مجله دانشکده پزشکی اصفهان **مقاله پژوهشی**
سال سی‌ام/شماره ۲۰۷/هفته اول آذرماه ۱۳۹۱
تاریخ دریافت: ۹۱/۵/۲۷ **تاریخ پذیرش:** ۹۱۰/۸/۱۷

اختلاف بیان miR-211 با استفاده از تکنیک Real-time PCR در رده‌ی سلولی ملانوما و تومور ملانومای موشی

وحید بهرام بیگی[۱]، لاله رفیعی[۲]، دکتر شقایق حق‌جوی جوانمرد[۳]، دکتر رسول صالحی[۴]، محمدحسن تاج‌الدینی[۵]، عبدالرضا دارائی[۶]

چکیده

مقدمه: MicroRNAها یک نوع RNA با طول بین ۲۰ تا ۲۴ نوکلئوتید می‌باشند که نقش‌های تنظیمی مهمی را در سلول‌ها ایفا می‌کنند. miR-211 یکی از MicroRNAهایی است که بیان آن در سلول‌های سرطانی به ویژه ملانوما انسانی کاهش می‌یابد و نقش مهمی را در مهار رشد و تهاجم تومور ایفا می‌کند. تاکنون مقایسه‌ای بر روی بیان miR-211 در ملانومای موشی در شرایط In vitro و In vivo صورت نگرفته است. در این مطالعه، ما به ارزیابی بیان miR-211 با استفاده از تکنیک Real time PCR در رده‌ی سلولی ملانوما و و تومور ملانومای موشی پرداختیم.

روش‌ها: سلول‌های ملانومای موشی B16F10 از بانک سلول انستیتو پاستور خریداری شد. با استفاده از این رده‌ی سلولی، تومور زیر پوستی ملانوما در موش BL6C57 القا گردید. از رده‌ی سلولی ملانوما و تومور ملانومای موشی به منظور استخراج miRNA و سنتز cDNA استفاده شد. سپس واکنش Real time PCR برای این نمونه‌ها و با پرایمرهای U6 و miR-211 به انجام رسید. در پایان، آنالیز آماری داده‌ها با آزمون Student-t انجام گردید.

یافته‌ها: بررسی میانگین بیان نسبی miR-211 در نمونه‌های رده‌ی سلولی ملانوما و تومور ملانوما نشان داد که میانگین بیان miR-211 در رده‌ی سلولی ملانوما از تومور ملانوما بیشتر می‌باشد ($P < ۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: با توجه به پایین‌تر بودن بیان miR-211 در تومور ملانوما در مقایسه با سلول‌های ملانوما، احتمال دخیل بودن miRNA در پیش بردن خصوصیات تهاجمی ملانوما در مدل موشی آن وجود دارد.

واژگان کلیدی: microRNA، سلول‌های ملانومای موشی، Real time PCR

مقدمه

MicroRNAها (miRNA) یک گروه از RNAهای غیر کد کننده‌ی کوچک می‌باشند که برای اولین بار توسط Ambroz و همکاران در Caenorhabditis elegans کشف شد. miRNAها به صورت مونوسیترونیک و با پلی‌سیسترونیک در ژنوم پستانداران رمز می‌شوند. مقایسه‌ی توالی‌های miRNA نشان می‌دهد که آن‌ها در گونه‌های مختلف، از نماتودها تا پستانداران، در سطح بالایی حفاظت شده هستند و این فرضیه تقویت می‌شود که miRNAها مولکول‌های مهمی در بیولوژی و تصمیم‌های تکاملی هستند (۱). ژن‌های کد کننده‌ی miRNA به طور غالب در مناطق بین ژنی قرار

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه ژنتیک انسانی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی کاربردی و کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
[۲] دانشجوی دکتری، گروه پزشکی مولکولی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی کاربردی و کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
[۳] دانشیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
[۴] دانشیار، گروه آناتومی و بیولوژی ملکولی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
[۵] دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده‌ی داروسازی و علوم دارویی و کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
[۶] دانشجوی دکتری، گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر شقایق حق‌جوی جوانمرد
Email: shaghayeghhaghjoo@yahoo.com

گرفته‌اند، اگر چه در اینترون‌ها و گاهی در اگزون‌های کد کننده‌ی پروتئین‌ها هم یافت می‌شوند.

