

## بررسی بیان microRNA های خانواده let-7 در سلول های CD<sup>4</sup> T تحت القاء آنتی بادی های CD2, CD3, CD28 و اینترلوکین ۲ و تعیین اهداف احتمالی آن ها

نجمه رنجی<sup>۱\*</sup>، مجید صادقی زاده<sup>۲</sup>، مرتضی کریمی پور<sup>۳</sup>، محمد علی شکرگزار<sup>۴</sup>

۱ دانشجوی دکتری تخصصی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران، ایران  
۲ استاد، گروه ژنتیک، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران  
۳ استادیار، گروه پزشکی مولکولی، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، انستیتو پاستور، تهران، ایران  
۴ دانشیار، بانک سلولی ایران، انستیتو پاستور، تهران، ایران

### چکیده

**سابقه و هدف:** در این تحقیق، بیان microRNA های خانواده let-7 در سلول های CD<sup>4</sup> T فعال شده با آنتی-CD2, CD3, CD28 تحت تیمار با اینترلوکین ۲ و یا بدون تیمار با آن مورد بررسی قرار گرفت. خانواده let-7 دارای دو خاصیت انکوژنی و مهار کننده می باشد. **مواد و روش ها:** به این منظور سلول های CD<sup>4</sup> T بکر با ریز دانه های حاوی آنتی-CD2, CD3, CD28 تیمار شدند و تحت القاء اینترلوکین ۲ خارجی (۰/۷۵ نانوگرم بر میلی لیتر) به مدت ۷۲ ساعت قرار گرفتند. از سلول های فعال شده و سلول های تحت تیمار با اینترلوکین ۲، RNA تام استخراج گردید. بعد از سنتز cDNA، بیان microRNA ها به روش Q-RT-PCR array با استفاده از کیت (miRCURY LNA<sup>TM</sup> universal RT miRNA PCR kit) صورت گرفت. آنالیز داده ها به کمک نرم افزار GeneX و روش  $\Delta\Delta Ct$  انجام شد. **یافته ها:** در سلول های CD<sup>4</sup> T فعال شده با آنتی-CD2, CD3, CD28 در مقایسه با سلول های تحت تیمار اینترلوکین ۲ افزایش بیان ۵ عضو خانواده let-7 مشاهده گردید. از جمله اهداف پیش بینی شده آن ها به کمک miRanda و miRDB می توان به فسفاتازهای PTPN, DUSP و خانواده SOCS اشاره نمود که دو خانواده اولی در مهار مسیر پیام رسانی TCR و آخری در مهار مسیر JAK/STAT در سلول های فعال شده نقش دارد. **نتیجه گیری:** به نظر می رسد miRNA های مختلف از جمله خانواده let-7 با مهار بیان ژن های خاص در سطح پس از رونویسی در کنترل مسیرهای مؤثر در گسترش کلونی جهت ایجاد پاسخ مناسب ایمنی در سلول های CD<sup>4</sup> T فعال شده نقش مهمی ایفا کنند. **کلمات کلیدی:** microRNA، اینترلوکین ۲، آنتی بادی های CD28/CD3/CD2، خانواده let-7، گسترش کلونی

### مقدمه

GTP از هسته به سیتوپلاسم منتقل می گردد. در آنجا ناحیه سنجاق سری<sup>۱</sup> آن به کمک کمپلکس آنزیمی دایسر<sup>۲</sup> (حاوی RNaseIII) حذف شده (۴) و به RNA ی دو رشته ای با طول تقریبی ۲۲ نوکلئوتید (miRNA می بالغ<sup>۳</sup>) تبدیل می گردد (۳). microRNA می بالغ در کمپلکس RISC<sup>۴</sup> قرار گرفته (۵) و بسته به میزان پایداری ترمودینامیکی انتهای ۵'، یکی از دو رشته آن به عنوان رشته راهنما<sup>۵</sup> در کمپلکس RISC باقیمانده و دیگری تجزیه می گردد.

microRNA ها (miRNA ها) گروهی از RNA های غیررمز شونده با طول تقریبی ۲۲ نوکلئوتید هستند (۱) که در موجودات مختلف از نماتود تا انسان بیان می شوند. miRNA ها عموماً به واسطه RNA پلیماز نوع II به صورت pri-miRNA رونوشت شده (۲)، سپس به کمک کمپلکس آنزیمی دروشا (RNase III) و Pasha /DGCR8 در هسته پردازش شده و به pre-miRNA با طول تقریبی 65 نوکلئوتید و با ساختار ساقه-حلقه تبدیل می گردد (۳). pre-miRNA به کمک اکسپورتین ۵ و Ran-

1- Hairpin

2- Dicer

3- Mature miRNA

4-RNA-induced silencing complex

5-Guide strand

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی.

