بررسی ارتباط بین اثر افزایشی mir-210 و بیان زنجیره گاما هموگلوبین

دکتر سید امیرحسین امامی[۱]، شاهین محمدی[۲]، دکتر سعید کاویانی[۳]
دکتر مسعود سلیمانی[۳]، دکتر شعبان علیزاده[٤]، احترام دژبخش[۵]
فاطمه کوهکن[۶]، مجید مصاحبی[۷]، دکتر حسین درگاهی[۸]

چکیده

زمینه وهدف: microRNA ها دسته‌ای ازRNAهای کوچک غیر کدکننده‌ای هستند که در فرآیندهای متعدد سلولی از قبیل تکثیر، تمایز، آپوپتوز و سرطان نقش دارند. مطالعات اخیر افزایشmiR-210 را در طی تمایز پیش سازهای خونی به رده اریتروئیدی نشان داده‌اند. هدف از مطالعه حاضر بررسی تاثیر افزایشی MiR-210 بر تغییر بیان هموگلوبین گاما در رده سلولی k562 می‌باشد.

روش بررسی: ابتدا رده سلولی k562 در محیط RPMI1640 کشت داده شد. pre-miR-210 توسط لیپوفکتامین به سلول K562 انتقال داده شد. افزایش بیان pre-miR-210 با miRNA real time-PCR تایید شد سپس تغییر الگوی بیان هموگلوبین گاما در روز ۷ و ١٤ باRT-PCR و real time pcr بررسی گردید.

یافته‌ها: نتایج نشان دادند که افزایش miR-210 در رده سلولی K562 باعث ۲۵برابر افزایش بیان هموگلوبین گاما نسبت به نمونه کنترل می‌شود. آنالیز داده‌ها معنی دار بودن الگوی تغیرات بیان هموگلوبین گاما نسبت به سلول کنترل را نشان داد($p\leq ۰/۰۰۰۲$).

نتیجه گیری: بر اساس یافته‌ها افزایش miR-210 می‌تواند بیان زنجیره گاما را به طور چشمگیری افزایش دهد. از این رو پس از مطالعات تکمیلی، افزایش miR-210 می‌تواند هدف مناسبی در بهبود آنمی داسی و تالاسمی بتا باشد.

واژه‌های کلیدی: microRNA، miR-210، K562

* نویسنده مسئول :
دکتر حسین درگاهی ؛
دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران
Email :
Hdargahi@sina.tums.ac.ir

- دریافت مقاله : خرداد ۹۰ - پذیرش مقاله : آبان ۹۰

مقدمه

Micro RNA ها ملکول‌های کوچکی از خانواده RNA هستند که دسته‌ای از مکانیسم‌های اپی ژنتیکی را پیش می‌برند.

[۱] دانشیار گروه خون و آنکولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران
[۲] کارشناش ارشد هماتولوژی و بانک خون دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران
[۳] استادیار گروه هماتولوژی و بانک خون دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس
[٤] استادیار گروه هماتولوژی و بانک خون دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران
[۵] کارشناس ارشد ایمونولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شیراز
[۶] دانشجوی دکترای ژنتیک مولکولی دانشکده علوم زیستی دانشگاه تربیت مدرس
[۷] کارشناش ارشد هماتولوژی و بانک خون دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس
[۸] دانشیار گروه مدیریت خدمات بهداشتی درمانی دانشکده پیراپزشکی عضو مرکز تحقیقات مدیریت اطلاعات سلامت دانشگاه علوم پزشکی تهران

علی رغم عملکرد اساسی miRNA ها در بیولوژی، ملکول‌های مذکور تا سال ۱۹۹۳ برای جهان علم ناشناخته بودند تا زمانی که Lin-4 در کرم C.Elegans توسط Lee شناسایی گردید. هفت سال بعدLet 7 در C.Elegans وتوالی‌های مشابه در ژنوم یوکاریوتها شناسایی شدند. در سال ۲۰۰۱ برای اولین بار واژه miRNA برای نامگذاری این RNAهای کوچک بکار گرفته شد. تاکنون بالغ بر۱۰۰۰ عدد miRNA در پروکاریوت‌ها و یوکاریوت‌ها شناخته شداست. سهم ژنوم انسان از این تعداد قریب به ۷۰۰ عدد می‌باشد. miRNA های بالغ ٢٤-١٩ نوکلئوتید طول

