تاثیر سرکوب microRNA-1266-5p بر افزایش بقای سلولی و تغییرات چرخه سلولی در سرطان معده

صبا ثریایی[1]، سوگند وحیدی[1]
محمد محمدزاده[2]
سید سعید حسینی-اصل[3*]

۱- گروه بیوشیمی بالینی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران.
۲- گروه هماتولوژی، مرکز تحقیقات جنین‌شناسی و سلول‌های بنیادی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران.
۳- گروه ژنتیک پزشکی، مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارشی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران.

*نویسنده مسئول: اردبیل، خیابان ۳۰ تیر، میدان ورزش، مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارشی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل.
تلفن: ۳۳۲۵۰۳۲٤ -۰٤٥
E-mail: saied.hosseiniasl@gmail.com

چکیده

دریافت: ۱۳۹۷/۰۲/۲۰ ویرایش: ۱۳۹۷/۰۲/۲۷ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۸/۳۰ آنلاین: ۱۳۹۷/۰۹/۰۷

زمینه و هدف: سرطان معده به‌عنوان شایعترین بدخیمی در نقاط خاصی از جهان نظیر شمال غرب ایران می‌باشد. miRNA ها، RNAهای غیر کدکننده کوچک و تک رشته‌ای با حدود ۲۳-۱۹ نوکلئوتید می‌باشند. هدف این مطالعه بررسی تاثیر سرکوب microRNA-1266-5p بر بقای سلولی و تغییرات چرخه سلولی در سرطان معده (رده سلولی AGS) بود.

روش بررسی: این مطالعه تجربی-پژوهشی از فروردین تا آذر ۱۳۹٦ در مرکز تحقیقات سلولی- ملکولی دانشگاه علوم پزشکی اردبیل انجام گرفت. رده سلولی AGS در محیط کشت RPMI-1640 حاوی ۱۰٪ سرم و ۱٪ آنتی‌بیوتیک کشت داده شد. سلول‌ها توسط miR-1266-5p mimic، miR-1266-5p inhibitor و HiPerFect reagent به تنهایی به‌عنوان کنترل منفی، تیمار شدند. میزان بیان miR-1266-5p در سلول‌های کنترل و تیمار شده با تکنیک TaqMan qRT-PCR اندازه‌گیری شد. بقای سلولی و تغییرات چرخه سلولی به‌ترتیب توسط تکنیک MTT و فلوسایتومتری بررسی گردیدند.

یافته‌ها: میزان بیان miR-1266-5p در سلول‌های تیمار شده با Mimic به‌طور چشمگیری افزایش و در سلول‌های تیمار شده با Inhibitor کاهش می‌یابد (P=۰). افزایش بیان miR-1266-5p باعث کاهش بقای سلول‌های AGS می‌شود، درحالی‌که کاهش بیان آن بقای سلول‌ها را افزایش می‌دهد (P=۰). همچنین افزایش بیان miR-1266-5p باعث افزایش لول‌ها در فاز G1 و کاهش سلول‌ها در فاز S می‌شود (P=۰). با این‌حال کاهش بیان miR-1266-5p باعث افزایش جزیی سلول‌ها در فاز G2/M می‌شود (P=۰/۰۰۱).

نتیجه‌گیری: miR-1266-5p می‌تواند بقای سلولی را کاهش دهد و چرخه سلولی را متوقف کند و به‌عنوان سرکوب کننده تومور در سلول‌های AGS عمل کند، درحالی‌که مهار آن بقای سلولی را افزایش و آپوپتوز را کاهش می‌دهد.

کلمات کلیدی: چرخه سلولی، بقای سلول، سرطان معده، میکروآرنا ۱۲٦٦.