Email: najmehranji@gmail.com

تاریخ دریافت مقاله: ۹۱/۵/۵

تاریخ پذیرش: ۹۱/۵/۹

CD28/CD3 در مقایسه با سلول های تحت تیمار با اینترلوکین ۲ مورد بررسی قرار گرفت. سلول های CD4<sup>+</sup> T بکر به دو عامل برای فعال شدن نیاز دارند: عامل اول اتصال کمپلکس MHC-آنتی ژن بیگانه به کمپلکس TCR/CD3 و عامل دوم اتصال کمک محرک هایی چون CD28 به گیرنده هایش در سلول های عرضه کننده آنتی ژن (APC) می باشد. این دو عامل باعث تولید اینترلوکین ۲ و افزایش تکثیر سلولی می گردند (۶). بعد از فعال شدن سلول های CD4<sup>+</sup>T، مسیرهایی چون PI3K، MAPK (۶) و به طور جزئی آپوپتوز القاء می شود (۶) که این امر باعث گسترش کلونی و تشدید پاسخ های ایمنی می گردد. با مقایسه بیان miRNA های خانواده let-7 افزایش بیان عضو آن در سلول های CD4<sup>+</sup> T بکر فعال شده در مقایسه با سلول های تحت تیمار با اینترلوکین ۲ مشاهده شد که به نظر می رسد با هدف قرار دادن اهداف ژنی اختصاصی خود باعث تکثیر و افزایش کلونی در این سلول ها می گردند.

### مواد و روش ها

**خونگیری و جداسازی سلول های CD4<sup>+</sup>T بکر از PBMC**  
نمونه خون مورد استفاده در این تحقیق از یک فرد سالم بالغ بدون داشتن بیماری های سیستم ایمنی، عفونی و سرطان و عدم مصرف داروهای ضد التهابی یا کورتیکواستروئیدی گرفته شد. سپس با استفاده از شیب Ficoll-paque و کیت جداسازی سلول های CD4<sup>+</sup>T بکر (Naïve CD4<sup>+</sup>T cell isolation kit II) از شرکت (Miltenyi Biotec)، ابتدا PBMC و سپس سلول های CD4<sup>+</sup>T بکر جدا گردید.

### بررسی تکثیر سلولی به روش MTT assay

سلول های CD4<sup>+</sup>T بکر به تعداد ۱×۱۰<sup>۵</sup> سلول در هر چاهک پلیت ۹۶ خانه ای نشاندند و به مدت ۳ روز در محیط کشت کامل DMEM حاوی آنتی بیوتیک های پنسیلین/استرپتومايسين و ۱۰٪ سرم جنین گوساله (FBS)، با استفاده از ریز دانه های حاوی آنتی بادی های CD28 /CD3/ CD2 T Cell Activation/Expansion Kit human از شرکت Miltenyi Biotec) تحریک و فعال گردید. سپس به مدت ۳ روز تحت

