

بررسی میزان بیان تلومراز در دو رده سلولی آلوده به ویروس پاپیلومای انسانی پرخطر

چکیده

دریافت: ۱۳۹۴/۰۷/۲۳ ویرایش: ۱۳۹۵/۰۶/۱۲ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۶/۱۹ آنلاین: ۱۳۹۵/۰۶/۲۰

مریم اختری^۱، مهدی کمالی^{۲*}
غلامرضا جوادی^۱
سیده راضیه هاشمی^۳

۱- گروه ژنتیک، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
۲- مرکز تحقیقات نانو بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله، تهران، ایران.
۳- گروه زنان و زایمان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله، تهران، ایران.

زمینه و هدف: از مهمترین عوامل ابتلا به سرطان گردن رحم، ویروس پاپیلومای انسانی (HPV) است که با وارد کردن ژنوم خود به ژنوم میزبان، منجر به ضایعات پوستی و در مراحل شدیدتر، سرطان می‌شود. در این سرطان مانند دیگر سرطان‌ها، آنزیم تلومراز بیان بالایی دارد. تلومراز یک آنزیم رونوشت بردار معکوس می‌باشد که از دو جزء پروتیین کاتالیتیکی به نام Human Telomerase Reverse Transcriptase (hTERT) و توالی RNA به نام hTR، تشکیل شده است. در این مطالعه میزان بیان ژن hTERT در این دو نوع رده سلولی بررسی گردید.

روش بررسی: این مطالعه تجربی (آزمایشگاهی) مرکز تحقیقات نانو بیوتکنولوژی دانشگاه بقیه‌الله تهران از خرداد ماه ۱۳۹۲ تا اردیبهشت ۱۳۹۳ مورد مطالعه قرار گرفت. به صورت شاهدهی از نمونه‌های رده سلولی Caski و Hela استفاده شد که به ترتیب واجد HPV16 و HPV18 هستند. پس از کشت سلول‌ها، با تکنیک Real-time PCR، پس از نرمال‌سازی شرایط با کمک ژن بیان‌شونده دائمی Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GADPH)، میزان بیان ژن hTERT در دو رده سلولی بررسی شد.

یافته‌ها: طبق داده‌های نمودارهای Real-time PCR، بیان ژن hTERT در رده سلولی سرطانی Caski نسبت به Hela تفاوت آماری معناداری داشت، نتایج به‌دست آمده با استفاده از روش Student's t-test، $P=0/0319$ را نشان داد. نمودارها در نرم‌افزار GraphPad Prism, version 5 (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, USA) نیز این نتایج را تأیید کرد.

نتیجه‌گیری: به منظور بررسی میزان بیان تلومراز، طراحی پرایمر اختصاصی برای تشخیص هردو رده ویروس سرطانی HPV16 و HPV18 ضروری به نظر می‌رسد. با این روش می‌توان از hTERT به منظور تشخیص سریع و دقیق‌تر نوع سرطان گردن رحم وابسته به HPV16 و HPV18 استفاده شود.

کلمات کلیدی: تلومراز، سرطان گردن رحم، ویروس پاپیلومای انسانی، سرطان زنان.

* نویسنده مسئول: تهران، میدان ونک، خیابان ملاصدرا، مرکز تحقیقات نانو بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله

تلفن: ۰۲۱-۸۸۰۵۰۴۶۶

E-mail: mehkamali@yahoo.co.uk

مقدمه

طبق مطالعات انجام گرفته، میزان ابتلا به سرطان گردن رحم در ایران ۴/۵ در ۱۰۰۰۰۰ نفر در سال گزارش شده است.^۱ ویروس پاپیلوما انسانی نقش مهمی در بیماری‌زایی سرطان گردن رحم ایفا می‌کند. این ویروس در ۹۹/۷٪ سرطان‌های گردن رحم در سراسر جهان یافت شده است.^۲ پژوهش‌ها نشان می‌دهد که سطح فعالیت تلومراز با پیشرفت سرطان ارتباط دارد.^۳ تلومراز به‌طور معمول تنها در رده

سرطان گردن رحم، چهارمین سرطان شایع زنان در جهان است که رتبه هفتم در بین سرطان‌های دیگر زنان دارا است.^۱ این سرطان در سال ۲۰۱۲ با آمار فوت ۲۶۶۰۰۰ موردی در جهان، ۷/۵٪ از مرگ‌های ناشی از ابتلا به سرطان را به خود اختصاص داده است.^۲

روش بررسی

در این مطالعه تجربی (آزمایشگاهی)، دو رده سلولی سرطان گردن رحم، Caski (آلوده به ویروس پاپیلوما انسانی ۱۶) و Hela (آلوده به ویروس پاپیلوما انسانی ۱۸) (خریداری شده از مجموعه سلولی CLS) در مرکز تحقیقات نانویوتکنولوژی دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله تهران از خرداد ماه ۱۳۹۲ تا اردیبهشت ۱۳۹۳ مورد بررسی قرار گرفت.