مقدمه

به‌تازگی ثابت شده است که miRNAها نقش مهمی در تنظیم مسیرهای متابولیکی و سلولی به‌ویژه کنترل تکثیر سلولی و آپوپتوز دارند.[1] همچنین مطالعات متعدد نشان داده است که miRNAها نقش مهمی به‌عنوان سرکوب‌کننده تومور یا انکوژن در سرطان معده ایفا می‌کنند.[2] MicroRNAها، RNAهای غیر کدکننده‌ی کوچک و تک رشته‌ای با حدود ۲۳-۱۹ نوکلئوتید می‌باشند. این RNAها با اتصال به نواحی 3′UTR در mRNAهای هدف به‌عنوان تنظیم‌کننده‌های بیان ژن در سطح پس از رونویسی عمل می‌کنند. همچنین در تکثیر، تمایز و بقای سلولی نقش دارند که منجر به مهار ترجمه یا تجزیه mRNA می‌شوند.[3و4] اولین microRNA به‌نام Lin4 در سال ۱۹۹۳ از

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-26]

C. elegans شناسایی شد و پس از هفت سال دومین miRNA و اولین miRNAی پستانداران به‌نام let7 کشف شد.[۵و۶] سنتز microRNAها در چند مرحله انجام می‌شود. به‌این صورت که ابتدا در هسته سلول به‌وسیله RNA پلیمراز II از نواحی اینترژنیک به اینتراژنیک رونویسی شده و به miRNAی اولیه با طول kb ۳–۱ تبدیل می‌شوند. miRNAهای اولیه در هسته به‌وسیله آنزیم Drosha و پروتیین متصل به RNAی دو رشته‌ای (Pasha) به ساختارهای Stem-loop با حدود ۱۰۰–۷۰ نوکلئوتید به‌نام pre-miRNAها شکسته می‌شوند.[۷و۸] سپس pre-miRNAها توسط Exportin-5 از هسته به سیتوپلاسم انتقال می‌یابند و به‌وسیله آنزیم Dicer به miRNAهای بالغ دو رشته‌ای با طول حدود ۲۴–۱۸ نوکلئوتید تبدیل می‌شوند.[۹و۱۰] پس از جداسازی دو رشته، یکی از رشته‌ها تحت تاثیر کمپلکس RISC به مولکول miRNAی بالغ تبدیل می‌شود و رشته دیگر ممکن است تجزیه شود یا یک نقش عملکردی در تنظیم همئوستاز miRNA و همچنین اثر تنظیمی پایین‌دست داشته باشد.[۱۱و۱۲] مطالعه پیشین بر روی سطوح بیان ژن‌های دخیل در بلوغ miRNAها در رده‌های سلولی سرطان‌های دستگاه گوارش نشان‌دهنده‌ی افزایش سطح بیان در رده سلولی مورد مطالعه در بررسی حاضر (رده سلولی AGS) بود.[۱۳] miR-1266 در مطالعه‌ای بر روی سلول‌های SGC-7901، به‌عنوان سرکوب‌کننده ژن hTERT گزارش شده است که تکثیر سلولی و چرخه سلولی را متوقف می‌کند.[۱۴] همچنین سطح سرمی miR-1266 در بیماران پسوریازیس پوست در مقایسه با افراد سالم به‌طور قابل توجهی افزایش یافته است.[۱۵] افزون‌براین، سطح بالای miR-1266 در بیماران سرطان پستان واجد گیرنده استروژنی مثبت، به‌عنوان پیش‌آگهی مهم برای بروز یا عود متاستاز گزارش شده است.[۱۶] هدف این مطالعه بررسی تاثیر سرکوب microRNA-1266-5p بر بقای سلولی و تغییرات چرخه سلولی در سرطان معده (رده سلولی AGS) بود.