رشته راهنما از طریق ۲-۸ نوکلئوتید (ناحیه مرکزی<sup>۱</sup>) خود به mRNA ی هدف متصل می شود. microRNA ها با اتصال به 3'-UTR ی mRNA هدف، از دو طریق باعث مهار ترجمه در سطح پس از رونویسی می گردند یا مانع اتصال ریبوزوم و ادامه ترجمه شده و یا اینکه با تشکیل RNA های دو رشته ای (miRNA - mRNA) باعث تجزیه سریعتر آن می گردند (۶). microRNA ها در فرآیندهای مختلفی نظیر تکثیر، تمایز (۷)، تنظیم چرخه سلولی، آپوپتوز، متابولیسم انرژی، مهار تومورزایی (۶) و پاسخ ایمنی نقش دارند. تا به حال بیش از ۸۰۰۰ نوع microRNA در گونه های مختلف گیاهان، حیوانات و ویروس ها شناخته شده است. در انسان نیز براساس اطلاعات موجود در پایگاه اطلاعاتی mirbase وجود بیش از ۸۰۰ نوع microRNA پیش بینی شده است. با این حال طبق اطلاعات بیوانفورماتیکی به نظر می رسد در انسان بیان یک سوم mRNA ها توسط microRNA ها تنظیم گردد (۴). خانواده let-7 گروهی از microRNA ها هستند که هم به عنوان انکوژن و هم به عنوان مهار کننده تومور عمل می کنند. این خانواده در انسان دارای ۱۳ عضو شامل let-7a-1، let-7a-2، let-7a-3، let-7b، let-7c، let-7d، let-7e، let-7f-1، let-7f-2، let-7g، let-7i، let-7j، mir-98، و mir-202 می باشد. در اغلب سرطان ها کاهش بیان let-7 مشاهده می شود که نقش مهارکنندگی توموری آن را می رساند. با این حال در بعضی سرطان ها نظیر لنفومای پیشرفته افزایش بیان microRNAهایی چون let-7b و let-7i رخ می دهد که بر نقش انکوژنی این خانواده در شرایط خاص دلالت دارد (۸). در تأیید نقش انکوژنی آن در یک مطالعه، هیپو متیله شدن let-7a-3 در سرطان ریه و سرطان اپی تلیال تخمدان باعث افزایش بیان آن و بیان بدون کنترل انکوژن ها و ژن های دخیل در تکثیر، تمایز و چسبندگی سلولی گردید (۸، ۹). همچنین نقش دوگانه اعضای ستاره دار این خانواده (رشته مکمل رشته راهنما که به ندرت بیان می شود و طی فرآیند انتخاب تک رشته مورد نیاز در کمپلکس RISC حذف می گردد) نیز در بعضی سرطان ها نظیر مزوتلیوم بدخیم مشاهده شده که با کاهش بیان let-7e\* و let-7-1\* و افزایش بیان let-7b\* همراه بوده است (۱۰). در این مطالعه بیان خانواده let-7/CD2 در سلول های CD4<sup>+</sup> T بکر فعال شده با آنتی بادی های

1- Seed region

انجام گرفت. جهت بررسی کل microRNA ها از دو پلیت ۳۸۴ خانه ای (Human Panel I & II) استفاده شد و هر واکنش دو بار تکرار گردید. ژن SNORD49A به عنوان ژن مرجع جهت نرمال سازی مورد استفاده قرار گرفت. جهت آنالیز داده های واکنش Q-RT-PCR از نرم افزار GenEx و روش  $\Delta\Delta C_T$  استفاده شد.

**تعیین اهداف احتمالی microRNA های خانواده let-7**  
از نرم افزارهای miRanda و miRDB جهت پیش بینی اهداف احتمالی خانواده let-7 استفاده شد. ژن های هدف در مسیرهای TCR، MAPK، JAK/STAT و آپوپتوز مورد بررسی قرار گرفت.

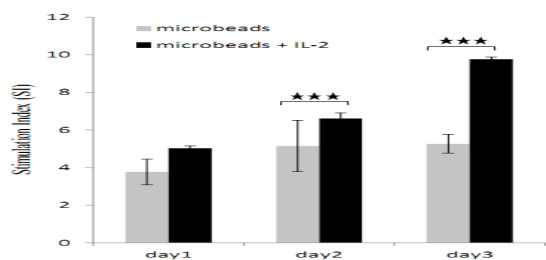
### آنالیز آماری

نتایج به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار اندازه گیری شد. از t-test و One-Way ANOVA جهت مقایسه داده ها بین دو گروه سلولی استفاده گردید. هر آزمایش حداقل با دو یا سه تکرار به صورت مستقل انجام گرفت.

### یافته ها

افزایش گسترش کلونی سلول های  $CD4^+T$  بکر به واسطه اینترلوکین ۲

سلول های  $CD4^+T$  بکر در اثر تحریک با آنتی بادی های  $CD2, CD3, CD28$  به مدت سه روز، فعال شده و تکثیر کلونی نشان دادند. اما القاء اینترلوکین ۲ خارجی بعد از ۷۲ ساعت باعث افزایش چندین برابری تعداد سلول ها نسبت به سلول های فعال شده بدون تیمار با اینترلوکین ۲ گردید.