Archive of SID
www.SID.ir

داشته، تک رشته‌ای و غیرکد بوده و بیان ژن هدف را از طریق اتصال به 3′UTR و احتمالا 5′UTR، mRNA تنظیم می‌کنند. در انسان حدود ۳۰-۱۰ درصد ژنوم توسط miRNA کنترل می‌گردد.

مولکول‌های مذکور در روندهای حیاتی سلول مانند تکثیر، پیری سلولی، آپوپتوز، متابولیسم و تمایز سلولی نقش دارند. الگوی بیان miRNA ها در بافت‌های مختلف متفاوت می‌باشد. تحقیقات اخیر نشان داده است که miRNA ها نقش اساسی در تنظیم خونسازی داشته و این کار را ازطریق کنترل تنظیمات کلیدی مانند فاکتورهای خونسازی، گیرنده فاکتورهای رشد، گیرنده کموکین‌ها انجام می‌دهند و در نتیجه هرگونه بدتنظیمی یا مشکل در بیان آنها منجر به اختلالات خونی خواهد شد(۵-۱).

مطالعات متعددی بیان miRNA های مختلف را در طی تمایز اریتروئیدی بررسی نمودند، اما اخیرا به نقش miR-210 به عنوان یک miRNA کلیدی در تمایز اریتروئیدی توجه عمده‌ای معطوف شده است. miR-210 در بخش اینترونی یک ژن غیر کد کننده در کروموزم ۱۱ کد می‌شود. توالی mir-210 بالغ 66-CUGUGCGUGUGACAGCGGCUGA-87 می‌باشد. این miRNA درطول بلوغ اریتروستی دچار افزایش بیان می‌شود.

Kosaka و همکاران(۲۰۰۸) با بررسی پروفایل بیانی بیش از ۳۰۰ مmiRNA مختلف نشان دادند که متعاقب افزودن اریتروپوئتین بیان mir-188, 210,360 در رده سلولی UT7/Epo افزایش می‌یابد(٦).

Yang و همکاران(۲۰۰۹) با القای اریتروپوئز بواسطه همین در رده سلولیK562 و سلولهای+CD34 بند ناف دریافتند که mir-126 در این سلول‌ها افزایش داشته و mir-103, 130a,210, 18b با کاهش بیان مواجه است(۷). Bianchi وهمکارانش نشان دادند که در سلولهای k562 درمان شده با میترمایسین (mitermysin) افزایش سطح mir-210 با افزایش تمایز اریتروئیدی و بیان ژن هموگلوبین F مرتبط می‌باشد(۸).

رده سلولی K562 یک لاین سلولی برگرفته از لوسمی میلوئیدی مزمن بوده و این سلول‌ها خصوصیات اولیه اریتروسیتی نیز دارند. برخی از کلون‌های این رده سلولی قابلیت بیان میزان کمی از هموگلوبین‌های جنینی را دارند.

از آنجا که تغییرات میزان بیان زنجیره‌های همو گلوبین‌های مختلف به عنوان یکی از شایع ترین اختلالات ژنی انسان بوده و بیماری‌های گسترده را شامل می‌شوند، بنابراین شناسایی عواملی که قادر به افزایش بیان زنجیره‌های همو گلوبین‌های مختلف و اصلاح این اختلالات شوند، بسیار ارزشمند خواهند بود. لذا، در تحقیق مذکور، رده سلولی K 562 به عنوان مدلی برای مطالعه تاثیر افزایش بیان miR-210 در تغییرالگوی بیان زنجیره گاما انتخاب گردید تا در صورت کسب نتایج رضایت بخش مطالعات تکمیلی بعدی طراحی و اجرا شود.