سلول‌ها در شرایط مشابه در محیط RPMI 1640 (Sigma-) حاوی ۱۰٪ سرم جنین گاوی (FBS, Aldrich, Ireland) و ۱٪ آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین (BioWhittaker®, Lonza, Ireland) ۱۰۰ U/ml - استرپتومایسین ۱۰۰ µg/ml (BioWhittaker®, Lonza, Ireland) در انکوباتور در شرایط دمایی ۳۷ °C با ۵٪ CO₂ کشت داده شدند. محیط نمونه‌ها دو بار در هر هفته تعویض شده و البته در صورت پر شدن ظرفیت سلول‌ها تا ۸۰٪-۷۰٪ پاساژ داده شده یا برای استخراج به‌کار گرفته شدند. باقی‌مانده مواد و رده‌های سلولی پس از اتوکلاو حذف شد. هنگامی که حداقل ۸۰٪ فلاسک محتوی سلول‌ها پر شد، RNA هر دو رده سلولی سرطانی با استفاده از کیت Tripure بر اساس پروتکل آن استخراج شد. سپس میزان خلوص RNA استخراج شده با نانودراپ اندازه‌گیری شد. استخراج RNA به‌دست آمدن غلظت بالای RNA و حداقل میزان DNA و پروتئین، به دفعات تکرار شد و هر بار پس از استخراج از رشته RNA با استفاده از کیت Bioneer، cDNA تهیه شد که طی آن ۲ µl پرایمرهای (ROSH) oligo(dT)18 و نمونه RNA به میزان ۵ µg و آب Deps تا حجم ۲۰ µl به تیوب‌های RocketScript RT PreMix افزوده شد. نمونه در ترموسایکر با برنامه دمایی ۳۷ °C برای یک دقیقه، ۵۵ °C به مدت یک ساعت و ۹۵ °C برای پنج دقیقه قرار گرفت. برای اطمینان از بودن ژن موردنظر در نمونه‌ها از PCR استفاده شد.

از cDNA آماده شده به عنوان نمونه الگو در ترکیب ۵۰ µl ماکرولیتری حاوی ۳ µl از هر یک از پرایمر پیرو و پیشرو ۱۰ mM، ۵ µl بافر PCR 10x، ۲ ماکرولیتر Mgcl₂ (۵۰ mM)، ۱ µl dNTPs و ۰/۵ ماکرولیتر Tag (۵۰ units/ml) استفاده شد که با آب دیونایز به حجم ۵۰ units/ml رسید. پرایمرهای مورد استفاده شامل 5'-TATGTCACGGAGACCACGTT-3' و 5'-GTGCTGTCTGATT

سلولی زایا، سلول‌های بنیادی و سلول‌های رویانی بیان می‌شود و در بسیاری از بافت‌ها و سلول‌های سوماتیک در طول تکامل جنینی خاموش است^۶ اما در بیش از ۹۰٪ تومورها، سطح بالایی از فعالیت تلومراز مشاهده شده است.^۷ به بیان دیگر فعالیت تلومراز یک عامل تعیین‌کننده در نامیرایی سلول‌های سرطانی است و می‌تواند به‌عنوان یک هدف مولکولی در سلول‌های سرطانی مطرح باشد چراکه منجر به ثبات تلومر و در نتیجه همانندسازی نامحدود آن می‌شود.^۸ مطالعات زیادی نشان داده‌اند که مهار تلومراز می‌تواند روی بقای زیستی سلول‌های سرطانی تأثیر گذارد.^۹