شکل ۱- اندازه گیری شاخص تحریک (SI) در سلول های  $CD4^+T$ . به روش MTT assay میزان تکثیر سلول های فعال بدون القاء اینترلوکین ۲ در مقایسه با سلول های فعال تحت القاء این سابتوکاین به مدت سه روز اندازه گیری شد. روز سوم بیشترین میزان تکثیر در سلول های فعال تیمار شده با اینترلوکین ۲ در مقایسه با سلول های فعال بدون تیمار مشاهده می گردد.

القاء اینترلوکین ۲ (۰/۷۵ نانوگرم بر میلی لیتر) قرار گرفته تا تکثیر سلولی افزایش یابد. تکثیر سلولی بین سلول های فعال شده تحت تیمار با اینترلوکین ۲ و بدون تیمار با آن مقایسه شد. جهت بررسی تکثیر سلولی، MTT (۰/۰۵ میلی گرم بر میلی لیتر) به هر چاهک افزوده و به مدت ۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد نگهداری شد. سپس محیط رویی به دقت و به طور کامل برداشته و ۱۰۰ میکرولیتر دای متیل سولفوکساید (DMSO) افزوده و به مدت ۳۰ دقیقه در در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد برای حل شدن کامل کریستال ها نگهداری گردید. سپس میزان جذب نوری (OD) پلیت با استفاده از دستگاه ELISA reader در طول موج ۵۴۵ خوانده شد. هر تیمار حداقل ۳ تکرار انجام گرفت.

### استخراج RNA تام از سلول های تحت تیمار

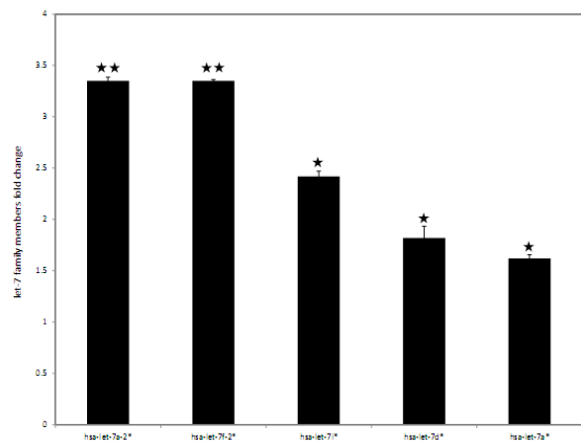
جهت بررسی microRNA با استفاده از کیت (miRCURY™ RNA Isolation kit از شرکت Exiqon) و بر اساس دستورالعمل، RNA تام سلولی از هر دو گروه سلولی تخلیص شد و به کمک دستگاه نانودراپ ۱۰۰۰ (Thermo Scientific) غلظت آن اندازه گیری شد.

### سنتز cDNA و انجام واکنش Q-RT-PCR array

با استفاده از کیت miRCURY LNA™ universal RT-microRNA شرکت Exiqon سنتز cDNA و واکنش Q-RT-PCR array صورت گرفت. طبق دستورالعمل جهت سنتز cDNA، ابتدا RNA تام سلولی با غلظت ۵/۵ نانوگرم با آنزیم، بافر واکنش و RNA spike-in (RNA کنترول) مخلوط شد. سپس به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۴۲ درجه سانتی گراد و در ادامه به مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد در دستگاه Thermo Cycler گرمادهی شد. جهت واکنش Q-RT-PCR array، به cDNA ساخته شده مقدار مقتضی آب فاقد نوکلئاز اضافه شد و سپس به نسبت ۱ به ۱ با Master Mix حاوی SYBR green مخلوط گردید. مخلوط حاصل به مقدار ۱۰ میکرولیتر به هر چاهک پلیت های ۳۸۴ خانه ای (که هر چاهک با پرایمر اختصاصی یک نوع microRNA پوشانده شده بود) افزوده و بعد از پوشاندن پلیت با چسب مخصوص، در دستگاه real-time PCR cycler شرکت Roche واکنش

### افزایش بیان خانواده let-7 در سلول های CD4<sup>+</sup>T فعال شده با آنتی بادی های CD2,CD3,CD28

افزایش بیان پنج عضو از خانواده let-7 در سلول های فعال شده با آنتی بادی های CD2,CD3,CD28 نسبت به سلول های تحت القاء اینترلوکین ۲ مشاهده گردید (شکل ۲). در حالی که تغییری در بیان اعضای این خانواده بعد از القاء اینترلوکین ۲ در سلول های تحت تیمار رخ نداد. همچنین افزایش بیان مشاهده شده به فرم های ستاره دار let-7 مربوط می شود که معمولاً در سلول ها به ندرت بیان می گردند و در این مطالعه برای اولین بار بیان آن ها در سلولهای CD4<sup>+</sup>T فعال، گزارش گردید.



