Research on Medicine

Original Article

The Quarterly journal of School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences

Vol.40; No.3; 2016

The evaluation of expression of genes, which are involved in gamma globin synthesis before and after differentiation of hematopoietic stem cells into erythroid lineage

Zahra Shamsi, Amir Atashi*, Saeid Abroun, Kaveh Tari, Mahshid AkhavanRahnama, Azadeh Anbarlou, Masoud Soleimani, Saeid Kaviani

Department of Hematology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

(Received: 2016/04/14 Accept:: 2016/11/14)

Abstract

Backgroundm: *Induction of fetal hemoglobin (Hb-F) can improve the patients' symptoms of haemoglobinopathies. Several factors can induce gamma globin gene expression and increased Hb-F levels in patients. In this study, the expression of genes is involved in regulation of gamma globin synthesis such as PIPKII-alpha, BCL11a, and miR-30a during CD34+ hematopoietic stem cell differentiation into erythroid lineage was studied.*

Material and Methods: *In this study, CD34+ cells were isolated from umbilical cord blood. Then, CD34+ cells were cultured in differentiation medium. Erythroid colonies were harvested on days 8, 11, 14 and gene expression of gamma globin, PIPKII-alpha, BCL11a, and miR-30a were analyzed by quantitative RT- PCR.*

Results: *: The results showed that gene expression of gamma-globin gradually at the 8th day after differentiation started and at 14th day reached to the highest level of its expression. In parallel with increasing the expression of gamma-globin (22-folds), the expression of PIPKII-alpha increased (2.5-folds), while the expression of BCL11a decreased (1.2-folds). Moreover, the expression of miR- 30a increased during differentiation into erythroid lineage (2.3-folds) ($P<0.05$).*

Conclusion: *The results indicated that increased expression of PIPKII-alpha and decreased expression of BCL11a during CD34+ cells differentiation to erythroid lineage. According to expression pattern of miR-30a and its target genes, PIPKII-alpha and BCL11a, we cannot suppose the inhibitory effect of miR-30a on PIPKII-alpha expression, but due to inhibitory effect of miR-30a on BCL11a gene, we can introduce this microRNA as a regulatory molecule in the induction of Hb-F pathway. However, the further studies are needed to investigate this interaction.*

Keywords: *Hemoglobinopathy, Gamma globin, PIPKII-alpha, BCL11a, miR-30a*

* *Corresponding author: Amir Atashi*
E-mail: atashia@modares.ac.ir

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-16]

پژوهش در پزشکی
فصلنامه علمی پژوهشی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی
مقاله پژوهشی
دور ۴۰، شماره ۳، ۱۳۹۵، صفحات ۱۲۵ تا ۱۳۰

بررسی بیان ژن‌های موثر در سنتز گاماگلوبین قبل و بعد از تمایز سلول‌های بنیادی خون‌ساز به رده سلول‌های اریتروئیدی

زهرا شمسی، امیر آتشی*، سعید آبرون، کاوه طاری، مهشید اخوان رهنما، آزاده انبارلو، مسعود سلیمانی، سعید کاویانی

گروه هماتولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۹۵/۱/۲۶ تاریخ پذیرش مقاله:۱۳۹۵/۸/۲۴

چکیده:

سابقه و هدف: القا هموگلوبین جنینی در بیماران مبتلا به هموگلوبینوپاتی علائم بیماری را بهبود می‌بخشد. عوامل متعددی می‌توانند بیان ژن گاماگلوبین را القا کرده و سبب افزایش میزان هموگلوبین جنینی در بیماران شوند. از آنجا که امروزه یکی از بهترین رویکردهای درمانی برای بیماران هموگلوبینوپاتی افزایش هموگلوبین جنینی است؛ در این مطالعه بیان ژن‌های دخیل در تنظیم سنتز گاما گلوبین نظیر *PIPKII-alpha* ، *BCL11a* و *miR-30a* در تمایز سلول‌های بنیادی خونساز *CD34+* به رده اریتروئیدی بررسی شد.

مواد و روش‌ها: این مطالعه از نوع تجربی بود. در این مطالعه از سلول های *CD34+* جدا شده از خون بندناف نوزادان سالم استفاده شد. سلول‌های *CD34+* در محیط کشت تمایزی کشت داده شد. کلونی‌های اریتروئیدی در روزهای ۸،۱۱ و ۱۴ جداسازی شدند و پس از تایید، بیان ژن‌های گاما گلوبین، *PIPKII-alpha*، *BCL11a* و *miR-30a* با استفاده از تکنیک کمی *Real-Time PCR* ارزیابی شده و با استفاده از فرمول آماری *t-test* آنالیز قرار شدند.