روش بررسی

مطالعه حاضر به صورت تجربی–پژوهشی از فروردین تا آذر ماه سال ۱۳۹۶ در مرکز تحقیقات سلولی- مولکولی دانشگاه علوم پزشکی اردبیل انجام گرفت. رده سلولی AGS (NCBI Code: C131, Gastric epithelial cell line) مورد استفاده در این مطالعه از انستیتو پاستور تهران تهیه شد. سلول‌ها در محیط کشت RPMI-1640 (Gibco, Life Technologies, Inc., New York, USA) حاوی ۱۰٪ Fetal bovine serum (FBS) (Gibco, Life Technologies, Inc., New York, USA) و ۱٪ آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین–استرپتومایسین کشت داده و در انکوباتور تحت شرایط ۳۷ °C و CO_2 نگهداری شدند. در صورت استفاده شدن مواد مغذی محیط توسط سلول‌ها و تغییر رنگ آن، تعویض محیط صورت پذیرفت. زمانی‌که ۸۰٪ سطح فلاسک توسط سلول‌ها پر شد، سلول‌ها پس از چند پاساژ به پلیت‌ها منتقل شدند. برای این کار محیط کشت فلاسک به‌طور کامل خارج شده و با PBS شستشو داده شد. بـه هـر فلاسک ۲۵ cm ۱۰۰۰ µl تریپسین ۰/۲۵ درصد ۱x اضافه شده و بـه مدت سه دقیقه در داخل انکوبـاتور قرار داده شد. سپس سلول‌ها با پیپت (Institute of Pasture, Tehran, Iran) بـه آرامـی از فلاسک خارج شده و به یک لوله فالکون استریل منتقل شدند. سلول‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در دور 1800 rpm سانتریفیوژ شدند. سپس محلول رویی به طور کامل خارج شـده و بر روی رسوب سلولی ۱ ml محیط کشت اضافه شد. پس از تهیه سوسپانسیون سلولی تعداد سلول‌ها توسط لام نئوبار و رنگ تریپان بلو شمارش گردید و برای انجام تست MTT تعداد حدود 1×104 سلول به هر چاهک پلیت ۹۶ خانه‌ای و همچنین برای انجام تست فلوسایتومتری حدود 104×52 سلول به هر چاهک ۶ خانه‌ای در محیط کشت کامل حاوی ۱۰٪ FBS و ۱٪ آنتی‌بیوتیک کشت داده شد.

جدول ۱: توالی پرایمرهای miR-1266-5p و miR-16

miR-1266-5p-Stem loop	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACTGGATACGACAGCCCT
miR-1266-5p- F	CACGCACCTCAGGGCTGTAGA
miR-1266-5p-Probe	FAM-TGGATACGACAGCCCTGTTC-TAMRA
miR-16- Stem loop	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACTGGATACGACCGCCAA
miR-16-F	CGCGCTAGCAGCACGTAAAT
miR-16- Probe	FAM-ATACGACCGCCAATAT-TAMRA
Universal reverse	CCAGTGCAGGGTCCGAGGTA

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-26]

اولیگونوکلئوتیدهای miR-1266-5p (Cat # MIN0005920) mimic و miR-1266-5p inhibitor (Cat # MSY0005920) از (Qiagen, Hilden, Germany) تهیه شد و بر اساس پروتکل آماده گردید و با استفاده از HiPerFect transfection reagent (Cat # 301705, Qiagen, Hilden, Germany) به سلول‌های AGS انتقال داده شدند. به این صورت که ابتدا ۵ نانومولار mimic و ۵۰ نانومولار Inhibitor با محیط OPTIMEM (Gibco, Life Technologies, Inc., New York, USA) رقیق شد و سپس حجم مناسب HiperFect reagent اضافه شد. به‌منظور تشکیل کمپلکس Mimic و Inhibitor با HiPerFect reagent، مخلوط برای ۱۵ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. سپس به آرامی بر روی سلول‌ها اضافه شده و در انکوباتور تحت شرایط ۳۷ ̊C و CO_2 نگهداری شد. همچین سلول‌های AGS به تنهایی با HiPerFect reagent به‌عنوان کنترل منفی تیمار شدند. پس از گذشت شش ساعت از زمان تیمار محیط RPMI-1640 حاوی FBS و آنتی‌بیوتیک بر روی سلول‌ها اضافه شد و تا زمان انجام تست‌ها در انکوباتور تحت شرایط ۳۷ ºC و CO_2 نگهداری شد و در صورت لزوم محیط سلول‌ها تعویض گردید.

میزان بیان miR-1266-5p در سلول‌های کنترل و تیمار شده با Mimic و Inhibitor با استفاده از تکنیک TaqMan qRT-PCR اندازه‌گیری شد. به این صورت که ابتدا RNA توسط TRIZOL (Invitrogen, USA) بر اساس پروتکل استخراج و با استفاده از Viva 2-steps RT-PCR kit (Vivantis, Malaysia) و پرایمر اختصاصی (طراحی شده برای افزایش طول و اختصاصیت miRNA) به cDNA تبدیل شد. به این منظور ۸µg از RNA به مخلوطی از ۲ µl پرایمر STEM-Loop (طراحی شده به‌طور اختصاصی برای هر miRNA)، ۱ میکرولیتر dNTPs mix، ۲ µl بافر ۱۰x، ۰/۵ µl آنزیم M-MuLV، اضافه شده و با آب عاری از نوکلئاز به حجم ۲۰ µl رسانده شد و در دستگاه Thermal cycler (Eppendorf AG, Hamburg, Germany) قرار گرفت. سپس cDNA با استفاده از پرایمرهای طراحی شده زیر و برنامه ′95ºC-10, ″95ºC-15, ′60ºC-1, ′72ºC-5 تحت واکنش TaqMan qRT-PCR قرار گرفت (جدول ۲).

