بماء الحنفية لمرة عدة للتخلص من الصبغة الزائدة.

- بعد جفاف الأطباق قرئت النتائج لكل طبق بأستخدام جهاز المطياف الضوئي الخاص بأطباق المعايرة الدقيقة ELISA microplate spectrophotometer عند الطول الموجي 492 نانوميتر.

- تم حساب معدل تثبيط نمو الخلايا السرطانية Inhibitory Rate (IR) على وفق المعادلة المشار إليها في [18] ، وعلى النحو الأتي:

$$IR \% = \frac{A - B}{A} \times 100$$

كما حسب معدل تحفيز النمو [Proliferation Rate (PR) [19] ، وعلى النحو الأتي :

$$PR \% = \frac{B}{A} \times 100$$

إذ إن:

IR % : النسبة المئوية لمعدل التثبيط.

PR % : النسبة المئوية لمعدل التحفيز.

A : الكثافة الضوئية للسيطرة.

B : الكثافة الضوئية للمعاملة لكل تركيز.

النتائج:

• التأثير السمي للأزورين المنقى جزئياً في خلايا سرطان الحنجرة

البشري Hep - 2

أظهرت النتائج الموضحة بالشكل (1) أن النسبة المئوية لتثبيط نمو

References:

- Hoption – Cann, S.A ; Van-Netten J.P., and Covan N. (2003). Dr. William Coley and tumor regression: A place in history or in the future ? Postgrad Med – J. 79: 672 – 680.
- Alexandroff, A.D ; Jackson A.M. O' Donnell M.A and James K. (1999). BCG immunotherapy bladder Cancer. Lancet, 353: 1689 – 1694.
- Paglia, P., and Guzman C.A. (1998). Keeping the immune system alerted against Cancer. Cancer Immunol. Immunother. 46: 88 – 92.
- Dang, L.H., Bettgowda C.; L Huso D.; W.Kinzler K.; and Vogelstein B. Combination bacteriolytic therapy for treatment of experimental tumors. Proc. Vati. Acad. Ser – USA 98:15155 – 15160.
- الدليمي، هند حسين (2006)، دراسة بعض التأثيرات الحياتية للكوليسينات في الخلايا الطبيعية والسرطانية خارج وداخل الجسم الحي. أطروحة دكتوراه، كلية العلوم – الجامعة المستنصرية.
- درويش، محمد أحمد (2007)، دراسة دور عديد السكريد المستخلص من المعزولة محليا في تثبيط Klebsiella Pneumonia محفظة بكتريا الخلايا السرطانية خارج وداخل لجسم الحي. أطروحة دكتوراه، كلية العلوم – جامعة بغداد.
- بنو، الهام سعيد عبد الكريم (2006)، تأثير الديقانات المعوية للبكتريا Escherichia Coli ETEC في الخلايا السرطانية والخطوط الخلوية وفي حيوانات التجارب أطروحة دكتوراه، كلية العلوم – جامعة بغداد.
- الحسيني، شهلاء علي حسن (2008)، دراسة تأثير حامض التوكريك Enterococcus faecalis المستخلص من بكتريا (WTA) الجداري في الخلايا الطبيعية وبعض الخطوط السرطانية. رسالة ماجستير، كلية العلوم – جامعة بغداد.
- الجنابي، هويدة كريم عبد (2008)، دراسة التأثيرات الوراثية لمعدد في الخلايا Enterococcus faecium السكريد خارج خلوي لبكتريا السرطانية. رسالة ماجستير، كلية العلوم – جامعة بغداد.
- Elkin, S. and Geddes D. (2003). Pseudomonal infection in Cystic Fibrosis: the battle Continues Expert review of anti – infective therapy 1: 609 – 18.
- Chaudhari, A ; Mahfouz M. ; Fialho A.M., Yamada T., A.T. ; Y.Zhu ; W.Hashimoto, Granja B.Schlarb Ridley, Cho W. ; Das Gupta T.K. and A.M. Chakrabarty. (2007). Cuperoxin – Cancer Interrelation Ship Azuri Binding with Eph B2 Phosphorylation, and Inhibition of Cancer Growth. Biochenistry 46 (7) 1799 – 1810.
- Leckner, J.; Bonander,N.; Wittung- Stafshede, P. ; Malmstrom B.G. and Karlsson B.G (1997). The effect of metalion on the folding energetic of azurin : a Comparison of the native, Zine and apoprotein. Biochen. Biophys. Acta. 1342: 19 – 27.
- Yamada, T.; Goto, M. ; Punj, V. ; Zaborina, O.; Chen, M.L. ; Kimbara, K. ; Majumdar, D ; Cunningham, E.; Das Gupta T.K. and Chakrabarty, A.M. (2002). The bacterial redox protein Apoptosis in J774 Macrophages through Complex formation and Stabilization of the tumor Suppressor Protein P53. Infection and Immunity. 70: 7054 – 7062.