یافته‌ها: نتایج به دست آمده در این مطالعه نشان داد که در روزهای ۸،۱۱و ۱۴ بعد از تمایز، بیان کمی ژن گاما گلوبین به تدریج در روز هشتم شروع شده و در روز ۱۴ تمایز به اوج خود می‌رسد. به موازات افزایش ۲۲ برابری بیان گاماگلوبین، ژن *PIPKII-alpha* نیز روند افزایش ۲/۵ برابری از خود نشان داد؛ در حالی که بیان ژن *BCL11a* در طی تمایز، روند کاهشی تا حد ۱/۲ برابر داشت. علاوه بر این، بیان *miR-30a* در طی تمایز به سمت رده اریتروئیدی با افزایش ۲/۳ برابری همراه بود *(P <0.05)*.

نتیجه‌گیری: نتایج به دست آمده حاکی از افزایش بیان ژن *PIPKII-alpha* و کاهش بیان *BCL11a* در روند تمایز اریتروئیدی سلول‌های *CD34+* است. با توجه به الگوی بیان *miR-30a* و ژن‌های هدف آن یعنی *PIPKII-alpha* و *BCL11a* نمی توان اثر مهاری این *microRNA* را بر روی *PIPKII-alpha* مطرح کرد، ولی به دلیل اثر مهاری آن روی ژن *BCL11a* می‌توان این *microRNA* به عنوان یکی از مولکول‌های تنظیمی مسیر القای هموگلوبین *F* معرفی کرد. اگرچه مطالعه‌های بیشتری برای بررسی این ارتباط مورد نیاز است.

واژگان کلیدی: هموگلوبینوپاتی، گاماگلوبین، *PIPKII-alpha*، *BCL11a*، *miR-30a*

مقدمه:

تالاسمی مهم‌ترین بیماری در اثر اختلال در زنجیره بتای هموگلوبین A است. وجود زنجیره‌های باند نشده آلفا دلیل اصلی پاتوفیزیولوژیک این بیماری محسوب می‌شود. بر حسب شدت علائم بالینی اشکال هموزیگوت آن به نام تالاسمی ماژور و هتروزیگوت آن به نام تالاسمی مینور نامیده می‌شوند. تالاسمی ماژور شکلی از آنمی شدید است که در دوره‌های ابتدایی زندگی بعد از کاهش سنتز زنجیره گاما خود را بروز داده و همراه با برخی علائم نظیر اسپلنومگالی و تغییرهای استخوانی است. این بیماری شایع‌ترین بیماری ژنتیکی در جهان و نمونه بارزی از بیماری‌های ژنتیکی تک ژنی است(۱). کشور ایران یکی از مناطق جغرافیایی با میزان شیوع بالای بیماری تالاسمی است. تخمین زده شده است که حدود ۲ میلیون ناقل در کشور وجود دارد. بر اساس گزارش‌های سازمان انتقال خون، ۲۰ هزار نفر در ایران مبتلا به تالاسمی ماژور هستند(۲). نخستین گزارش این بیماری به سال ۱۹۷۹ برمی‌گردد و تا کنون ۳۷۱ نوع موتاسیون برای این بیماری گزارش شده‌است. با وجود تمامی درمان‌های مرسوم، کوشش‌ها در نهایت به فوت بیمار مبتلا به تالاسمی ماژور می‌انجامد(۳).

بیماری داسی شکل، یکی از اختلال‌های ژنتیکی و ارثی است که ناشی از

نویسنده مسئول: امیر آتشی
پست الکترونیک: *atashia@modares.ac.ir*

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-16]

جایگزینی اسید آمینه اسید گلوتامیک در موقعیت شماره ۶ زنجیره بتا به جای اسید آمینه والین است. در اثر این جایگزینی هموگلوبین در حالت داکسیژنه به صورت کریستاله در گلبول قرمز در می‌آید و گلبول قرمز به حالت داسی تغییر شکل می‌یابد. این بیماری با کم خونی همولیتیک مزمن، افزایش احتمال ابتلا به عفونت و انسداد عروقی همراه است. از مهم‌ترین عوارض ناشی از آن می‌توان به درگیری ریوی به صورت افزایش فشارخون ریوی و سندرم حاد تنفسی و عوارض مغزی و سکته مغزی اشاره کرد. پیوند مغز استخوان، تزریق خون و استفاده از داروهایی نظیر هیدروکسی اوره و ۵–آزاسیتیدین از جمله راه‌های درمانی این بیماری است(۶–۴).