در این واکنش miR-16 به‌عنوان کنترل داخلی استفاده شد و بیان نسبی miR-1266-5p در نمونه‌های کنترل و تیمار شده با Mimic و Inhibitor با استفاده از رابطه $2^{-\Delta\Delta ct}$ محاسبه گردید. تست‌ها حداقل برای سه بار تکرار شدند. آنالیز داده‌ها توسط SPSS software, version 19.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) و با تست آماری One-way ANOVA یا Student's t-test تجزیه و تحلیل شدند. تمامی داده‌های کمی در این پـژوهش به شکل میانگین± انحراف‌معیار ارایه شد و سطح معنادار در مقایسه بین گروه‌ها کوچکتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

میزان بیان miR-1266-5p در سلول‌های کنترل و تیمار شده با Mimic و Inhibitor در ۱۲، ۲٤و ٤٨ ساعت پس از انتقال به‌وسیله تکنیک TaqMan Real-time PCR در دست LightCycler 96 (Roche Applied Science, Mannheim, Germany) اندازه‌گیری شد. نتایج نشان دادند که میزان بیان miR-1266-5p در سلول‌های AGS تیمار شده با Mimic در مقایسه با سلول‌های کنترل افزایش می‌یابد، درحالی‌که در سلول‌های تیمار شده با Inhibitor کاهش می‌یابد و بیشترین تاثیر در ٤٨ ساعت پس از انتقال می‌باشد (P=۰).

بررسی فعالیت بیولوژیکی miR-1266-5p در زمان‌های مختلف (۱۲، ۲٤، ۳٦، و ٤٨) پس از تیمار بر روی رشد سلول‌های AGS توسط تکنیک MTT نشان داد که سلول‌های تیمار شده با Mimic نسبت به سلول‌های کنترل آهسته‌تر رشد می‌کنند (P=۰). درحالی‌که سلول‌های تیمار شده با Inhibitor نسبت به سلوهای کنترل سریعتر رشد می‌کنند (P=۰).

در ۱۲ ساعت پس از تیمار با Mimic درصد زیستایی افزایش یافت و Mimic تاثیری بر کاهش بقای سلول‌ها نداشت و کاهش بقای سلول‌ها از ۲٤ ساعت به بعد رخ می‌دهد و بیشترین میزان کاهش بقا در ٤٨ ساعت پس از تیمار می‌باشد (P=۰). تاثیر miR-1266-5p mimic و miR-1266-5p inhibitor بر روی تغییرات چرخه سلولی بوسیله تکنیک فلوسایتومتری نشان داد که در ٤٨ ساعت پس از تیمار، میزان سلول‌ها در فاز G1 در سلول‌های تیمار شده با Mimic در مقایسه با سلول‌های کنترل به‌طور معناداری افزایش یافته و در فاز S کاهش می‌یابد (P=۰). همچنین مشاهده شد که میزان سلول‌ها در فاز G2/M در سلول‌های تیمار شده با Inhibitor در مقایسه با کنترل به‌طور جزیی افزایش می‌یابد (P=۰/۰۰۱).