روش بررسی

کشت سلولی

در تحقیق حاضر رده سلولی K562 جهت مطالعه از بانک سلولی ایران تهیه گردید.

سلولهای مذکور در محیط RPMI1640(Gibco,USA) حاوی FBS(Gibco) ۱۰٪ و در شرایط مناسب دمای ۳۷ درجه سانتیگراد، رطوبت حدود ۹۵٪ و CO2 ۵٪ پاساژ داده شدند.

پس از چند پاساژ سلولها از نظر درصد زنده بودن با تریپان بلو ارزیابی شدند که درصد زنده بودن انها رضایت بخش و حدود ۹۸٪ بود. قبل از انتقال(Transfection) سلول‌ها به تعداد ۸۰۰۰۰ در

www.SID.ir

Archive of SID

گروههای(تست وکنترل) جداگانه شمارش و در پلیت‌های ۱۲ خانه تقسیم گشتند.

پیش ساز miR-210 (از شرکت Ambion) تهیه و طبق پروتکل کیت آماده گردید. همچنین از کنترل منفی Ambion نیز به منظور جلوگیری از گزارش تاثیر غیر اختصاصی احتمالی pre -miR استفاده گردید.

انتقال Pre- miR به سلولهای K562

Pre- miR-210 با استفاده از لیپوفکتامین ۲۰۰۰ (Invitrogen,USA) به صورت زیر به سلولهای K562 انتقال داده شدند که ابتدا ٤ میکرولیتر لیپوفکتامین و pre miR-210 بـه میـزان pmol ۳۰ هـر کدام در ۲۰۰ میکرو لیتر از محیط OPTIMEM(اوپتیمم) (Gibco, USA)رقیق شدند و ۵ دقیقه در دمای محیط انکوبه گردیدند. سپس محتوای دو لوله با هم مخلوط شده و پس از ۳۰ دقیقه انکوبه در دمای محیط، به پلیت سلولی از قبل آماده شده اضافه گردید. انتقال کنترل منفی با همین روش انجام گرفت. به منظور نگهداشتن قدرت افزایشی، انتقال pre miR هر ۳ روز یکبار تکرار شد.

استخراج RNA

روز هفتم پس از انتقال، نمونه‌های تست، کنترل منفی و کنترل جمع آوری گردیده و با استفاده از معـرف (iNtRON) Biotechnology,Inc easy-blue استخراج RNA طبق پروتکل انجام گردید. سپس برای اطمینان از کمیت و کیفیت RNA استخراج شده، جذب نوری آن در طول موج‌های ۲٦۰/۲۸۰ قرائت گردید. برای جلوگیری از آلودگی باDNA ژنومی، RNA های استخراج شده بوسیله آنزیم DNAseI مطابق دستورالعمل(Fermentas) تیمار شدند.

سنتز cDNA

سنتز cDNA با استفاده از کیت سنتز(cDNA(Bioer انجام شد. به این منظور 20ng از RNA به مخلوطی از ۱ میکرولیتر پرایمر oligodt، ۰/۵میکرولیتر آنزیمAMV، ٤ میکرولیتر بافر4x، ۰/۵ میکرولیتر مهارکننده‌RNAse، ۱ میکرولیترdNTP mix، اضافه شده و با آب عاری از نوکلئاز به حجم ۲۰ میکرولیتر رسانده شد و سپس با برنامه زیر در دستگاه ترموسیکلر قرار گرفت(جدول۱).

جدول ۱ : چرخه دمایی سنتز cDNA سلول رده K562

زمان (دقیقه)	دما (درجه سانتی گراد)
۱۰ دقیقه	دمای اتاق (۲۵)
٤۵ دقیقه	٦۰-٤۲ درجه سانتی گراد
۵ دقیقه	۹۵ درجه سانتی گراد
۵ دقیقه	حمام یخ (٤ درجه)

واکنشQRT-PCR برای زنجیره گاما

برای مطالعه تغییر در بیان زنجیره گاما هموگلوبینcDNA سنتز شده روز ۷ و ١٤ با استفاده از پرایمرهای زیرتحت واکنش Real time-PCR قرار گرفتند(جدول۲). در این واکنش GAPDH به عنوان کنترل داخلی استفاده گردید.