در بیشتر موارد miRNAها در ابتدا توسط RNA پلیمراز ۲ نسخه‌برداری می‌شوند. در این مرحله نسخه‌های اولیه به نام Pri-miRs شکل می‌گیرد. در مرحله‌ی بعدی آنزیمی به نام دروشا به کمک کوفاکتور DGCR8 با اثر بر روی Pri-miRs، miRNAهایی را به وجود می‌آورد که به سرعت از هسته به سیتوپلاسم منتقل می‌شوند. در سیتوپلاسم آنزیمی به نام دایسر با اثر بر روی miRNAها منتج به ایجاد کمپلکس‌های miRNA-induced silencing می‌گردد. توالی miRNA مکمل توالی در قسمت 3’-UTR (3’-untranslated region) در mRNA هدف می‌باشد که به آن قسمت متصل می‌شود و از بیان ژن مورد نظر جلوگیری می‌کند. مقدار کلی miRNA در ژنوم انسان ۱۰۰۰ نوع تخمین زده شده است. گفته می‌شود، ممکن است حدود ۲۰ تا ۳۰ درصد از ژنوم انسان با miRNA تنظیم شود. miRNAها شبکه‌ی تنظیم ژنی را تشکیل می‌دهند که می‌توان گفت بیشتر عملکردهای سلولی مانند رشد، تمایز و تکامل سلولی را در ژنوم یوکاریوت‌ها کنترل می‌کنند (۲).

مطالعات متعددی در زمینه‌ی بیان miRNA در نمونه‌های ملانومای بدخیم صورت پذیرفته است. یافته‌های این مطالعات نشان داده‌اند که بیان تعداد زیادی از miRNAها در سلول‌های ملانوما در مقایسه با ملانوموسیت‌های طبیعی تغییر یافته و بیشتر آن‌ها افزایش بیان داشته‌اند. یافته‌ی دیگر این که تغییر در بیان بیشتر این miRNAها نقش مهمی در نمو تومور ملانوما داشته است و بسته به میزان بدخیمی تومور تغییر در بیان miRNAهای خاصی دیده می‌شود (۳-۲).

آنالیز کمی با استفاده از تکنیک RT-PCR (Real time polymerase chain reaction) نشان داده است که برخی از miRNAها نقش بسیار مهمی در پیشرفت تومور ملانوما دارند. miRNAها با هدف قرار دادن برخی از ژن‌های خاص منجر به پیدایش خصوصیات تهاجمی بیشتر سلول‌های ملانوما می‌شوند. یکی از اولین ژن‌های کشف شده MITF می‌باشد. مطالعات نشان داده است که مهم‌ترین ژن‌های هدف miRNAها در سلول‌های ملانوما FOXO3، MITF و c-Kit receptor می‌باشند. miRNAهای miR-182، miR-211، Let-7a و miR-221 مهم‌ترین miRNAهای دخیل در تهاجم و متاستاز ملانوما هستند. miRNAها به عنوان مولکول‌های تنظیمی بیان ژن در عملکرد سلول‌های سرطانی نقش مهمی بازی می‌کنند (۳).