شکل ۲- بیان نسبی خانواده let-7 در سلول های فعال CD4<sup>+</sup>T بدون تیمار با اینترلوکین ۲ در مقایسه با سلول های فعال تحت تیمار با این سایتوکاین. افزایش بیان پنج عضو از این خانواده microRNA در سلول های فعال بدون تیمار با اینترلوکین ۲ مشاهده گردید.

### پیش بینی اهداف احتمالی خانواده let-7

برای پیش بینی ژن های هدف خانواده let-7 در این مطالعه، از نرم افزارهای miRanda و miRDB استفاده شد. از اهداف احتمالی آن ها می توان به Jak1، HMGB1، MDM1، DUSP6، SOCS4,7، MAPK6 و HMGA2 اشاره نمود که در مسیر پیام رسانی JAK/STAT، MAPK و آپوپتوز نقش دارند (جدول ۱). از اهداف احتمالی let-7، ژن Jak1 می باشد که در سلول های فعال شده بیان کمتری نسبت به سلول های تحت القاء اینترلوکین ۲ نشان داد (اطلاعات ارائه نشده است).

جدول ۱- تعیین اهداف احتمالی پنج عضو خانواده let-7 دارای افزایش بیان نسبی در سلول های فعال بدون تیمار با اینترلوکین ۲ با استفاده از نرم افزارهای miRanda و miRDB		
microRNA	Predicted by miRDB	Predicted by miRanda
Let-7f-2*	MDM1, DUSP6, DUSP18,	MDM1, CASP8AP2, MYCBP2
Let-7a-2*	JAK1, SOCS5, MAP4K3, HMGB2, MAPK6, BCL6, VAV3, BCL2, NFATC1	
Let-7a*	SOCS6, PTPN12, PTPN14, PTPN22, DUSP6, DUSP19, NFAT5, MDM1, MDM2	BCL6
Let-7d*		HMGA2
Let-7i*		DICER1

### بحث

برای تعیین microRNA های مؤثر در تکثیر سلول های CD4<sup>+</sup>T بکر بواسطه اینترلوکین ۲ از پلیت های حاوی ۷۳۹ نوع مختلف microRNA استفاده شد. بیان متفاوت microRNA ها در این سلول ها در مقایسه با سلول های فعال نشان داد که مسیرهای مختلفی در تکثیر این دو گروه سلولی مؤثرند. به طوریکه افزایش بیان پنج عضو از خانواده let-7 در سلول های فعال CD4<sup>+</sup>T نسبت به سلول های CD4<sup>+</sup>T تحت القاء اینترلوکین ۲ مشاهده گردید. به جهت اینکه این خانواده ژنی هر دو خاصیت انکوژنی و مهار کنندگی توموری را دارند، انتظار می رفت که در دو گروه سلولی افزایش یا کاهش بیان نشان دهند که با آنالیز آرایه مشخص شد افزایش بیان اعضای این خانواده فقط در سلول های فعال CD4<sup>+</sup>T رخ داده است. نکته قابل توجه در این زمینه این است که فقط انواع ستاره دار let-7 در سلول های فعال CD4<sup>+</sup>T افزایش بیان نشان دادند. در مطالعات مختلف نشان داده شده است که خانواده let-7 باعث مهار ژن های دخیل در تنظیم چرخه سلولی نظیر Ras، HMGA2، c-myc (۹، ۱۱) و همچنین مهار ژن های مؤثر در آپوپتوز نظیر کاسپاز-۳ می شوند (۹). به طوری که بیان اکتوپیک let-7 در سلول های سرطانی