از مهم‌ترین راه‌های درمان هموگلوبینوپاتی‌ها می‌توان به افزایش هموگلوبین F اشاره کرد که عوامل مختلفی می‌توانند در افزایش آن نقش داشته باشند. داروهایی نظیر ۵ – آزاسایتیدین، هیدروکسی اوره و بوتیرات به عنوان القا کننده هموگلوبین F استفاده شده است. با توجه به آثار نامطلوب داروها در افزایش هموگلوبین F راهکار درمانی جدیدی برای افزایش هموگلوبین F مشخص شده که شامل اهداف مولکولی برای القای هموگلوبین F است. در واقع در این نوع راهکار درمانی مولکول‌هایی که در مسیر تنظیم بیان هموگلوبین F و تعویض کلاس زنجیره گاما به بتا نقش دارند هدف می‌گیرند که مهم‌ترین آن‌ها ، BCL11a SOX، EKLF.1–۶، DRED، Ikaros، MYB و SSP هستند(۹–۷). یکی دیگر از روش‌های افزایش هموگلوبین F تغییر در بیان microRNA (miR) ها است. از مهم‌ترین آن‌ها می‌توان به miR -26b، miR-15a/16، miR-221/222، miR-210 و miR-96 اشاره کرد(۱۳–۱۰). از دیگر عوامل دخیل در افزایش بیان هموگلوبین F می‌توان به فسفاتیدیل اینوزیتول فسفات کینازها اشاره کرد که مهم‌ترین زیر گروه آن PIPKIIa است(۱۴,۱۵). PIPKII- alpha درفعالیت هایی نظیر تنظیم بیان ژن، پردازش pre-mRNA و خروج mRNA از هسته نقش دارد. همچنین خاموش شدن ژن PIPKII- alpha به افزایش گاما گلوبین، هموگلوبین F و کاهش عوارض بیماران مبتلا به تالاسمی و کم خونی داسی منجر می‌شود. خانواده miR-30 انسانی که از مهارکننده‌های BCL11a و PIPKII- alpha هستند، دارای ۵ عضو 30a، 30b، 30c، 30d، 30e است. همچنین آنالیزهای بیوانفورماتیک نشان داد که miR-30a هر دو ژن مورد مطالعه را هدف قرار می‌دهد و به این دلیل در این مطالعه این miR انتخاب شد. هدف از این مطالعه تجربی بررسی بیان ژن‌های دخیل در تنظیم بیان ژن گاماگلوبین طی اریتروپوئز سلول‌های بنیادی خونساز در محیط آزمایشگاهی است.

مواد و روش‌ها:

مطالعه حاضر از نوع مطالعه‌های تجربی بود و طی سال ۱۳۹۴ در دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پزشکی و گروه خون شناسی انجام شد.

جداسازی سلول‌های بنیادی خون ساز +CD34

نمونه‌های خون بند ناف از مرکز انتقال خون تهران جمع‌آوری شد و بلافاصله برای جداسازی سلول‌های تک هسته‌ای به آزمایشگاه انتقال یافت. برای جداسازی سلول‌های تک هسته‌ای از خون بند ناف ابتدا با استفاده از هیدروکسی اتیل استارچ به نسبت ۵ به۱ رقیق شد. سپس مایع رویی روی فایکول (GE Healthcare) با غلظت۱/۰۷۷ به نسبت ۱:۲ انتقال داده شد. سپس سلول‌های تک هسته‌ای با آنتی‌بادی ضد CD34 نشاندار شده (Miltenyi Biotec, USA) و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. در نهایت سلول‌های بنیادی خونساز +CD34 با استفاده از ستون MACS (Miltenyi Biotec, USA) جداسازی شدند(۱۲).

فلوسایتومتری:

تعیین هویت سلول‌های بنیادی خون‌ساز جداسازی شده با روش MACS با استفاده از روش فلوسیتومتری (ABI Attune Flow cytometer) انجام شد. سلول‌ها به مدت ۴۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با آنتی بادی مونوکلونال FITC anti-CD34 (eBiosciences, USA) انکوبه شدند. Mouse IgG1 به عنوان ایزوتایپ کنترل استفاده شد.

برای تایید کلنی‌های اریتروئیدی نیز از روش فلوسایتومتری استفاده شد. به این منظور، ابتدا سوسپانسیون سلولی از کلنی‌های اریتروئیدی تهیه شد. سپس سلول‌ها به مدت ۴۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با آنتی بادی مونوکلونال FITC anti-CD71 (eBiosciences, USA) انکوبه شدند. سپس سلول‌ها با بافر PBS شست‌وشو داده شدند و با آنتی بادی ثانویه به مدت ۴۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و در تاریکی انکوبه شدند.