جدول ۲: توالی پرایمرهای هموگلوبین γ و GAPDH

Hemoglobin γ	F:GGAGGACAAGGCTACTATCA
	R:GAATTCTTTGCCGAAATGGA
GAPDH	F: GCTGAGTACGTCGTGGAGTC
	R: GCAGGAGGCATTGCTGATG

Archive of SID

www.SID.ir

پس از انتقال پیش ساز، از نمونه‌های روز سوم و هفتم به منظور بررسی میزان افزایش و کاهش بیان Pre- miR-210 مطالعه شدند. به دلیل کوتاه بودن طول miRNA ها ردیابی آنها با استفاده از real time PCR معمولی امکان پذیر نمی‌باشد بنابراین از کیت miRNA QPCR(stratgene) استفاده گردید.

واکنش miRNA QRT-PCR

بوسیله کیت سنتزmiRNA 1st-Strand cDNA ابتدا miRNA ها پلی آدنیلاسیون شده و سپس به cDNA تبدیل می‌شود.

در مرحله بعد این cDNA با استفاده از پرایمر عمومی(Universal) و پرایمر اختصاصی (طراحی شده) تحتQPCR قرار گرفت. دمای بهینه برای اتصال هر دو پرایمر ٦٠ درجه می‌باشد. برنامه ترموسیکلر بر اساس دستورالعمل سازنده کیت به صورت زیر در جدول ۳ تنظیم گردید.

جدول۳: برنامه ترموسیکلر

تکرار	زمان	دما [درجه سانتیگراد]
۱ سیکل	۵ دقیقه	۹٤
۴۰ سیکل	۱۰ ثانیه	۹٤
	۳ ثانیه	٦٠ (قرائت)

محاسبات آماری

بیان نسبی ژن گاما در نمونه‌های کنترل و تست با استفاده از رابطه $2^{-\Delta\Delta ct}$ محاسبه گردید.

نتایج نشان داده شده میانگین ۳ بار آزمایش مستقل و بصورت دوبار تکرار می‌باشند تفاوت بیان زنجیره گاما در نمونه کنترل و تست با روش student t-test مورد بررسی قرار گرفت و سطوح P value کمتر از ۰/۰۵ از لحاظ آماری معنی دار فرض گردید.

یافته‌ها

جهت انتقال بهینه از غلظت‌های مختلف اسکرامبل (scramble) استفاده گردید تا غلظت بهینه که بیشترین کارایی و کمترین سمیت را داشته باشد انتخاب شود.

سپس با استفاده از فلوسیتومتری میزان انتقال به سلول‌های K562 ارزیابی گردید. در حالت بهینه میزان انتقال premiR-210 با لیپوفکتامین حدود ۵۷٪ بدست آمد.

جهت بررسی سطح pre- mir-210 پس از انتقال pre mir از کیت اندازه گیری miRNA شرکت stratagene استفاده شد. در این کیت از پرایمر U6 RNA به عنوان کنترل داخلی استفاده گردید. بعد از گذشت ۳ روز از انتقال pre miR سطح miR-210 در مقایسه با سلولهای کنترل ۱۷ برابر افزایش یافته بود.

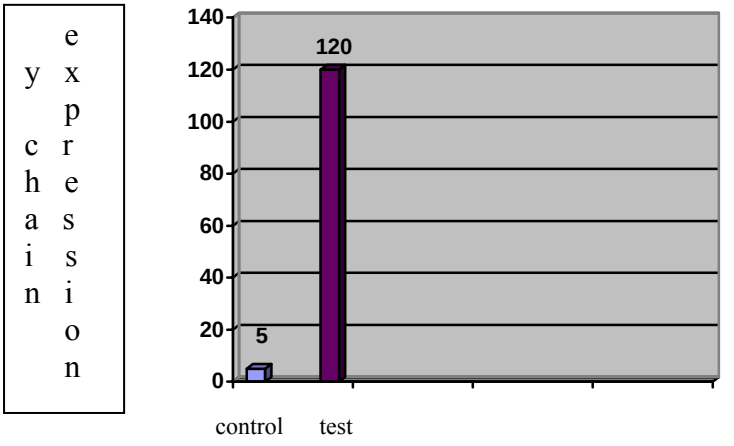
همانطور که قبلا ذکر شد جهت بالا نگهداشتن سطح mir در محیط انتقال pre miR هر۳ روز یکبار تکرار شد.