تلومراز انسانی یک کمپلکس ریبونوکلئوپروتئینی متشکل از پروتئین ترانس کریپتاز معکوس Human Telomerase Reverse Transcriptase, hTERT و جزء RNA (hTR) است. hTERT تنها در سلول‌های جنینی خاصی، مانند سلول‌های بنیادی تکثیرکننده بافت‌های جدید و سلول‌های سرطانی بیان می‌شود. بیان hTERT سلول‌های نرمال فعالیت تلومراز را تجدید و پیری را متوقف می‌کند. فعالیت آنزیم تلومراز در بیشتر بافت‌های سوماتیک به سختی تشخیص داده می‌شود، یعنی تلومرها به علت نقص سنتز رشته پیرو DNA و وقایع پردازش نهایی، با هر تقسیم سلولی کوتاه شده، در نهایت منجر به پیری می‌شود.^{۱۰} جزء RNA یی hTR (RNA تلومر انسانی) به عنوان الگوی تلومراز عمل می‌کند و زیر واحد پروتئینی یا hTERT واکنش سنتز تلومر را سرعت می‌بخشد.^{۱۱} در تمام بافت‌ها بدون در نظر گرفتن فعالیت تلومراز به میزان بالایی بیان می‌شود.^{۱۲} در مقابل، جز پروتئینی hTERT کمتر از یک تا پنج کپی در هر سلول بیان می‌شود^{۱۳} که بیانگر ارتباط نزدیک با فعالیت تلومراز در سلول می‌باشد.^{۱۴} شایان ذکر است که hTERT عمدتاً در سلول‌های نرمال سرکوب بوده و در سلول‌های نامیرا به شدت بیان می‌شود.^۵

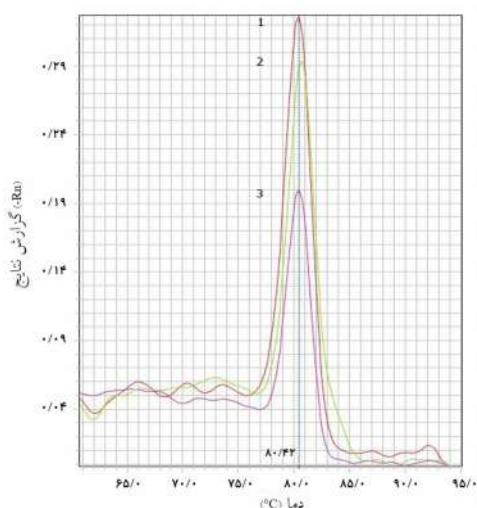
در آلودگی با ویروس پاپیلومای انسانی که عامل اصلی سرطان گردن رحم است، فعال شدن بیان hTERT به عنوان یک شاخص ابتلا به سرطان و همچنین مهار این بیان به عنوان روشی برای درمان می‌تواند مورد بررسی قرار گیرد. از آن‌جا که شایعترین انواع ویروس پاپیلومای انسانی که در سرطان گردن رحم شناسایی شده‌اند انواع ۱۶ و ۱۸ هستند،^{۱۵} به همین دلیل تحقیق حاضر به منظور بررسی سطح بیان hTERT بر روی سلول‌های آلوده به این دو نوع انجام شده است.

یافته‌ها

تکنیک اختصاصی قطعات ژنی مورد نظر، عدم جفت شدن آغازگرها و عدم تکثیر قطعات غیراختصاصی برای هر ژن با استفاده از منحنی ذوب تعیین شد، همچنین وضعیت بیان ژن hTERT با مقایسه میزان میانگین Ct در تکرارهای تست در هر دو نمونه بررسی شد (نمودارهای ۱ تا ۵). همانطور که در نمودار ذوب ژن hTERT سلول Caski (نمودار ۱) و سلول Hela (نمودار ۲) مشاهده می‌شود، در هر دو نمونه متناسب با افزایش غلظت ژن hTERT افزایش سطح بیان ژن مشاهده می‌شود.

روندی مشابه برای ژن کنترل GAPDH نیز در هر دو سلول Caski و Hela دیده شد. که به ترتیب نمودار ذوب ژن GAPDH در سلول Caski و Hela در نمودار ۳ و ۴ مشاهده می‌شود. در گزارش نهایی، علاوه بر بررسی نمودارهای سطح آستانه بیان یا Ct، نتایج با تست آماری Student's t-test بررسی شد.