تمایز اریتروئیدی:

سلول‌ها در محیط کشت نیمه جامد متیل سلولز H4434 (Stem Cell Technology) حاوی محیط کشت IMDM (Sigma) در انکوباتور با ۵ درصد رطوبت حداقل ۹۰ درصد، دمای ۳۷درجه سانتی‌گراد و دی اکسید کربن ۵ درصد و بدون تعویض محیط کشت قرار گرفتند. پس از تشخیص ریخت‌شناسی کلونی‌های اریتروییدی، این کلنی‌ها با کمک میکروپیپت در روزهای ۸، ۱۱ و ۱۴ از محیط کشت نیمه جامد برداشته شدند. برای به دست آوردن سوسپانسیون تک سلولی، کلونی‌های جمع‌آوری شده در۶ میلی‌لیتر بافر PBS سرد حاوی ۲ میلی مولار EDTA حل شدند. شمارش سلولی با استفاده از هموسیتومتر و بررسی درصد سلول‌های زنده با استفاده از رنگ‌آمیزی حیاتی تریپان بلو (Trypan Blue) انجام شد(۱۲).

تایید کلنی‌های اریتروئیدی:

تایید کلنی‌های اریتروئیدی با استفاده از رنگ‌آمیزی گیمسا و فلوسیتومتری انجام شد. برای رنگ‌آمیزی گیمسا، لام با روش سیتواسپین تهیه شد و رنگ‌آمیزی گیمسا انجام شد. در فلوسیتومتری بیان CD71 به عنوان شاخص تمایزی رده اریتروئیدی با استفاده از آنتی بادی FITC anti-CD71(eBiosciences, USA) بررسی شد.

Real-Time PCR:

ابتدا با استفاده از RNX plus و روش فنل کلروفرم، RNA از سلول‌های کشت داده شده استخراج شد. سنتز cDNA با استفاده از کیت سنتز cDNA خاص miRNA (Stratagene) و کیت CinnaGen برای ژن‌های گاماگلوبین و PIPKII-alpha و BCL11a انجام شد. PCR با استفاده از mastermix 2X PCR (CinnaGen) انجام شد. در پایان محصولات PCR درون چاهک‌های ژل ۲درصد آگارز ریخته شده و ارزیابی شدند. سپس Real Time PCR (inc. Applied Biosystem) برای بررسی بیان کمی ژن‌های مورد نظر با استفاده از RealQ PCR Master Mix (Ampliqon) و ژن‌های GAPDH و U6 به عنوان ژن Housekeeping انجام شد. توالی پرایمرها در جدول‌های زیر آمده است.

توالی پرایمرهای مورد استفاده برای ژن‌های PIP-Gamma globin ، BCL11a، KII–alpha و GAPDH

پرایمر	توالی پرایمر	دمای annealing	طول محصول(bp)
Gamma globin-F	TGTGGAAGATGCTGGAGGAGA	۶۰ °C	۷۱
Gamma globin-R	CAAAGAACCTCTGGGTCCATG		
PIPKII-alpha-F	CCACCGTTTGTCTGTGTATAGGA	۶۲ °C	۹۹
PIPKII-alpha-R	TTCAGAGTTGGCAGTTCTTTGG		
BCL11a-F	CGCAGCGACACCTTGTTCTTC	۶۱ °C	۸۹
BCL11a-R	GCTTCCATCCATCCGAAAACTGCC		
GAPDH-F	CGCTGAGTACGTCGTGGAGTC	۶۰ °C	۱۸۴
GAPDH-R	GCAGGAGGCATTGCTGATGA		

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-16]

توالی پرایمرهای مورد استفاده برای ژن‌های miR-30a و U6

پرایمر	توالی پرایمر	دمای annealing	طول محصول(bp)
hsa-miR-30a-F	TGTAAACATCCTCGACTGGAAG	۶۰°C	۷۵
U6-F	AAATTGGAACGATACAGAGAAGG	۶۰°C	۷۸

آنالیز آماری:

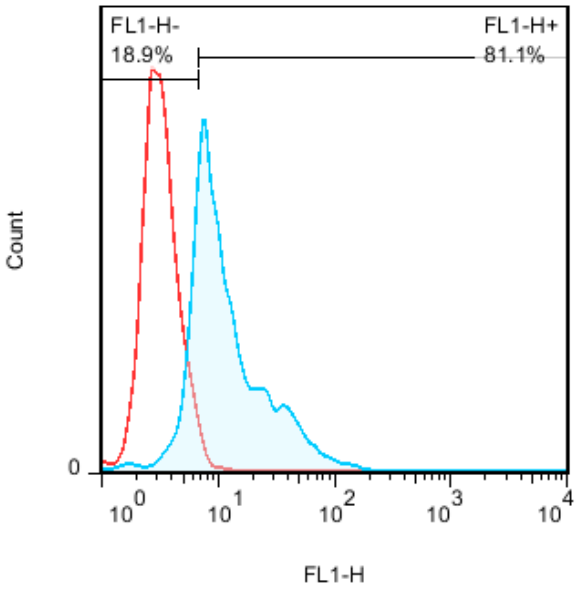
تمامی تست‌ها به صورت سه بار تکرار انجام شدند. آنالیز آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS 18.0 و T- test برای آنالیز آماری انجام شد. معناداری آماری کمتر از (P value<0.05)0.05 در نظر گرفته شد.