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-26]

جدول ۱: توزیع میانگین تغییرات بیان microRNA-1266-5p در ۱۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از تیمار با تقلید کننده و مهارکننده این میکروآرنا

گروه‌ها	میزان بیان نسبی
کنترل	۱(۰/۹±۱/۱)
تیمار با microRNA-1266-5p پس از ۱۲ ساعت	۱۲۴۱۶/۷(۱۱۵۸۵/۲±۱۳۳۰۷/۹)
تیمار با microRNA-1266-5p پس از ۲۴ ساعت	۱۸۸۲۰/۲(۱۷۹۲۸/۹±۱۹۷۵۵/۹)
تیمار با microRNA-1266-5p پس از ۴۸ ساعت	۲۸۵۲۶/۲(۲۳۱۷۰/۴±۳۵۱۱۹/۸)
تیمار با مهارکننده microRNA-1266-5p پس از ۱۲ ساعت	۰/۸(۰/۵±۱/۳)
تیمار با مهارکننده microRNA-1266-5p پس از ۲۴ ساعت	۰/۷(۰/۵±۰/۹)
تیمار با مهارکننده microRNA-1266-5p پس از ۴۸ ساعت	۰/۵(۰/۵۲±۰/۵۴)

جدول ۲: توزیع میانگین تاثیر microRNA-1266-5p و مهارکننده آن بر روی بقای سلول‌های AGS

گروه‌ها	میانگین± انحراف‌معیار
کنترل	۱۰۰±۰
تیمار با microRNA-1266-5p پس از ۱۲ ساعت	۱۲۷/۳±۵/۴
تیمار با microRNA-1266-5p پس از ۲۴ ساعت	۷۷/۱±۱/۳
تیمار با microRNA-1266-5p پس از ۳۶ ساعت	۷۸/۳±۳/۰۹
تیمار با microRNA-1266-5p پس از ۴۸ ساعت	۵۴/۸±۰/۴۳
تیمار با مهارکننده microRNA-1266-5p پس از ۱۲ ساعت	۹۷/۷±۱۰/۷
تیمار با مهارکننده microRNA-1266-5p پس از ۲۴ ساعت	۹۰/۲±۷/۸
تیمار با مهارکننده microRNA-1266-5p پس از ۳۶ ساعت	۱۱۰/۸±۰/۸
تیمار با مهارکننده microRNA-1266-5p پس از ۴۸ ساعت	۱۳۲/۸±۴/۴

جدول ۳: توزیع میانگین تاثیر microRNA-1266-5p و مهارکننده آن در ۴۸ ساعت پس از تیمار بر روی تغییرات چرخه سلولی در رده سلولی AGS

گروه‌ها	میزان آپوپتوز	تعداد سلول‌ها در فاز G1	تعداد سلول‌ها در فاز S	تعداد سلول‌ها در فاز G2/M
کنترل	۱/۵±۰/۲	۲۸/۶±۰/۵	۴۵/۹±۵/۸	۲۵/۳±۰/۳
تیمار با microRNA-1266-5p	۱۶/۹±۰/۲	۴۱/۶±۰/۵	۲۱/۴±۰/۴	۲۰/۱±۰/۱
تیمار با مهارکننده microRNA-1266-5p	۴/۷۵±۰/۳	۴۳/۷±۰/۲	۲۴/۳±۰/۲	۲۷/۲۵±۰/۲

بحث

در مطالعه حاضر اثر miR-1266-5p با استفاده از Mimic و Inhibitor این miRNA بر روی میزان بیان، بقای سلولی و تغییرات چرخه سلولی در سلول‌های AGS بررسی گردید. نتایج نشان دادند که میزان بیان miR-1266-5p در سلول‌های AGS تیمار شده با Mimic به‌طور چشمگیری افزایش می‌یابد، درحالی‌که در سلول‌های تیمار شده با Inhibitor کاهش می‌یابد. همچنین نتایج نشان دادند که بقای سلول‌های تیمار شده توسط miR-1266-5p Mimic در ۴۸ ساعت پس از تیمار نسبت به سلول‌های کنترل و تیمار شده با Inhibitor به‌طور معناداری کاهش می‌یابد. این نتایج با یافته‌های مطالعه Chen و همکارانش که نشان دادند miR-1266 رشد سلول‌های SGC-7901 را متوقف می‌کند، مشابهت دارد.[17] درحالی‌که سلول‌های تیمار شده توسط miR-1266-5p Inhibitor نسبت به سلول‌های کنترل رشد سریعتری دارند.