در این مطالعه ما به بررسی یکی از miRNAهایی که در مهار رشد و تهاجم سلول‌های سرطانی دخیل است پرداختیم و بیان آن را با سلول‌های سرطانی ملانومای موشی مقایسه کردیم. miRNAای که در این مطالعه انتخاب شد، miR-211 بود که کاهش بیان آن در سلول‌های ملانوما منجر به افزایش خصوصیات تهاجمی و متاستازی سلول‌های ملانوما می‌شود. مدل‌های In vitro کشت سلول‌های سرطانی به طور مکرر در مطالعات ارتقا و تشخیص و درمان سرطان استفاده می‌شوند. به طور معمول مطالعات اولیه برای غربالگری داروهای ضد سرطان یا تمایل به تهاجم سلول‌های سرطانی در محیط کشت انجام می‌شود. از آن جا که مدل‌های In vitro مقدمه‌ی انجام مطالعات حیوانی و سپس بالینی هستند، توجه به تفاوت‌های متعددی که ممکن است در اثر تغییر شرایط برای

www.mui.ac.ir

سلول‌های سرطانی به وجود بیاید حایز اهمیت بسیار است. تاکنون مطالعات کمی به تفاوت رفتار سلول‌های سرطانی در In vitro و In vivo پرداخته‌اند؛ اگرچه شواهد زیادی بر بیان متفاوت ژن‌ها و رفتار متفاوت سلول‌های ملانوما در محیط In vitro و In vivo وجود دارد (۴). بنابراین، در این مطالعه، ما برای نخستین بار به ارزیابی بیان miR-211 با استفاده از تکنیک RT-PCR در رده‌ی سلولی ملانوما و و تومور ملانومای موشی پرداختیم.

روش‌ها

کشت سلول‌های ملانوما و القای تومور ملانومای موشی

رده‌ی سلولی B16F10 از پاستور تهران خریداری شد. این سلول‌ها در محیط کشت DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) حاوی سرم جنینی گاوی ۱۰ درصد، بیکربنات سدیم، پنی‌سیلین (۱۰۰ واحد در میلی‌لیتر) و استرپتومایسین یک درصد کشت داده شد. سلول‌ها پس از رسیدن به ازدحام ۸۰ درصد پاساژ داده شدند و از سلول‌های پاساژ سوم با تعداد 10^6 سلول به منظور استخراج miRNA استفاده شد (۳ نمونه). همچنین از این سلول‌ها به منظور القای تومور ملانوما استفاده گردید. برای هر موش تعداد 10^6 سلول به صورت زیر پوستی تزریق شد (۳ موش). تومورها در روز ۲۱ بعد از تزریق برداشته شدند و از آن‌ها به منظور استخراج miRNA استفاده شد (۳ نمونه).

استخراج miRNA

miRNAی سلولی با استفاده از کیت استخراج miRNA (Qiagen miRNasy mini Kit) و بر اساس دستورالعمل ارائه شده توسط سازنده‌ی کیت استخراج شد. حداکثر ۱۰۰ میلی‌گرم از بافت تومور ملانوما برای هر نمونه استفاده شد. در ابتدا بافت با اسکالپل ریز شد. سپس با کلاژناز تیمار شد و سپس سلول‌های قرمز به وسیله‌ی محلول لیزیز شرکت BD لیز شدند تا در نهایت سوسپانسیون سلولی ملانوما را داشته باشیم. تعداد یک میلیون از این سلول‌ها با استفاده از محلول کیازل لیز شد. به دنبال آن شستشو با کلروفرم به انجام رسید. در مراحل بعدی شستشوی فاز جدا شده‌ی بالایی با استفاده از اتانل و بافر RWT و بر اساس پروتکل شرکت سازنده به انجام رسید.