یافته‌ها:

بررسی خلوص سلول‌های بنیادی خون‌ساز جدا شده از خون بند ناف:

تعداد سه نمونه خون بند ناف برای جداسازی سلول‌های بنیادی خونساز استفاده شد. نتایج فلوسیتومتری با آنتی CD34-FITC به طور میانگین خلوص ۸۱/۱ درصد را برای سلول‌های جداسازی شده نشان دادند که گراف فلوسیتومتری آن در شکل ۱ آورده شده است.

نتایج بررسی فلوسیتومتری سلول‌های بنیادی خون‌ساز جدا شده به روش MACS از نظر درصد مارکر +CD34 قبل از تمایز. نتایج حاصل خلوص ۸۱/۱ درصد را نشان می‌دهند.



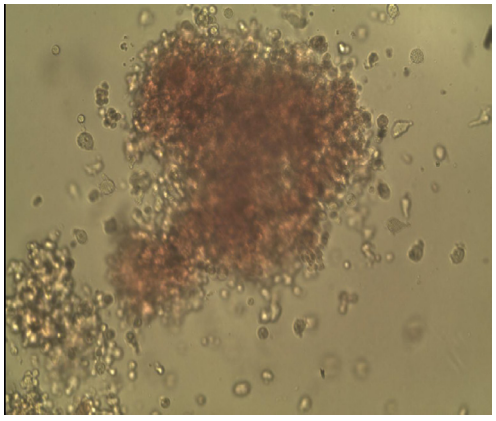
شکل ۱. ارزیابی خلوص سلول‌های بنیادی (CD34-FITC) +CD34.

ارزیابی مورفولوژیک کلنی، رنگ‌آمیزی و فلوسیتومتری بعد از تمایز به رده اریتروئیدی

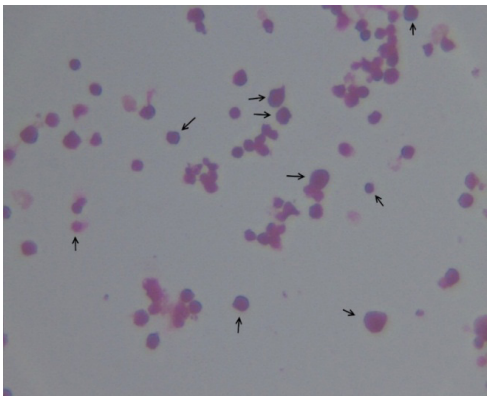
مورفولوژی کلنی‌ها نشان‌دهنده تمایز سلول‌های خون‌ساز به سمت رده ایتروئیدی بودند (شکل ۲). همچنین رنگ‌آمیزی گیمسا نشان‌دهنده تمایز بود (شکل ۳). فلوسیتومتری کلنی‌های اریتروئیدی نشان داد که حدود ۷۰درصد سلول‌ها مارکر CD71 بیان می‌کنند (شکل ۴).

بررسی بیان PIPKII-alpha، miR-30a، گاما گلوبین و BCL11a بعد از تمایز به رده اریتروئیدی

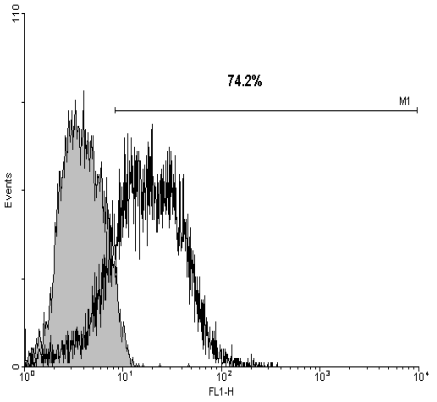
بیان miR-30a در روزهای ۸، ۱۱ و ۱۴ به ترتیب افزایش ۱/۹، ۱/۳و ۲/۳ را نشان داد که نسبت به گروه کنترل معنادار بود (P-value<0.05) (شکل ۵). همچنین ژن‌های PIPKII-alpha (به ترتیب ۰/۹، ۱/۸ و ۲/۵ برابر)و گاما گلوبین (به ترتیب



شکل ۲.کلنی اریتروئیدی را پس از ۱۴ روز در محیط کشت القا کننده تمایز نشان می‌دهد. بزرگنمایی ۴۰۰×