داده‌های نهایی تست Real-time PCR حاصل از دستگاه ABI نرم‌افزار GraphPad Prism, version 5 (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, USA) با اعمال داده‌های حاصل از ژن hTERT به عنوان ژن اصلی و ژن دایم بیان شونده GAPDH به عنوان نمونه

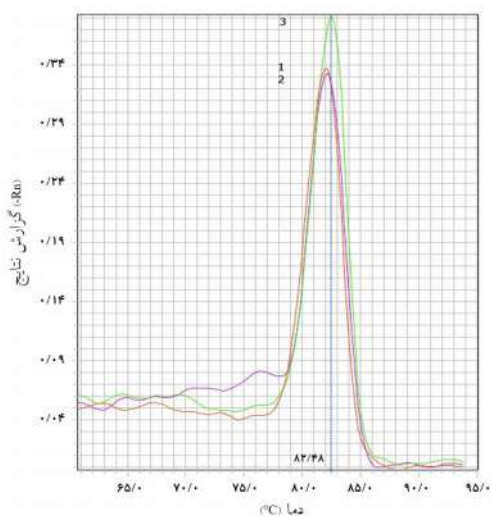


نمودار ۱: ذوب ژن hTERT در سلول Caski
(۱ رقت یک ۲) رقت ۱/۱۰ (۳) رقت ۱/۱۰۰۰.

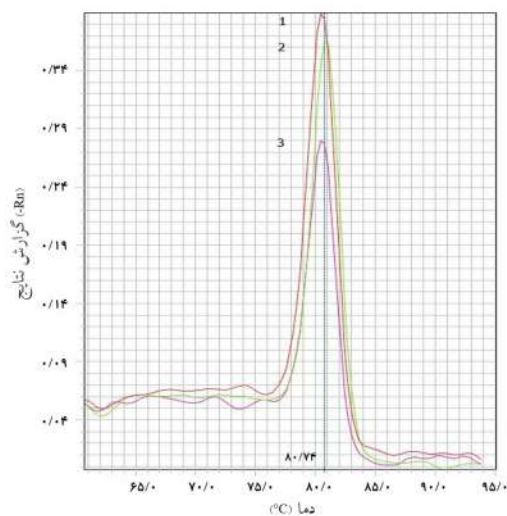
برای CCAATGC-3' (SinaClon BioScience Co., Tehran, Iran) mRNA ژن hTERT با محصولی به طول ۹۳ جفت باز و 5'-TGCACCACCAACTGCTTAGC-3' و 5'-GGCATGGACTGT (SinaClon BioScience Co., Tehran, Iran) GGTCATGAG-3' برای Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase mRNA ژن (GADPH) که محصول آن ۸۱ جفت باز بودند در PCR در دستگاه Thermal Cycler (Mastercycler, Eppendorf AG, Hamburg, Germany) با برنامه ۹۵ °C به مدت سه دقیقه و سپس در ۳۰ °C چرخه برای دماهای ۹۴ °C به مدت ۳۰ ثانیه، ۵۵ °C به مدت ۳۰ ثانیه و ۷۲ °C به مدت یک دقیقه و پس از آن پنج دقیقه در دمای ۷۲ °C قرار گرفت. محصولات PCR هر دو ژن hTERT و GAPDH در هر دو رده سلولی روی ژل پلی‌آکریلامید ۱۲٪ بررسی شد.

به منظور سنجش کمی نمونه با تست Real time PCR، از کیت SYBR® Green PCR QuantiTect™ (QIAGEN GmbH, Hilden, Germany) استفاده شد.