مرحله‌ی اضافه کردن دم پلی A و سنتز cDNA

به منظور اضافه کردن دم پلی A از کیت Ambion poly A tailing استفاده شد. برای هر نمونه ۲۳ میکرولیتر از RNA کل استخراج شده، ۱۰ میکرولیتر از بافر 5X-EPAP، ۵ میکرولیتر از $Mncl_2$ ۲۵ میلی‌مولار، ۵ میکرولیتر از ATP ۱۰ میلی‌مولار و در نهایت ۴ میکرولیتر از آنزیم E-PAP اضافه شد (حجم نهایی ۵۰ میکرولیتر). مخلوط واکنش به مدت ۱ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه گردید. قبل از سنتز cDNA، RNA تیمار شده برای واکنش پلی‌آدنیلاسیون به منظور حذف کلرید منیزیم با استفاده از فنول و کلروفرم خالص شد. cDNA از روی miRNA خالص شده در مرحله‌ی قبل، توسط کیت ABM miRNA cDNA synthesis و طبق دستورالعمل اجرایی سازنده‌ی کیت ساخته شد.

تکنیک RT-PCR

تکنیک RT-PCR با استفاده از مسترمیکس EvaGreen و پرایمرهای شرکت ABM به انجام رسید. مراحل تکثیر و PCR با استفاده از آنزیم در حضور پرایمرها و بر اساس شرایط بهینه از نظر تعداد سیکل‌ها، میزان

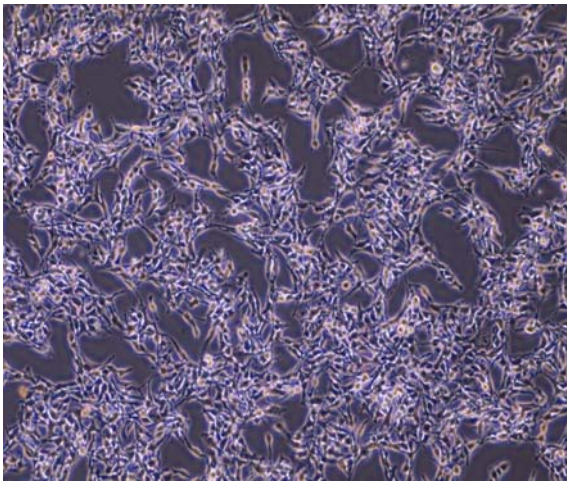
www.mui.ac.ir

پرایمرها، میزان دما و زمان‌های مربوط به Denaturation، Annealing و Polymerization هر کدام از ژن‌های در نظر گرفته شده در ترموسایکلر انجام گرفت. برای دستیابی به میزان تغییرات در بیان ژن‌های مورد نظر از روش Relative quantification ΔΔCT استفاده شد که نیازمند استفاده از یک miRNA مرجع به عنوان یک شاهد داخلی صورت پذیرفت (۵). همچنین کنترل‌های NTC (No template control) و نمونه‌ی کنترلی که عمل رونویسی معکوس روی آن انجام نشده بود (به عنوان شاهد منفی)، مورد استفاده قرار گرفت.

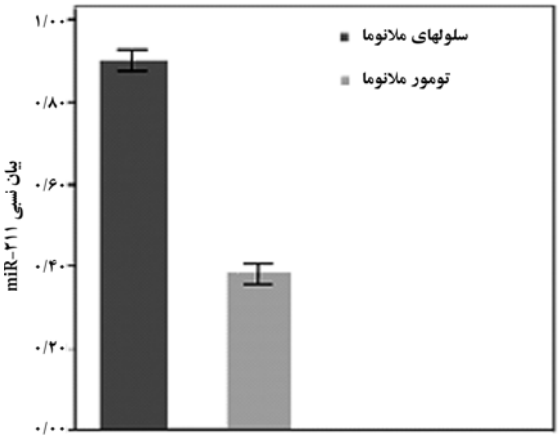
تفسیر داده‌های به دست آمده از RT-PCR، برای مقایسه‌های مورد نظر از آزمون Student-t استفاده شد. $P \leq ۰/۰۵$ معنی‌دار تلقی گردید. نتایج اولیه‌ی حاصل از PCR نیز توسط روش ΔΔCT مورد آنالیز قرار گرفت. تحلیل‌های آماری مورد نظر نیز در نرم‌افزار SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL) انجام شد.