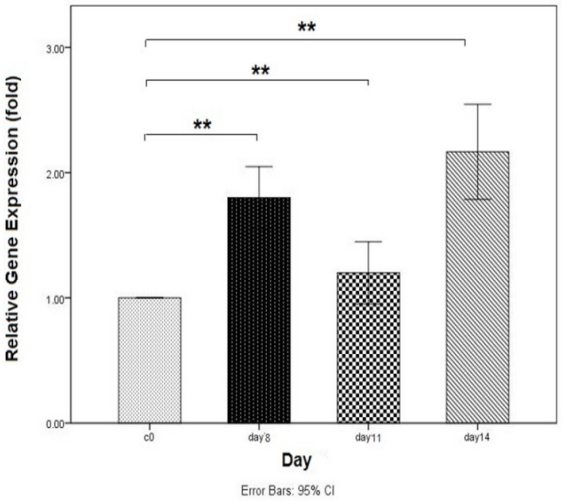


شکل۳. سلول های اریتروئیدی حاصل از تمایز و رنگ‌آمیزی شده با رایت گیمسا که با نشانگر نشان داده شده است. بزرگنمایی اولیه ۱۰۰۰×

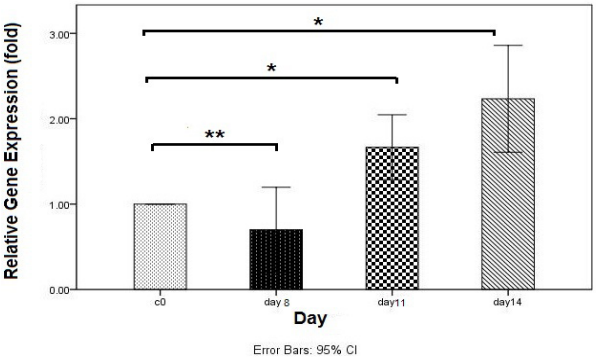


شکل ۴. نتیجه مربوط به درصد بیان مارکر CD71 در روز ۱۴ تمایز. ۷۴ درصد سلول‌ها مارکر CD71 را بیان می‌کنند.

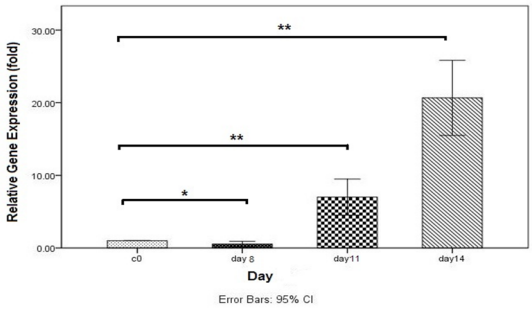
[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-16]



شکل ۵. افزایش بیان ژن miR-30a در روزهای ۸، ۱۱ و۱۴ تمایز
(P-value <0.01 **, P-value <0.001 *)**



شکل ۶. افزایش بیان ژن PIPKII-alpha در روزهای ۸، ۱۱ و ۱۴
(P-value <0.05 *, P-value <0.01 **, P-value <0.001 *)**

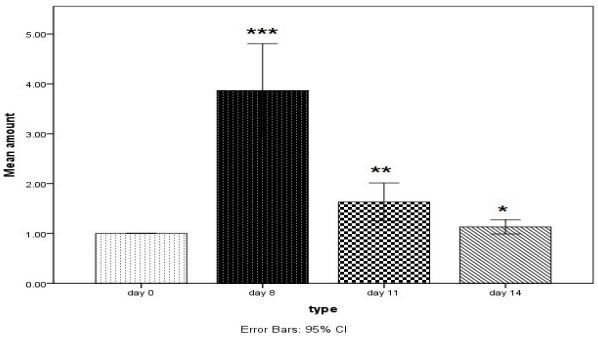


شکل ۷. افزایش بیان ژن گاما گلوبین در روزهای ۸، ۱۱ و ۱۴ تمایز
(P-value <0.05 *, P-value <0.01 **, P-value <0.001 *)**

۰/۷، ۸ و ۲۲برابر) افزایش بیان معناداری را به ترتیب در روزهای ۸، ۱۱ و ۱۴ نشان دادند (P-value<0.05) (شکل۶ و۷). درحالی که بیان ژن BCL11a کاهش معناداری را نشان داد (P-value<0.05) (شکل ۸).

بحث:

جست وجو برای پیدا کردن استراتژی های نو برای درمان اختلال‌های زنجیره بتا از دهه ۸۰ رونق گرفت. این جست وجو در بسیاری از موارد به خصوص معطوف به درمان بیماری شایع تالاسمی شد. نشان داده شده است که حتی مقادیر کمی



شکل ۸. کاهش بیان ژن BCL11a طی روزهای ۸، ۱۱ و ۱۴ تمایز
(P-value <0.05 *, P-value <0.01 **, P-value <0.001 *)**