از آنجایی که سلولهایK562 از منشاء CML با خصوصیات اریترولوسمی می‌باشند، بنابراین پس از انتقال miRNA با روشRT-PCR نمی‌توان بطور کمی تغییرات ناشی از تاثیر افزایشی miRNA را تخمین زد، زیرا در رده K562 تمامی باندهای هموگلوبین و همچنین فاکتورهای GATA-1 را بیان می‌کند. بنابراین، برای مقایسه کمی بیان زنجیره گاما در تست و کنترل از روشReal Time PCR Relative استفاده گردید.

نمودار ۱ بررسی الگوی بیان زنجیره گاما با واکنش real Time PCR را نشان می‌دهد که بیان زنجیره گاما در نمونه انتقال یافته با mir-۲۱۰ در مقایسه با نمونه کنترل ٢٤ مرتبه افزایش دارد که این تفاوت به لحاظ آماری معنی دار می باشد.

value با روش student t-test مورد بررسی قرار گرفت و سطوح P value کمتر از ۰/۰۵ از لحاظ

Archive of SID
www.SID.ir



نمودار ۱: مقایسه بیان هموگلوبین گاما گروه تست وکنترل

آماری معنی دار فرض گردید($P\leq ۰/۰۰۲$).

بحث

خونسازی فرایند بسیار پیچیده و چند مرحله‌ای است که طی آن از یک سلول مادری واحد(HSC) سلولهای مختلف خونی با خصوصیات و وظایف مختلف تولید می‌گردد. این روند ناشی از تعامل و همکاری فاکتورهای رشد، فاکتورهای رونویسی و بسیاری از مولکولهای دیگر می‌باشد. تولید گلبولهای قرمز یک فرایند دینامیک و به شدت تنظیم شده است.

محل تولید این سلولها در بزرگسالان، مغز استخوان می‌باشد که طی یک روند تمـایزی با گذر از مراحـل پرونورموبلاست تا گلبول قرمز بالغ وارد خون می‌شوند.

اصلی‌ترین سیتوکین دخیل در اریتروپوئز فاکتـور مترشحه از کلیه اریتروپویتین نام داشته و فاکتورهـای رونویسی مهم دیگر در این روند نیـز شامل SCL ,EKLF ,FOG-1 ,GATAII ,GATA- ,HIF ,EPO IL3 ,IL9 ،CBP ,PU1 ,LMO2 ,HoxB4 ,Ikarus GM-CSF ,IGF-1 می‌باشد(۱۱-۹).

در دهه اخیر شبکه جدیدی از RNA های غیر کد کننده جهت بیان ژنها مورد توجه قرار گرفته است که از جمله آنها microRNA ها هستند. همچنین microRNA ها در درون گلبولهای قرمز یافت شده است. بدین سبب miRNA ها به عنوان کاندید مناسبی جهت تنظیم فرایندهای تکثیر و تعیین سمت تمایز سلولهای خونی قوت گرفته است. miRNAها مولکولهای کوچکی هستند که توسط RNA POl II رونویسی شده و باعث تنظیم بیان ژن در سطح پس از رونویسی می‌شوند. نقش این مولکولها در روندهای فیزیولوژیک و پاتولوژیک متعددی از قبیل تکثیر، تمایز، آپوپتوز و بدخیمی‌ها به اثبات رسیده است. تمایز اریتروئیدی روند پیچیده‌ای است که نقش miRNA های متعدد در آن به اثبات رسیده است این مولکولها معمولا از طریق برداشتن اثر مهاری از ژنهای اختصاصی اریتروئیدی و یا القائ اثر مهاری بر روی ژنهای سایر رده‌ها عمل می‌کنند(۱۴-۱۲). miRNAهای افزایش یافته در طی تمایز رده اریتروئیدی می توان به miRهای ۲۱و ۲۱۰و ۱۴۴و ۴۵۱و۱۶ و۱۵aو miRNA های کاهش یافته به ۲۴و۲۲۱و۲۲۳و۱۵۵و۱۵۰-mir اشاره کرد(۱۴-۱۲).