این نتایج نشان می‌دهد که افزایش بیان miR-1266-5p باعث مهار تکثیر سلول‌های AGS می‌شود. مهار miR-1266-5p اثر این miRNA را بر روی رشد سلول‌های AGS معکوس می‌کند و باعث افزایش تکثیر سلول‌ها می‌شود و اثر مهاری miR-1266-5p را بر روی بقای سلول‌های AGS ثابت می‌کند. همچنین نشان داده شد که نتایج وابسته به زمان می‌باشد. نتایج فلوسایتومتری نشان داد که در ۴۸ ساعت پس از تیمار میزان سلول‌ها در سلول‌های تیمار شده با miR- Mimic

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-26]

1266-5p نسبت به سلول‌های کنترل در فاز G1 افزایش و در فاز S کاهش می‌یابد و باعث توقف چرخه سلولی و مانع ورود سلول‌ها به فاز S می‌شود و همچنین میزان آپوپتوز را افزایش می‌دهد. این یافته‌ها نیز با مطالعه Chen و همکارانش که نشان دادند miR-1266 در سلول‌های SGC-7901 باعث توقف چرخه سلولی می‌شود، همخوانی دارد.[14] همچنین مشاهده شد که تعداد سلول‌ها در سلول‌های تیمار شده با miR-1266-5p Inhibitor نسبت به سلول‌های کنترل در فاز G2/M به‌طور جزیی افزایش می‌یابد. یافته‌های این مطالعه نشان داد که افزایش بیان miR-1266-5p باعث کاهش بقای سلولی و توقف چرخه سلولی و افزایش آپوپتوز سلول‌های AGS می‌شود، درحالی‌که مهار بیان miR-1266-5p باعث افزایش بقای سلول‌ها می‌شود و آپوپتوز کمتری دارد.

سپاسگزاری: این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی به شماره ١٤٤٥ مصوب دانشگاه علوم پزشکی اردبیل در سال ١٣٩٦ و بخشی از پایان‌نامه دانشجوی کارشناسی ارشد بیوشیمی بالینی تحت عنوان "تاثیر سرکوب بیان miR-1266-5p بر بیان ژن hTERT و فعالیت تلومرازی در سلول‌های سرطانی" می‌باشد که با حمایت کمیته تحقیقات دانشجویی دانشگاه علوم پزشکی اردبیل اجرا شده است.

References

1. Keshavarzi M, Sorayayi S, Jafar Rezaei M, Mohammadi M, Ghaderi A, Rostamzadeh A, et al. MicroRNAs-based imaging techniques in cancer diagnosis and therapy. *J Cell Biochem* 2017;118(12):4121-8.
2. Hao NB, He YF, Li XQ, Wang K, Wang RL. The role of miRNA and lncRNA in gastric cancer. *Oncotarget* 2017;8(46):81572-82.
3. Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 2004;116(2):281-97.
4. He L, Hannon GJ. MicroRNAs: small RNAs with a big role in gene regulation. *Nat Rev Genet* 2004;5(7):522-31.
5. Reinhart BJ, Slack FJ, Basson M, Pasquinelli AE, Bettinger JC, Rougvie AE, et al. The 21-nucleotide let-7 RNA regulates developmental timing in Caenorhabditis elegans. *Nature* 2000;403(6772):901-6.
6. Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The C. elegans heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14. *Cell* 1993;75(5):843-54.
7. Gregory RI, Yan KP, Amuthan G, Chendrimada T, Doratotaj B, Cooch N, et al. The Microprocessor complex mediates the genesis of microRNAs. *Nature* 2004;432(7014):235-40.
8. Han J, Lee Y, Yeom KH, Kim YK, Jin H, Kim VN. The Drosha-DGCR8 complex in primary microRNA processing. *Genes Dev* 2004;18(24):3016-27.
9. Hammond SM, Bernstein E, Beach D, Hannon GJ. An RNA-directed nuclease mediates post-transcriptional gene silencing in Drosophila cells. *Nature* 2000;404(6775):293-6.
10. Bohnsack MT, Czaplinski K, Gorlich D. Exportin 5 is a RanGTP-dependent dsRNA-binding protein that mediates nuclear export of pre-miRNAs. *RNA* 2004;10(2):185-91.
11. Bartel DP. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *Cell* 2009;136(2):215-33.
12. Suzuki HI, Miyazono K. Emerging complexity of microRNA generation cascades. *J Biochem* 2011;149(1):15-25.
13. Jafari N, Dogaheh HP, Bohlooli S, Oyong GG, Shirzad Z, Alibeiki F, et al. Expression levels of microRNA machinery components Drosha, Dicer and DGCR8 in human (AGS, HepG2, and KEYSE-30) cancer cell lines. *Int J Clin Exp Med* 2013;6(4):269-74.
14. Chen L, Lü MH, Zhang D, Hao NB, Fan YH, Wu YY, et al. miR-1207-5p and miR-1266 suppress gastric cancer growth and invasion by targeting telomerase reverse transcriptase. *Cell Death Dis* 2014;5:e1034.
15. Ichihara A, Jinnin M, Oyama R, Yamane K, Fujisawa A, Sakai K, et al. Increased serum levels of miR-1266 in patients with psoriasis vulgaris. *Eur J Dermatol* 2012;22(1):68-71.
16. Sevinc ED, Egeli U, Cecener G, Tezcan G, Tunca B, Gokgoz S, et al. Association of miR-1266 with recurrence/metastasis potential in estrogen receptor positive breast cancer patients. *Asian Pac J Cancer Prev* 2015;16(1):291-7.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-26]