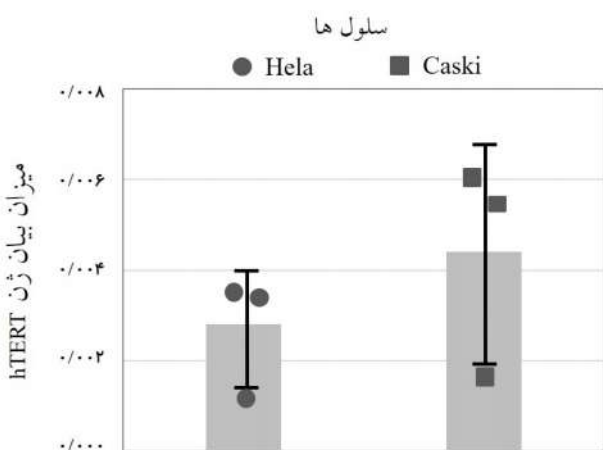
در این تست ۱۰ ماکرولیتر 2x QuantiTect SYBR Green PCR Master Mix (QIAGEN GmbH, Hilden, Germany) از هر یک از پرایمرها ۰/۵ μmol و از نمونه cDNA به میزان ۱ μg به تیوب استریل ۰/۲ μl اضافه شده و حجم آن با Depc-treated water به ۲۰ ml رسانده شد. از نمونه الگو cDNA، غلظت‌های ۱، ۱/۱۰ و ۱/۱۰۰۰ تهیه گردید. از دستگاه Applied Biosystems, Austin, TX, USA) Real-time PCR (Applied Biosystems, Austin, TX, USA) برای انجام واکنش استفاده شد. بر حسب CT و نوع منحنی‌های حاصل، میزان بیان ژن hTERT در هر دو سلول سرطانی در مقایسه با ژن دایم بیان‌شونده GAPDH مورد بررسی قرار گرفت. تست حاضر پس از بررسی مطالعات مشابه، به‌طور همزمان برای هر دو ژن hTERT و GAPDH در هر دو رده سلولی Hela و Caski در هر run دستگاه، از هر غلظت ۱، ۱/۱۰ و ۱/۱۰۰۰ μl در دو تیوب با شرایط مشابه آماده‌سازی شد تا تکرارها قابل اعتماد بوده و میزان خطا کم شود. البته مشابه تست حاضر با دستگاه Real-time PCR مدل Rotor-Gene 6000 (QIAGEN GmbH, Hilden, Germany) حساسیت بالای دستگاه 7500 Real-time PCR، تکرارهای بعدی همگی با این دستگاه انجام شده و گزارشات بر پایه داده‌های آن ارائه شد.



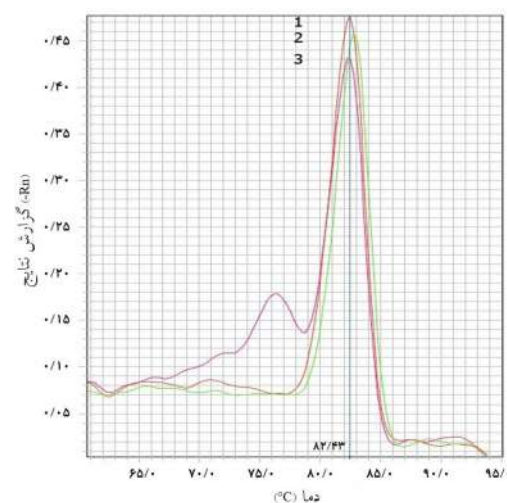
نمودار ۴: ذوب ژن GAPDH در سلول HeLa.
(۱ رقت یک ۲) رقت ۱/۱۰ (۳) رقت ۱/۱۰۰۰



نمودار ۲: ذوب ژن hTERT در سلول HeLa.
(۱ رقت یک ۲) رقت ۱/۱۰ (۳) رقت ۱/۱۰۰۰



نمودار ۵: مقایسه میزان بیان ژن hTERT در دو رده سلولی سرطانی به روش Student's t-test با نرم‌افزار آماری GraphPad. $P=0.0319$.



نمودار ۳: ذوب ژن GAPDH در سلول Caski.
(۱ رقت یک ۲) رقت ۱/۱۰ (۳) رقت ۱/۱۰۰۰

Student's t-test با $P=0.0319$ بیانگر معنادار بودن تفاوت میزان بیان hTERT در دو نمونه سرطانی مورد مطالعه بود که این نتیجه در نمودارهای فوق ارایه شد (نمودارهای ۱ و ۲ و ۳ و ۴) و به خوبی بیان بالاتر ژن hTERT مورد مطالعه را در نمونه Caski نشان داد.

شاهد، مورد آنالیز آماری قرار گرفت (نمودار ۵). طبق نمودارهای به‌دست آمده از مقایسه Ct نمونه‌ها، نمونه HeLa سریع‌تر از نمونه Caski بیان hTERT را آغاز نموده است که میزان پایین Ct در رقت‌های گوناگون نشان دهنده این موضوع است. نتیجه

بحث

تفاوت بیان hTERT در دو نمونه سرطانی را نشان دادند. برای دستیابی به این هدف، طراحی پرایمر اختصاصی تلومرز که هر دو رده ویروس سرطانی HPV16 و HPV18 و البته تنوع هر رده را تشخیص دهد، ضروری به نظر می‌رسد.