یافته‌ها

سلول‌های ملانوما کشت داده شدند (شکل ۱). هر دو نوع سلول به منظور استخراج miRNA مورد استفاده قرار گرفت. بررسی منحنی‌های تکثیر و ذوب در واکنش RT-PCR برای miRNAهای u6 و miR-211 نشان‌دهنده‌ی تکثیر نمایی قطعه‌ی مورد نظر با منحنی ذوب یکتا بود. بررسی میانگین بیان نسبی miR-211 (نرمال شده نسبت به بیان ژن به عنوان شاهد داخلی) در نمونه‌های رده‌ی سلولی ملانوما و تومور ملانوما با استفاده از روش qRT-PCR Real-time صورت پذیرفت. آزمون آماری Student-t نشان داد که میانگین بیان miR-211 در رده‌ی سلولی ملانوما از تومور ملانوما بیشتر می‌باشد ($P < ۰/۰۵$) (شکل ۲).



شکل ۱. سلول‌های ملانومای موشی در پاساژ سوم



شکل ۲. مقایسه‌ی میانگین بیان miR-211 در سلول‌های ملانوما و تومور ملانومای موشی نشان‌دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار بین ۲ گروه است.

بحث

در این مطالعه ما به بررسی بیان miR-211 در رده‌ی سلولی ملانوما و تومور ملانوما پرداختیم. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که میانگین بیان miR-211 در نمونه‌های رده‌ی سلولی ملانوما از تومور ملانوما بیشتر می‌باشد. در بررسی مکانیسم مولکولی پیشرفت سرطان محققان دریافته‌اند که علاوه بر ژن‌های رمزکننده‌ی پروتئین، RNAهای تنظیمی غیر کدکننده به ویژه miRNAها نیز نقش دارند. تعداد محدودی از

miRNAها کشف شده‌اند که در برخی سرطان‌ها از جمله ملانوما بیان می‌شوند و در ارتباط با مسیرهای نقص تنظیمی در رشد و متاستاز می‌باشند (۸-۶). از جمله یکی از مهم‌ترین miRNAها miR-211 است که نقش تنظیمی مهمی را در مهار خصوصیات تهاجمی سلول‌های ملانوما ایفا می‌کند (۹). از آن جایی که miR-211 یکی از مهم‌ترین miRNAهایی است که بیان آن تحت خصوصیات تهاجمی ملانومای انسانی تغییر می‌کند و تاکنون مطالعه‌ای در مورد ملانومای موشی به انجام نرسیده است، در این مطالعه به بررسی بیان miR-211 در رده‌ی سلولی ملانوما و تومور ملانوما پرداختیم.

Mazar و همکاران نشان دادند که بیان miR-211 در سلول‌های ملانوما نسبت به ملانوسیت‌ها کاهش پیدا کرده است که این کاهش می‌تواند منجر به افزایش بیان ژن‌هایی باشد که در گسترش و تهاجم تومور نقش دارند. آن‌ها نشان دادند یکی از ژن‌هایی که بیان آن در نتیجه‌ی کاهش miR-211 در سلول‌های ملانوما افزایش می‌یابد، KCNMA1 می‌باشد. این ژن در تهاجم و تقسیم و تکثیر سلولی ملانوما در In vitro نقش دارد (۹). در مطالعات دیگر نشان داده شد ژن TRPM1، که در اینترون شماره‌ی ۶ آن توالی کدکننده‌ی miR-211 قرار گرفته است، به عنوان مهار کننده‌ی حالت تهاجمی سلول‌های ملانوما نقش خود را ایفا می‌کند (۱۱-۱۰). همچنین نشان داده شد که فاکتور نسخه‌برداری MITF که بیان TRPM1 را تنظیم می‌کند برای بیان مقادیر زیادی از miR-211 مورد نیاز می‌باشد (۱۱-۱۰). بنابراین فاکتور نسخه‌برداری MITF هم در بیان ژن TRPM1 و به دنبال آن miR-211 نقش تنظیمی مثبت دارد. نتایج مطالعه‌ی Levy و همکاران نشان داد که سرکوب کردن فعالیت تومور به وسیله‌ی ملاستاتین TRPM1در حقیقت به وسیله‌ی miR-211 که از اینترون ملاستاسین کد می‌شود انجام می‌گیرد. افزایش بیان miR-211، اما نه ملاستاتین، مهاجرت و تهاجم سلول‌های مهاجم و بدخیم ملانوما را کاهش داده است. نتایج مطالعه‌ی آن‌ها کاهش بیان سه ژن IGF2R، TGFBR2 و NFAT5 را توسط miR-211 نشان داد. miR-211 با این کاهش در تهاجمی بودن سلول‌های ملانوما تأثیرگذار است (۱۲).