از هموگلوبین جنینی در بیماران مبتلا به کم خونی داسی یا مبتلا به تالاسمی می تواند عوارض بالینی را تا حد زیادی تخفیف دهد(۱۶)alpha(۲. امروزه مسیرهای درمانی جدیدی برای القای هموگلوبین F مورد توجه قرار گرفته است که از جمله آن‌ها می‌توان به هدف قرار دادن مولکول‌های تنظیم کننده بیان هموگلوبین F و مولکول‌هایی که در مسیر هموگلوبین سوئیچینگ (تعویض کلاس زنجیره گاما به بتا) نقش دارند و همچنین مولکول‌هایی که در مکانیسم‌های تنظیمی به واسطه داروها نقش دارند اشاره کرد. یکی از مهم‌ترین ژن‌های دخیل در هموگلوبین سوئیچینگ می‌توان به BCL11a اشاره کرد. BCL11a یک فاکتور رونویسی است که موجب سوئیچ زنجیره گاما به بتا و افزایش آن باعث کاهش تولید F-Hb می‌شود(۱۷). در این مطالعه بیان ژن گاما گلوبین در مراحل اولیه اریتروپوئز بیان پایینی داشت و به تدریج با تمایز بالا رفت. در نتیجه بیان ژن BCL11a باید هنگام اریتروپوئز کاهش یابد که در مطالعه حاضر نیز این کاهش بیان هنگام تمایز به سمت رده اریتروئیدی مشاهده شد. از طرفی دیگر مطالعه‌های اندکی به نقش احتمالی PIPKII-alpha در سنتز گلوبین‌ها اشاره کرده‌اند(۱۸,۱۹). وبتو و همکارانش(۲۰۱۴) همچنین نشان دادند که بیان ژن PIPKII- alpha طی تمایز اریتروئیدی افزایش می‌یابد(۱۸). نتایج این مطالعه نشان داد که در طول تمایز اریتروئیدی بیان PIPKII- alpha در روزهای مورد مطالعه نسبت به نمونه کنترل افزایش می‌یابد که با مطالعه وبتو و همکارانش(۲۰۱۴) تطابق دارد.

یکی از عوامل تنظیمی بیان پروتئین‌ها از جمله پروتئین هموگلوبین miRNA ها هستند. برای مشخص شدن بهتر مولکول‌های دخیل در تنظیم بیان هموگلوبین و نقش miRNAs در کنترل بیان ژن‌ها آنالیز بیوانفورماتیک انجام شد. آنالیزهای بیوانفورماتیک نشان داد که miR-30a هر دو ژن مورد مطالعه را هدف قرار می‌دهد. چونگ (Choong) و همکارانش (۲۰۰۷(نشان دادند که این miR طی تمایز اریتروئیدی افزایش بیان دارد(۲۰) که با نتایج مطالعه حاضر تطابق دارد. از طرف دیگر جیانگ (Jiang) و همکارانش نشان دادند که BCL11a یکی از ژن‌های هدف miR-30a است(۲۱). با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان استنباط کرد که افزایش بیان miR-30a به کاهش بیان ژن BCL 11a طی اریتروپوئز منجر می‌شود که با برداشته شدن اثر مهاری این فاکتور رونویسی بیان گاما گلوبین طی تمایز به سمت رده اریتروئیدی افزایش می‌یابد. همان‌طور که نتایج نشان داد، افزایش بیان miR-30a با کاهش بیان ژن PIPKII- alpha همراه نبود و می‌توان عنوان کرد که به احتمال ارتباط مستقیمی بین آن‌ها وجود ندارد. البته این احتمال نیز وجود دارد که miR-30a کنترل PIPKII-alpha را تا حدودی بر عهده داشته باشد، ولی وجود القاگرهای قوی‌تر احتمالی دیگری اجازه نمی‌دهند اثر مهاری miR-30a نمود پیدا کند. به هرحال مطالعه‌های بیشتری لازم است تا مکانیسم دقیق این ارتباط بین ژن‌های دخیل در سنتز هموگلوبین و بیان miR-30a مشخص شود. در مجموع می‌توان گفت که نتایج به دست آمده حاکی از افزایش بیان PIPKII-alpha و کاهش بیان BCL11a در روند تمایز اریتروئیدی سلول‌های+CD34 است. با توجه به الگوی بیان miR-30a و ژن‌های هدف آن یعنی PIPKII-alpha و BCL11a نمی‌توان اثر مهاری این microRNA را روی PIPKII-alpha مطرح کرد، ولی به دلیل اثر مهاری آن روی ژن BCL11a می‌توان این microRNA به عنوان یکی از مولکول‌های تنظیمی مسیر القای هموگلوبین F معرفی کرد؛ اگرچه مطالعه‌های بیشتری برای بررسی این ارتباط مورد نیاز است.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-16]

منـابع:

1. Liaska A, Petrou P, Georgakopoulos CD, Diamanti R, Papaconstantinou D, Kanakis MG, et al. β-Thalassemia and ocular implications: a systematic review. BMC Ophthalmol. 2016;16(1):102.