Archive of SID

www.SID.ir

در مطالعات متعددی بر روی رده سلول K562 انجام شده از فاکتورهای مختلفی نظیر Epo، IL-3، Hemine و mitermysin به منظور القای تمایز به سمت رده اریتروئیدی استفاده گردیده است. هر چند هنوز مطالعه‌ای مبنی بر تاثیر افزایشی mir -210 در تمایز اریتروئیدی منتشر نشده است. در مطالعه حاضر تاثیر افزایشی miR-210 در القای تمایز به سمت رده اریتروئیدی در سلول K562 بدون فاکتورهای رشد هماتوپویتیک بررسی شد(۱۶-۱۵).

Bianchi(۲۰۰۹) پروفایل بیان miRNAها را در سلول‌های پیش ساز رده اریتروئیدی شخص نرمال و دو بیمار مبتلا به تالاسمی که یکی از آن‌ها فنوتیپ HPFH داشتند را از طریق آرایه(Micro array) بررسی نمود و نشان داد که بیان miR-210 به میزان زیادی در سلول‌های پیش ساز اریتروئیدی فرد مبتلا به HPFH افزایش می‌یابد. از سوی دیگر، پس از انجام RT-PCR بر روی سلول‌های K562 تحریک شده با میترامایسین، افزایش بیان miR-210 وکاهش بیان miRNA های ۱۵۵و۲۲۲و۲۲۱ -miR مشاهده گردید که در نتیجه مشخص شد القای miR-210 وابسته به زمان و میزان دارو است که با افزایش بیان ژن زنجیره گامای هموگلوبین همراه می‌باشد. مطالعه حاضر با مطالعه Bianchi همخوانی دارد. یافته‌های ما با یافته‌های حاصل از مطالعه Kosaka و همکاران که نشان دادند بیان miR-210 در سلول‌های TER119 رده سلولی با منشا اریتروئید موشی به میزان زیادی افزایش می‌یابد و در مدل آنمی القا شده موشی کاهش بیان دارد، مشابهت دارد(۸). علیرغم اینکه نقش miRNAها در کنترل اریتروپوئز مشخص شده است ولی چگونگی دخالت برخی miRNAها واضح نیست و مطالعات انجام شده اغلب دارای تناقض هستند. دلیل این ناهمخوانی در حال حاضر معلوم نیست، اما به طور کلی می‌توان گفت که به دلیل نوپا بودن این شاخه و با پیشرفت تکنولوژی و دانش می‌توان نتایج مطمئن تری به دست آورد.

نتیجه گیری

دست یافتن به مکانیسم‌های دقیق ژنتیکی و اپی ژنتیکی که سبب تنظیم بیان ژنها در سلولهای خونی رویان، جنین و بزرگسالان می‌شوند باعث توسعه آگاهی ما در تشخیص، درمان و مدیریت بیماریهای مختلف خونی و از جمله آنمی‌ها بویژه تالاسمی‌ها، هموگلوبینوپاتی‌ها و بدخیمی‌های خونی مانند MDS خواهد شد. توانایی miRNA ها در القاء تمایز به سمت یک رده خاص و یا توانایی آنها در بیان ژنهای خاصی مانند ژنهای هموگلوبین، نقش بالقوه آنها را در ژن درمانی یاد آور می‌سازد. ناگفته پیداست که بیماریهای ناشی از اختلال گلبولهای قرمز گروه عظیمی از بیماریهای انسان و حیوانات را به خود اختصاص داده است که درصد عظیمی از آنها تنها ناشی از یک جهش یا بدتنظیمی است. miRNA ها با توجه به هدف قرار دادن ژنهای متعدد کاندید خوبی در این زمینه هستند. شاید در آینده بشر بتواند با مطالعات تکمیلی و دقیق از این مولکولهای کوچک و توانمند در پزشکی و مهندسی بافت به شایسته ترین نحو بهره ببرد.