- Cornelis, P., Digneffe, C. S and Willemot, K. (1982). Cloning and expression of a Bacillus coagulans amylase gene in Escherichia coli. Mol. Gen. Genet. 186: 507–511.
- Hutnik, C.M and Szabo, A.G. (1989). Confirmation that Multiexponential Fluore Scence Decany behavior of Holo azurin originates from Conformational Heterogeneity. Biochemistry 28, P 3923 – 3934.
- Whitaker, J.R and Granum, P.E (1980). An absolute method for Protein determination based on difference in absorbance of 235 and 280 nm. Anal Biochem 109, 156 – 159.
- Freshney, R.I. (2000). Culture of animal Cells: A manual for Basic technique. (4th ed.) Wiley – Liss Inc. Canada.
- Gao, S. ; Yu, B. ; Li, Y. ; Dong, W. and Luo, H. (2003). Antiproliferative effect of Octreotide on gastric cells mediated by Inhibition of Akt / PKB and telomerase. World J. Gastroenterol , 9: 2362 – 5.
- Chumchalova, J and Smarda, J. (2003). Human Tumor Cells and Selectively Inhibited by Colicins Folia Microbiol., 48: 111 – 5.
- Punj, V. ; Bhatta Charyya S. ; Saint-Dic, D. ; Vasu, C. ; Acunningham, E. Graves, J. ; Yamada, T. ; Iconstantinon, A. ; Christor, K. ; White, B.;. Majumdar, D. ; Chakrabarty, A.M. and Das Gupta, T.K., (2004). Bacterial Cupredoxin azurin as an inducer of apoptosis and regression in human brest Cancer Oncogene 23: 2367 – 2378.
- GHavami, S. ; Hashemi, M. ; Ande, \ SR. ; yeganen, B. ; Xiao, W. ; Eshraghi M.; Bus, C.J. ; Kadroda, K. Los, M. (2009). Apoptosis and cancer : Mutations within caspase genes. Journal of medical Genetics ; 46: 497–510.
- Gross, A. ; Jokel, J. ; Wei, MC. and Korsmeyer, S.J. (1998). Enforced dimerization of BAX result in Its translocation , mitochondrial dysfunction and apoptosis. EMBO J. 17: 3878 – 3885.
- Budhram – Mahadeo, V. ; Morris, P.J. ; smith, MD. ; Midgley, CA. ; Boxer, LM. and Latchman DS. (1999). P53 Suppressor the activation of Bcl2 – Promoter by the Brn – 3a POU family tnscription factor J, Biol chem, 274: 15237 – 15244.
- Yamada, T. ; Hiraoka, Y. ; Ikehata, M. ; Kimbara, K. ; Avner B.S. ; Dasgupta, T.k. and Chakrabarty, A.M.: (2004). Apoptosis or growth Suppressor P53'S Specificity by bacterial redox Protein azurin. PNAS. 101: 4770 – 4775.

Cytotoxic effect of Azurin Produced from *Pseudomonas aeruginosa* Ps21 on cancer cell lines (Hep-2 and AMN-3)

Nihad T.Mohamed*, Hayfa H.Hassani*, Amal M.Ali**, Aiman A.Hassan**

*Baghdad University , College of Science, Biology Dept.

**Al- Mustansiyria University, Iraqi Center of Cancer and Genetic Medicin.

Abstract:

This study was aimed to detection the ability of azurin , produced from *Pseudomonas aeruginosa* Ps21, as inhibitor two types of cancer cell lines, human laryux epidermoid carcinoma (Hep – 2) and Mouse Mammary adenocarcinoma (AMN – 3) by using cytotoxicity assay.

The Results showed the effect of partial purified of azurin depended on the concentration , type of cell and the exposure time. The extract at high concentrations (125 , 250) $\mu\text{g/ml}$. were exhibited apotent inhibiory at all exposure time against cancer cell lines. While The inhibitory activity was gradually reduced with decreasing of concentration of azurin , the low concentrations were activated for the cells proliferation in comparison with the control (100 %).

The viability of Hep – 2 cells was increased only during the first 24 hr from exposure while the AMN – 3 cells were proliferated at all exposture times (24 , 48 , 72) hr.