با این روش می‌توان از hTERT به منظور تشخیص سریع و دقیق‌تر نوع سرطان گردن رحم وابسته به HPV16 و یا HPV18 استفاده و به ارایه راه حل درمانی تخصصی‌تر اقدام کرد. با مشاهده اختلاف معنادار بیان ژن hTERT در سلول‌های سرطانی با استناد بر نتایج حاصل، می‌توان راه‌کارهای مناسبی را برای سرعت‌بخشی تشخیص نوع آلودگی HPV16 و HPV18 به منظور کنترل پیشرفت و مدیریت درمان سرطان گردن رحم طراحی کرد.

سپاسگزاری: مطالعه حاضر بخشی از پایان‌نامه مقطع کارشناسی ارشد ژنتیک تحت عنوان "بررسی میزان بیان ژن hTERT در رده سلول‌های سرطانی گردن رحم (Caski)" در سال ۹۳ می‌باشد که در مرکز تحقیقات نانو بیوتکنولوژی دانشگاه بقیه‌الله تهران انجام پذیرفت. از حمایت‌های مادی و معنوی دکتر حمیدرضا جوادی و مرکز تحقیقات ویروس‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله به‌ویژه جناب آقای مهدی تات قدردانی می‌گردد.

References

1. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer* 2010;127(12):2893-917.
2. Ferlay J, Steliarova-Foucher E, Lortet-Tieulent J, Rosso S, Coebergh JW, Comber H, et al. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: estimates for 40 countries in 2012. *Eur J Cancer* 2013;49(6):1374-403.
3. Farajzadegan Z, Nourbakhsh SF, Mostajeran M, Loghmani A. Cervical cancer screening status in 35 to 60 year-old women in Isfahan, Iran. *J Isfahan Med Sch* 2012;30(208):1542-8.
4. Nor Rizan K, Abdul Manaf A, Sabariah AR, Siti Aishah MA, Noorjahan Banu MA, Zubaidah Z. SyBr Green real-time PCR is a useful method in screening for high risk human papilloma virus types 16 and 18 in neoplastic cervical cancer. *Med Health* 2011;6(1):59-67.
5. Shay JW, Wright WE. Role of telomeres and telomerase in cancer. *Semin Cancer Biol* 2011;21(6):349-53.
6. Skvortsov DA, Gasparian NM, Rubtsova MP, Zvereva ME, Fedorova MD, Pavlova LS, et al. Telomerase as a potential marker for early diagnosing cervical carcinoma. *Dokl Biochem Biophys* 2006;408:158-60.
7. Jemal A, Ward E, Thun MJ. Recent trends in breast cancer incidence rates by age and tumor characteristics among U.S. women. *Breast Cancer Res* 2007;9(3):R28.
8. Kyo S, Inoue M. Complex regulatory mechanisms of telomerase activity in normal and cancer cells: how can we apply them for cancer therapy? *Oncogene* 2002;21(4):688-97.
9. Hsu YH, Lin JJ. Telomere and telomerase as targets for anti-cancer and regeneration therapies. *Acta Pharmacol Sin* 2005;26(5):513-8.
10. Pendino F, Tarkanyi I, Dudognon C, Hillion J, Lanotte M, Aradi J, et al. Telomeres and telomerase: Pharmacological targets for new anti-cancer strategies? *Curr Cancer Drug Targets* 2006;6(2):147-80.
11. Martín-Rivera L, Herrera E, Albar JP, Blasco MA. Expression of mouse telomerase catalytic subunit in embryos and adult tissues. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95(18):10471-6.
12. Avilion AA, Piatyszek MA, Gupta J, Shay JW, Bacchetti S, Greider CW. Human telomerase RNA and telomerase activity in immortal cell lines and tumor tissues. *Cancer Res* 1996;56(3):645-50.
13. Yi X, Tesmer VM, Savre-Train I, Shay JW, Wright WE. Both transcriptional and posttranscriptional mechanisms regulate human telomerase template RNA levels. *Mol Cell Biol* 1999;19(6):3989-97.
14. Shay JW. Telomerase therapeutics: telomeres recognized as a DNA damage signal: commentary re: K. Kraemer et al., antisense-mediated hTERT inhibition specifically reduces the growth of human bladder cancer cells. *Clin. Cancer Res.*, 9: 3794-3800, 2003. *Clin Cancer Res* 2003;9(10 Pt 1):3521-5.

Bryce و همکارانش گزارشی مبنی بر میزان بیان ژن hTERT در برخی سلول‌ها از جمله Caski و HeLa ارایه دادند.