فسفاتاز PTPN22 یکی دیگر از اهداف پیش بینی شده  $let-7a^*$  است که در مطالعات قبلی نقش آن در مهار  $p56^{Lck}$  و ZAP70 در مسیر پیام رسانی TCR شناخته شده است (۱۶). همچنین چندین عضو  $let-7$ ، به طور احتمالی چندین MAPK، Bcl2، MDM1 و XIAP را نیز مهار سازند که در تکثیر یا مرگ برنامه ریزی شده سلول نقش دارند. در صورت تأیید مهار این گروه ژن ها در تحقیقات بعدی، به نظر می رسد خانواده  $let-7$  در سلول های فعال شده  $CD4^+T$  بین تکثیر و آپوپتوز توازن و هموستازی ایجاد نماید. به طوریکه از یک سو پاسخ های ایمنی مناسب در بدن القاء و از سوی دیگر مانع ایجاد پاسخ های شدید نامقتضی گردد. با این حال بیان خانواده  $let-7$  در سلول های فعال شده  $CD4^+T$  در صورتی قادر به تنظیم پاسخ های ایمنی خواهد بود که دیگر miRNA ها و تنظیم کننده های پاسخ ایمنی نیز به طور تعاونی با این گروه در سلول فعالیت داشته باشند و گسترش کلونی را در حد نیاز موجب گردند. در مجموع با تعیین اهداف احتمالی انواع ستاره دار  $let-7$  با استفاده از نرم افزارهای ذکر شده در این مطالعه، به نظر می رسد اعضای خانواده  $let-7$  هر دو نقش انکوژنی و مهارکنندگی تومور را در این سلول ها داشته باشند که برای تأیید موضوع به تحقیقات بیشتری در این زمینه نیاز است.

## تشکر و قدردانی

از صندوق حمایت از پژوهشگران ریاست جمهوری جهت تأمین هزینه های طرح تشکر می گردد. همچنین از همکاری و راهنمایی جناب آقایان امیر امان زاده، آرش زمینی، دکتر مهدی مهدوی، روح الله نخعی سیستانی، دکتر کامبیز آراسته و خانم هنا حنایی اهوازی قدردانی می شود.

ریه باعث کاهش بیان انکوژن HMGA2 و کاهش تکثیر سلولی می گردد. افزایش بیان HMGA2 در بعضی انواع کارسینومای ریه، لیپوسارکوما و نئوپلاژی های میلوئیدی مشاهده شده است (۱۲). از سوی دیگر کاهش بیان یا حذف  $let-7a$ ،  $let-7c$  و  $let-7g$  در سرطان های ریه با افزایش بیان انکوژن Ras همراه است. به طوریکه در یک مدل موشی از سرطان ریه سلول غیر کوچک با استفاده از  $let-7g$  مهار تومور زایی با غیر فعال شدن Ras تأیید گردید. همچنین کاهش بیان Blimp-1 در نتیجه افزایش بیان  $let-7a$  در بعضی انواع لنفومای انسانی همچون لنفومای هوچکینی، دلالت بر نقش انکوژنی این microRNA دارد. در حالیکه نقش متضاد آن در لنفومای بورکیت با مهار c-myc و جلوگیری از نئوپلاژی همراه است (۸). تعیین اهداف احتمالی ۵ عضو ستاره دار با افزایش بیان این خانواده، به کمک نرم افزارهای موجود پیشنهاد می کند این miRNA ها در القاء یا مهار بعضی مسیرهای پیام رسانی نظیر JAK/STAT، MAPK و TCR و آپوپتوز مؤثر باشند. مطابق جدول ۱ به نظر می رسد  $let-7a^*$ ،  $let-7a-2^*$  و  $let-7f-2^*$  در مهار بیان چندین ژن در سطح رونویسی نظیر SOCS4، SOCS5، SOCS6 و SOCS7 نقش داشته باشند. SOCS ها گروهی از مهار کننده های مسیر JAK/STAT هستند که مانع پیام رسانی بواسطه سایتوکاين ها می شوند (۱۳). به عنوان نمونه SOCS6 با اتصال به پروتئین هایی نظیر  $p56^{Lck}$  باعث تجزیه پروتئوزومی آن می گردد.  $p56^{Lck}$  یکی از کینازهای مؤثر در تکثیر سلولی بواسطه مسیر پیام رسانی TCR می باشد (۱۴). احتمالاً اعضای ذکر شده خانواده  $let-7$  با مهار SOCS6 مانع تجزیه  $p56^{Lck}$  و در نتیجه باعث فعال ماندن مسیر پیام رسانی TCR می شوند. در حالی که SOCS5 با مهار پیام رسانی از طریق IL-4R مانع تمایز به سلول های Th2 (۱۵) و حفظ وضعیت Th0 می شود. از سوی دیگر از اهداف احتمالی  $let-7a^*$  و  $let-7f-2^*$  می توان به فسفاتازهای DUSP6، DUSP18 و DUSP19 اشاره نمود که در مسیر پیام رسانی MAPK نقش دارند. به طوریکه DUSP6 با غیر فسفریله کردن کینازهای ERK1 و ERK2 آن ها را غیر فعال می سازد. به طور مشابه در یک مطالعه، مهار DUSP5 و DUSP6 توسط mir-181a در لنفوسیت های T بالغ باعث فعال شدن خانواده ERK در مسیر پیام رسانی TCR گردید.