تشکر و قدردانی

این مقاله نتیجه طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران به شماره ۱۰۸۴۹مورخ ۱۳۸۹/۲/۳۱ می‌باشد.

www.SID.ir
Archive of SID

منابع

1. Du T, Zamore PD. Micro Primer: the biogenesis and function of microRNA. Development 2005 Nov; 132(21): 4645-52.

2. Filipowicz W, Bhattacharyya SN, Sonenberg N. Mechanisms of post-transcriptional regulation by microRNAs: are the answers in sight? Nat Rev Genet 2008 Feb; 9(2): 102-14.

3. Kim VN. MicroRNA biogenesis: coordinated cropping and dicing. Nat Rev Mol Cell Biol 2005 May; 6(5): 376-85.

4. Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The C elegans heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14. Cell 1993 Dec; 75(5): 843-54.

5. Wightman B, Ha I, Ruvkun G. Posttranscriptional regulation of the heterochronic gene lin-14 by lin-4 mediates temporal pattern formation in C elegans. Cell 1993Dec; 75(5): 855-62.

6. Kosaka N, Sugiura K, Yamamato Y, Yoshioka Y, Miazaki H, Komatsu N, et al. Identification of erythropoietin induced microRNAs in haematopoietic cells during erythroid differentiation. British Journal of Haematology 2008 Jun; 142(2): 293-300.

7. Yang GH, Wang F, Yu J, Wang XS, Yuan JY, Zhang JW. MicroRNAs are involved in erythroid differentiation control. Journal of Cellular Biochemistry 2009 Jun; 107(3): 548-56.

8. Bianchi N, Zuccato C, Lampronti I, Borgatti M, Gambari R. Expression of miR-210 during erythroid differentiation and induction of gamma-globin gene expression. BMP Rep 2009Aug; 42(8): 493–9.

9. Tenen DG. Disruption of differentiation in human cancer: AML shows the way. Nat Rev Cancer 2003 Feb; 3(2): 89-101.

10. Metcalf D, Carpinelli MR, Hyland C, Mifsud S, Dirago L, Nicola NA, et al. Anomalous megakaryocytopoiesis in mice with mutations in the c-Myb gene. Blood 2005 May; 105(9): 3480-7.

11. Ferreira R, Wai A, Shimizu R, Gillemans M, Rottier R, Von Lindern M, et al. Dynamic regulation of Gata factor levels is more important than their identity. Blood 2007 June; 109(12): 5481-90.

12. Lawrie CH. microRNA expression in erythropoiesis and erythroid disorders. Br J Haematol 2010 Jul; 150(2): 144-51.

13. Zhan M, Miller CP, Papayannopoulou T, Stamatoyannopoulos G, Song CZ. MicroRNA expression dynamics during murine and human erythroid differentiation. Exp Hematol 2007 Jul; 35(7): 1015-25.

14. Zhao H, Wang D, Du W, Gu D, Yang R. MicroRNA and leukemia: tiny molecule, great function. Crit Rev Oncol Hematol 2010 Jun; 74(3): 149-55.

15. Fujimi A, Matsunaga T, Kobune M, Kawano Y, Nagaya T, Tanaka I, et al. Ex vivo large-scale generation of human red blood cells from cord blood CD34+ cells by co-culturing with macrophages. Int J Hematol 2008 May; 87(4): 339-50.

16. Feng Q, Lu SJ, Klimanskaya I, Gomes I, Kim D, Chung Y, et al. Hemangioblastic derivatives from human induced pluripotent stem cells exhibit limited expansion and early senescence. Stem Cells 2010 Apr; 28(4): 704-12.

Archive of SID

www.SID.ir