بر پایه گفته آن‌ها میزان بیان ژن hTERT در رده سلولی Caski، به طور متوسط بین ۹ تا ۱۱ رونوشت در هر سلول و در سلول HeLa به طور میانگین بین پنج تا ۱۰ رونوشت در هر سلول می‌رسد.^{۱۶} این گزارش جز محدود گزارشات در دسترس و نزدیک به موضوع مورد مطالعه است که یافته‌های ما به لحاظ مقایسه بیان hTERT در نمونه‌های Caski و HeLa از تفاوت بیان ژن hTERT در این دو رده سلولی با این نتایج مشابهت داشت. چراکه بیان این ژن در سلول Caski بالاتر از نمونه سرطانی HeLa بود. به‌جز این مورد، موارد مشابهی در خصوص این دو رده سلولی مشاهده نشد.

با توجه به نتایج Student's t-test بر مبنای فرضیه صفر ۰/۰۵ نرم‌افزار GraphPad، $P=0/0319$ به‌دست آمده در یافته‌های ما بر پایه بیان hTERT نشان داد، میزان بیان ژن hTERT در رده‌های سلولی سرطانی Caski و HeLa تفاوت معناداری داشت که نمودارهای حاصل از نرم‌افزار Graphpad نیز تأییدکننده آن بود. این نمودارها به خوبی

15. Ramet J, van Esso D, Meszner Z; European Academy of Paediatrics Scientific Working Group on Vaccination. Position paper: HPV and the primary prevention of cancer; improving vaccine uptake by paediatricians. *Eur J Pediatr* 2011;170(3):309-21.
16. Bryce LA, Morrison N, Hoare SF, Muir S, Keith WN. Mapping of the Gene for the human telomerase reverse transcriptase, hTERT, to chromosome 5p15.33 by fluorescence in situ hybridization. *Neoplasia* 2000;2(3):197-201.

Investigation of hTERT gene expression levels in two cell lines infected by high-risk human papilloma virus

Abstract

Received: 15 Oct. 2015 Revised: 02 Sep 2016 Accepted: 09 Sep 2016 Available online: 10 Sep 2016

Maryam Akhtari M.Sc.¹
Mahdi Kamali Ph.D.^{2*}
Gholam Reza Javadi Ph.D.¹
Seyedeh Razieh Hashemi M.D.³

1- Department of Genetics, Science and Research Branch Islamic Azad University, Tehran, Iran.

2- Nanobiotechnology Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

3- Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Background: Human papilloma virus (HPV) is one of the most important factors in cervical cancer. Viral sequences are integrated into the host cell genome. In mild cases the virus causes skin damages, in severe cases it leads to cancer. Like many other cancers, telomerase gene expression was increased in cervical cancer. This enzyme is a reverse transcriptase that contains two common subunits: i) catalytic protein called human telomerase reverse transcriptase (hTERT) and, ii) RNA sequence called hTR. hTERT expression is hardly found in any somatic tissues. Detection of high telomerase activity in human cells, lead to tumor genesis. So hTERT can be used as a diagnostic tool in cancer detection.

Methods: This experimental study was carried out from May 2013 to April 2014 in Nanobiotechnology Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences in Tehran, Iran. Caski and Hela cancer cell lines were used which contain HPV16 and HPV18 respectively. Cell lines were cultured and total RNA was extracted. Following normalization agent glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GADPH), hTERT expression level was determining by real-time PCR method. For each sample, the expression level of hTERT and GAPDH were quantified as copy numbers (per reaction) using the standard curve. Finally, hTERT levels in Hela and Caski cell lines were compared quantitatively by t-test using GraphPad statistic software version 5 (San Diego, CA, USA).

Results: According to the charts real-time PCR, hTERT gene expression in Hela and Caski cancer cell lines is significantly different ($t=0.0319$).

Conclusion: All results confirm that hTERT expression levels in Hela and Caski cell lines are significantly different and the level of hTERT expression in the Caski cell line was slightly higher than that of Hela cell line. The significant difference between hTERT mRNA expression levels reported here could be used as a tumor marker for HPV16 and HPV18 in cervical cancer.

Keywords: cervical, cervix cancer, HPV, telomerase, uterine cervical neoplasms.

* Corresponding author: Nanobiotechnology Research Center, Baqiyatallah (AJ) University of Medical Sciences, Nosrati Alley, Sheikh bahai South Ave., Mollasadra St., Vanak, Tehran, Iran.
Tel: +98- 21- 88050466
E-mail: mehkamali@yahoo.co.uk