## منابع

- (1) Lodish HF, Zhou B, Liu G, Chen CZ. Micromanagement of the immune system by microRNAs. *Nat Rev Immunol*, 2008; 8 (2): 120-30.
- (2) Kanellopoulou C, Monticelli S. A role for microRNAs in the development of the immune system and in the pathogenesis of cancer. *Semin Cancer Biol*. 2008;18(2):79-88. Epub 2008/02/23.
- (3) Manjunath N, Wu H, Subramanya S, Shankar P. Lentiviral delivery of short hairpin RNAs. *Adv Drug Deliv Rev*. 2009; 61 (9): 732-45.
- (4) Pauley KM, Cha S, Chan EK. MicroRNA in autoimmunity and autoimmune diseases. *J Autoimmun*. 2009; 32 (3-4): 189-94.
- (5) Liu YP, Berkhout B. miRNA cassettes in viral vectors: problems and solutions. *Biochim Biophys Acta*, 2011; 1809 (11-12): 732-45.
- (6) Grillari J, Grillari-Voglauer R. Novel modulators of senescence, aging, and longevity: Small non-coding RNAs enter the stage. *Exp Gerontol*, 2010; 45 (4): 302-11.
- (7) Almeida MI, Reis RM, Calin GA. MicroRNA history: discovery, recent applications, and next frontiers. *Mutat Res*, 2011; 717 (1-2): 1-8.
- (8) Boyerinas B, Park SM, Hau A, Murmann AE, Peter ME. The role of let-7 in cell differentiation and cancer. *Endocrine-related cancer*, 2010; 17 (1): F19-36.
- (9) Brueckner B, Stresemann C, Kuner R, Mund C, Musch T, Meister M, Sultmann H, Lyko F. The human let-7a-3 locus contains an epigenetically regulated microRNA gene with oncogenic function. *Cancer Res*, 2007; 67 (4): 1419-23.
- (10) Guled M, Lahti L, Lindholm PM, Salmenkivi K, Bagwan I, Nicholson AG, Knuutila S. CDKN2A, NF2, and JUN are dysregulated among other genes by miRNAs in malignant mesothelioma -A miRNA microarray analysis. *Genes Chromosomes Cancer*, 2009; 48 (7): 615-23.
- (11) Buechner J, Tomte E, Haug BH, Henriksen JR, Lokke C, Flægstad T, Einvik C. Tumour-suppressor microRNAs let-7 and mir-101 target the proto-oncogene MYCN and inhibit cell proliferation in MYCN-amplified neuroblastoma. *Br J Cancer*, 2011; 105 (2): 296-303.
- (12) Lee YS, Dutta A. The tumor suppressor microRNA let-7 represses the HMGA2 oncogene. *Genes Dev*, 2007; 21 (9): 1025-30.
- (13) Banerjee A, Banks AS, Nawijn MC, Chen XP, Rothman PB. Cutting edge: Suppressor of cytokine signaling 3 inhibits activation of NFATp. *J Immunol*, 2002; 168 (9): 4277-81.
- (14) Choi YB, Son M, Park M, Shin J, Yun Y. SOCS-6 negatively regulates T cell activation through targeting p56lck to proteasomal degradation. *The Journal of biological chemistry*, 2010; 285 (10): 7271-80.
- (15) Seki Y, Hayashi K, Matsumoto A, Seki N, Tsukada J, Ransom J, Naka T, Kishimoto T, Yoshimura A, Kubo M. Expression of the suppressor of cytokine signaling-5 (SOCS5) negatively regulates IL-4-dependent STAT6 activation and Th2 differentiation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2002; 99 (20): 13003-8.
- (16) Xiao C, Rajewsky K. MicroRNA control in the immune system: basic principles. *Cell*, 2009; 136 (1): 26-36.