2. Najmabadi H, Karimi-Nejad R, Sahebjam S, Pourfarzad F, Teimourian S, Sahebjam F, et al. The β-thalassemia mutation spectrum in the Iranian population. Hemoglobin. 2001;25(3):285–96.

3. Sankaran VG, Nathan DG. Thalassemia: an overview of 50 years of clinical research. Hematol Oncol Clin North Am. 2010;24(6):1005–20.

4. Stuart MJ, Nagel RL. Sickle-cell disease. Lancet. 2004;364(9442):1343–60.

5. Meier ER, Rampersad A. Pediatric Sickle Cell Disease - Past Successes and Future Challenges. Pediatr Res. 2016; [Epub ahead of print].

6. Steven A, Raghavan P, Rath TJ, Gandhi D. Neurologic and Head and Neck Manifestations of Sickle Cell Disease. Hematol Oncol Clin North Am. 2016;30(4):779–98.

7. Zhou D, Liu K, Sun C-W, Pawlik KM, Townes TM. KLF1 regulates BCL11A expression and gamma-to beta-globin gene switching. Nat Genet. 2010;42(9):742–4.

8. Sankaran VG, Menne TF, Xu J, Akie TE, Lettre G, Van Handel B, et al. Human fetal hemoglobin expression is regulated by the developmental stage-specific repressor BCL11A. Science. 2008;322(5909):1839–42.

9. Jiang J, Best S, Menzel S, Silver N, Lai MI, Surdulescu GL, et al. cMYB is involved in the regulation of fetal hemoglobin production in adults. Blood. 2006;108(3):1077–83.

10. Zhang Z, Sun H, Dai H, Walsh R, Imakura M, Schelter J, et al. MicroRNA miR-210 modulates cellular response to hypoxia through the MYC antagonist MNT. Cell cycle. 2009;8(17):2756–68.

11. Sankaran VG, Menne TF, Šćepanović D, Vergilio J-A, Ji P, Kim J, et al. MicroRNA-15a and-16-1 act via MYB to elevate fetal hemoglobin expression in human trisomy 13. Proc Natl Acad Sci. 2011;108(4):1519–24.

12. Gabbianelli M, Testa U, Morsilli O, Pelosi E, Saulle E, Petrucci E, et al. Mechanism of human Hb switching: a possible role of the kit receptor/miR 221-222 complex. Haematologica. 2010;95(8):1253–60.

13. Azzouzi I, Moest H, Winkler J, Fauchère J-C, Gerber AP, Wollscheid B, et al. MicroRNA-96 directly inhibits γ-globin expression in human erythropoiesis. PLoS One. 2011;6(7):e22838.

14. Zaccariotto TR, Lanaro C, Albuquerque DM, Santos MN, Bezerra MA, Cunha FG, et al. Expression profiles of phosphatidylinositol phosphate kinase genes during normal human in vitro erythropoiesis. Genet Mol Res GMR. 2012;11(4):3861.

15. Tang DC, Zhu J, Liu W, Chin K, Sun J, Chen L, et al. The hydroxyurea-induced small GTP-binding protein SAR modulates gamma-globin gene expression in human erythroid cells. Blood. 2005;106(9):3256–63.

16. Thein SL, Menzel S, Lathrop M, Garner C. Control of fetal hemoglobin: new insights emerging from genomics and clinical implications. Hum Mol Genet. 2009;18(2):216-23.

17. Xu J, Peng C, Sankaran VG, Shao Z, Esrick EB, Chong BG, et al. Correction of sickle cell disease in adult mice by interference with fetal hemoglobin silencing. Science. 2011;334(6058):993–6.

18. de Albuquerque Wobeto VP, Machado-Neto JA, Zaccariotto TR, Ribeiro DM, Duarte A da SS, Saad STO, et al. PIPKIIα is widely expressed in hematopoietic-derived cells and may play a role in the expression of alpha- and gamma-globins in K562 cells. Mol Cell Biochem. 2014;393(1–2):145–53.

19. Wenning MRSC, Mello MP, Andrade TG, Lanaro C, Albuquerque DM, Saad STO, et al. PIP4KIIA and β-globin: Transcripts differentially expressed in reticulocytes and associated with high levels of Hb H in two siblings with Hb H disease. Eur J Haematol. 2009;83(5):490–3.

20. Choong ML, Yang HH, McNiece I. MicroRNA expression profiling during human cord blood-derived CD34 cell erythropoiesis. Exp Hematol. 2007;35(4):551–64.

21. Jiang B, Zhang X, Su J, Meng W, Yang X, Yang J, et al. BCL11A overexpression predicts survival and relapse in non-small cell lung cancer and is modulated by microRNA-30a and gene amplification. Mol Cancer. 2013;12(1):1.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-16]