Gaur و همکاران گزارش کردند که بیان miR-211 در ۶ نوع از ۸ نوع رده‌ی سلولی ملانوما از سلول‌های سرطانی NCI-60 افزایش پیدا کرده است (۱۳). Mueller و همکاران بیان miRNA را در رده‌ی سلولی ملانوما با ملانوسیت‌های طبیعی اپیدرمی پوست مقایسه کردند. در مطالعه‌ی آن‌ها بیان miR-211 در ملانوما کاهش نیافته بود (۶). Jukic و همکاران گزارش دادند که بیان miR-211 در خال‌های پوستی افزایش پیدا کرده است و به طور چشمگیری در ملانوماهای متازستازی نسبت به خال‌های پوستی کاهش پیدا داشته است (۱۴). این نتیجه موافق با نتیجه‌ی ما بود که بیان miR-211 در تومورهای مهاجم ملانوما کاهش پیدا کرد.

از این مطالعه می‌توان نتیجه‌گیری کرد که با توجه به پایین‌تر بودن بیان miR-211 در تومور ملانوما در مقایسه با سلول‌های ملانوما، احتمال دخیل بودن miRNA در پیش بردن خصوصیات تهاجمی ملانوما در مدل موشی آن وجود دارد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از زحمات جناب آقای مصطفی

سیامکی به جهت همکاری صمیمانه در اجرای این طرح، تشکر و قدردانی می‌نمایند. این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی به شماره‌ی ۲۹۰۰۳۶ بود و منابع مالی آن توسط معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تأمین گردید.

References

1. Betel D, Wilson M, Gabow A, Marks DS, Sander C. The microRNA.org resource: targets and expression. Nucleic Acids Res 2008; 36(Database issue): D149-D153.
2. Mueller DW, Bosserhoff AK. Role of miRNAs in the progression of malignant melanoma. Br J Cancer 2009; 101(4): 551-6.
3. Felicetti F, Errico MC, Segnalini P, Mattia G, Care A. MicroRNA-221 and -222 pathway controls melanoma progression. Expert Rev Anticancer Ther 2008; 8(11): 1759-65.
4. Becker JC, Houben R, Schrama D, Voigt H, Ugurel S, Reisfeld RA. Mouse models for melanoma: a personal perspective. Exp Dermatol 2010; 19(2): 157-64.
5. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. Methods 2001; 25(4): 402-8.
6. Mueller DW, Rehli M, Bosserhoff AK. miRNA expression profiling in melanocytes and melanoma cell lines reveals miRNAs associated with formation and progression of malignant melanoma. J Invest Dermatol 2009; 129(7): 1740-51.
7. Igoucheva O, Alexeev V. MicroRNA-dependent regulation of cKit in cutaneous melanoma. Biochem Biophys Res Commun 2009; 379(3): 790-4.
8. Glud M, Klausen M, Gniadecki R, Rossing M, Hastrup N, Nielsen FC, et al. MicroRNA expression in melanocytic nevi: the usefulness of formalin-fixed, paraffin-embedded material for miRNA microarray profiling. J Invest Dermatol 2009; 129(5): 1219-24.
9. Mazar J, DeYoung K, Khaitan D, Meister E, Almodovar A, Goydos J, et al. The regulation of miRNA-211 expression and its role in melanoma cell invasiveness. PLoS One 2010; 5(11): e13779.
10. Duncan LM, Deeds J, Cronin FE, Donovan M, Sober AJ, Kauffman M, et al. Melastatin expression and prognosis in cutaneous malignant melanoma. J Clin Oncol 2001; 19(2): 568-76.
11. Oancea E, Vriens J, Brauchi S, Jun J, Splawski I, Clapham DE. TRPM1 forms ion channels associated with melanin content in melanocytes. Sci Signal 2009; 2(70): ra21.
12. Levy C, Khaled M, Iliopoulos D, Janas MM, Schubert S, Pinner S, et al. Intronic miR-211 assumes the tumor suppressive function of its host gene in melanoma. Mol Cell 2010; 40(5): 841-9.
13. Gaur A, Jewell DA, Liang Y, Ridzon D, Moore JH, Chen C, et al. Characterization of microRNA expression levels and their biological correlates in human cancer cell lines. Cancer Res 2007; 67(6): 2456-68.
14. Jukic DM, Rao UN, Kelly L, Skaf JS, Drogowski LM, Kirkwood JM, et al. Microrna profiling analysis of differences between the melanoma of young adults and older adults. J Transl Med 2010; 8: 27.