TUMJ Tehran University Medical Journal, November 2018; Vol. 76, No. 8: 562-567 Original Article

Effect of miRNA-1266-5p repression on the increasing cell survival and alterations of the cell cycle in AGS cell line

Saba Sorayyayi M.Sc.[1]
Sogand Vahidi M.Sc.[1]
Mohammad Mohammadzadeh Ph.D.[2]
Sayyed Saied Hosseini-Asl Ph.D.[3*]

1- Department of Clinical Biochemistry, Student Research Committee, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran.
2- Department of Hematology, Embryology and Stem Cell Research Center, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran.
3- Department of Medical Genetics, Digestive Diseases Research Center, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran.

*Corresponding author: Digestive Diseases Research Center, Ardabil University of Medical Sciences, 30 Tir St., Varzesh Sq., Ardabil, Iran.
Tel: +98- 45- 33250324
E-mail: saied.hosseiniasl@gmail.com

Abstract

Received: 10 May 2018 Revised: 17 May 2018 Accepted: 21 Nov. 2018 Available online: 28 Nov. 2018

Background: Gastric cancer is among the most common malignancies in certain parts of the world, such as northwest Iran. miRNAs are small and single-stranded noncoding RNAs with about 19-23 nucleotides. Several studies have shown that miRNAs play important roles in gastric tumorigenesis. The aim of this study was to determine the effect of miRNA-1266-5p repression on the cell survival and alterations of the cell cycle in gastric cancer cell line of AGS (NCBI Code: C131, Gastric epithelial cell line).

Methods: This experimental study was performed from April to December 2017 in Cellular-Molecular Research Center of Ardabil University of Medical Sciences, Iran. In this study, AGS cells were cultured in RPMI-1640 medium containing 10% serum and 1% antibiotic. The cells were transfected with miR-1266-5p mimic, miR-1266-5p inhibitor and HiPerFect reagent alone as negative control. The miR-1266-5p expression and transfection efficiency were analyzed by Stem-loop TaqMan qRT-PCR. The cell proliferation and cell cycle alterations were determined using MTT calorimetric assay and flow cytometry, respectively. The results were analyzed using SPSS 19.0 statistics software (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) and presented as the means±standard deviation (SD).

Results: miR-1266-5p expression was increased in AGS cells transfected with miR-1266-5p mimic compared to control cells (P=0), while miR-1266-5p expression was decreased in transfected cells with the inhibitor compared to controls (P=0). Among different time points, the most effects of miR-1266-5p mimic and inhibitor were noticed after 48 hours of transfection. The upregulated miR-1266-5p significantly decreased cell growth, in contrast, inhibitor promoted cell proliferation (P=0). In addition, miR-1266-5p upregulation induced cell cycle arrest at the transition of G1 to S phase and led to G0/G1 entry (P=0), while of miR-1266-5p led to G2/M entry (P=0.001).

Conclusion: According to the results obtained from this study, miR-1266-5p can reduce cell survival and induce cell cycle arrest and act as a tumor suppressor in AGS cells. While its inhibition can increase cell survival and reduce apoptosis.

Keywords: cell cycle, cell survival, gastric cancer, miRNA-1266.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-26]