www.mui.ac.ir

Journal of Isfahan Medical School Original Article

Vol. 30, No. 207, 1st week, December 2012 Received: 17.8.2012 Accepted: 7.11.2012

Comparison of Mir-211 Expression in Murine Melanoma Cell Line and Murine Melanoma Tumor by Real-Time Polymerase Chain Reaction

Vahid Bahrambeigi[1], Laleh Rafiee MSc[2], Shaghayegh Haghjooy Javanmard MD, PhD[3], Rasoul Salehi PhD[4], Mohamad Hassan Tajedini[5], Abdolreza Daraei[6]

Abstract

Background: Micro ribonucleic acids (miRNA) are a type of ribonucleic acids with 20-24 nucleotides. They seem to have an important regulating role in cells. MiR-211 is an miRNA whose expression decreases in cancer cells, especially human melanoma cells. It is of high importance in suppression of tumor growth and invasion. Up to now, no study has evaluated miR-211 expression in murine melanoma cells for in vivo and in vitro conditions. We evaluated and compared the expression of miR-211 in murine melanoma cell line and melanoma tumors using real-time polymerase chain reaction (PCR).

Methods: Melanoma B16F10 cell line was cultured. Subcutaneous melanoma tumors were induced by injecting this line to C57 mice. Melanoma cell line and melanoma tumors were lysed and miRNAs were extracted. After complementary deoxyribonucleic acid (cDNA) synthesis, real-time PCR of samples was performed using miR-211 primers. Data was statistically analyzed by Student's t-test.

Findings: Average expression of miR-211 in melanoma cell line was significantly higher than melanoma tumors.

Conclusion: Due to the lower expression of miR-211 in murine melanoma tumors in comparison to murine melanoma cells, miRNA may be involved in invasive properties of melanoma cells in the mouse model of melanoma.

Keywords: MiRNA, Murine melanoma cells, Real time polymerase chain reaction

[1] MSc Student, Department of Human Genetics, Physiology Research Center AND Student Researh Committee, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
[2] PhD Student, Department of Molecular Medicine, Physiology Research Center AND Student Researh Committee, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
[3] Associate Professor, Department of Physiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
[4] Associate Professor, Department of Anatomy and Molecular Biology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
[5] MSc Student, Department of Clinical Biochemistry, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences AND Student Research Committee, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
[6] PhD Student, Department of Medical Genetics, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
Corresponding Author: Shaghayegh Haghjooy Javanmard MD, PhD, Email: shaghayeghhaghjoo@yahoo.com