

مقاله پژوهشی:

بررسی بیان RNAهای غیر کدکننده بلند  
ژن‌های NEAT1، GAS5 و SRA در بیماران  
متلاطیان به سرطان سینه و افراد سالم

Evaluation of Expression of Long  
Non-Coding RNAs of GAS5,  
NEAT1 and SRA Genes in  
Patients with Breast Cancer and  
Healthy People

Shahriar Saeidian<sup>1</sup>, Zahra Baghaei Far<sup>2</sup>,  
Zivar Parvanak<sup>3</sup>, Mokhtar Fathi<sup>4\*</sup>

1. Assistant Professor of Biochemistry, Payame Noor university, Iran  
2. Assistant Professor of Cell and Developmental Biology, Payame Noor University, Iran  
3. M.A. of Biochemistry, Payame Noor University, Iran  
4. Assistant Professor of Animal Science, Agriculture Collage, Payame Noor University, Iran

(Received: Aug. 10, 2021 - Accepted: Sep. 14, 2021)

**Abstract**

Breast cancer accounts for about 10% of all cancers in the world and accounts for 30% of all cancers in women. Therefore, its early detection will play an important role in its treatment. Because lncRNAs are expressed differently in cancerous tissues than in normal tissues, they increase the potential of these molecules as biomarkers for disease diagnosis. Also, changes in the expression of lncRNAs in patients with different types of cancer subtypes and different races intensify the importance of using these molecules as biomarkers for disease diagnosis. Therefore, the aim of this study was to investigate the expression of GAS5, NEAT1 and SRA lncRNAs in cancer specimens with cancer and in healthy individuals. In this study, from the tumor tissue of 22 patients with breast cancer and also 22 samples of healthy tissue from individuals under the direct supervision of a pathologist and according to clinical signs and laboratory findings were collected from hospitals in Isfahan. After RNA extraction from tumor and normal tissue, cDNA was fabricated according to RT-qPCR method. The lncRNA expression level of GAS5, NEAT1 and SRA genes was calculated by  $\Delta\Delta CT$  method. The expression pattern was analyzed using Rest 2009 software as well as SPSS version 16. Real Time Reverse transcription-PCR results showed that the mean relative gene expression in tumor samples was significantly lower for GAS5 and NEAT1 lncRNAs than normal samples. But no expression change was observed for lncRNA SRA.

**Keywords:** Breast cancer, GAS5, gene expression, lncRNA, NEAT1, Technique RT-qPCR, SRA.

شهریار سعیدیان<sup>۱</sup>، ذهرا بقایی فر<sup>۲</sup>، زیور پرواتک<sup>۳</sup>، مختار فتحی<sup>۴\*</sup>

۱. استادیار بیوشیمی، دانشگاه پیام نور، ایران  
۲. استادیار سلولی تکوینی گیاهی، دانشگاه پیام نور، ایران  
۳. کارشناس ارشد بیوشیمی، دانشگاه پیام نور، ایران  
۴. استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه پیام نور، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۵/۱۹ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۷/۲۳)

**چکیده**

سرطان سینه در زنان در حدود ۱۰ درصد از کل سرطان‌های موجود و ۳۰ درصد از کل سرطان‌های درگیری را شامل می‌شود. بنابراین تشخیص زودهنگام آن نقش بسزایی در درمان خواهد داشت. از آنجا که lncRNAها در بافت‌های سرطانی نسبت به بافت‌های نرم‌مال بیان متغیر دارد، پتانسیل این مولکول‌ها را به عنوان بیومارکر برای تشخیص بیماری بالا می‌برد. همچنین تغییرات بیان lncRNAها در بیماران با نوع سابتایپ سرطان و تعداد استفاده از این مولکول‌ها را به عنوان بیومارکر برای تشخیص بیماری تشدید می‌کند. لذا هدف از این پژوهش، بررسی میزان بیان lncRNAهای NEAT1، GAS5 و SRA در نمونه‌های توموری ۲۲ فرد مبتلا به سرطان و افراد سالم بود. در این مطالعه از بافت سالم از افراد تحت نظرات مستقیم پاتولوژیست و با توجه به عالیم بالینی و یافته‌های آزمایشگاهی از بیمارستان‌های شهر اصفهان جمع‌آوری شدند. پس از استخراج RNA از بافت توموری و نرم‌مال، ساخت cDNA طبق روش NEAT1 RT-qPCR انجام شد. سطح بیان lncRNA ژن‌های GAS5 و SRA با استفاده از روش  $\Delta\Delta CT$  محاسبه گردید. الگوی بیان‌ها با استفاده از نرم‌افزار Rest 2009 و SPSS نسخه ۱۶ مورد تحلیل قرار گرفت. نتایج این مطالعه نشان داد میانگین میزان بیان نسبی ژن در نمونه‌های توموری، برای lncRNAهای NEAT1 و GAS5 به طور معنی‌دار کمتر از نمونه‌های نرم‌مال بود. ولی برای lncRNA SRA هیچ تغییر بیانی مشاهده نگردید.

**واژه‌های کلیدی:** بیان ژن، تکنیک RT-qPCR، سرطان سینه، SRA، NEAT1، GAS5، lncRNA

## مقدمه

سرطان سینه یا پستان اولین سرطان مرگ آور برای زنان می‌باشد. این سرطان بهندرت در زنان کمتر از سن ۲۵ سال دیده می‌شود، به جز در شرایطی که مسائل فامیلی در میان باشد. مناطق جغرافیایی، مسائل ژنتیکی، سن، طول زمان زایایی، تعداد حاملگی‌ها، سن اولین حاملگی، چاقی و استفاده از هورمون استروژن می‌تواند ریسک ابتلا به این سرطان را تحت تأثیر قرار دهد. سرطان سینه یک بیماری منفرد نیست بلکه حداقل شامل ۱۸ نوع تومور است که از نظر مورفولوژیکی متفاوت هستند (Balazs & Phillip, 2015). بین انواع مختلف تومورهای سینه از نظر رفتارهای کلینیکی و خصوصیات هیستوپاتولوژیکی تفاوت‌هایی وجود دارد. علاوه بر این تومورهای سینه با نوع هیستوپاتولوژیکی مشابه می‌توانند رفتارهای کلینیکی متفاوتی از نظر پتانسیل متاستاز و پاسخ به درمان نشان دهند.

بررسی‌ها نشان می‌دهد که سه عامل اصلی در سرطان سینه می‌تواند دخیل باشد شامل فاكتورهای ژنتیکی، بهم ریختن توازن هورمون‌ها و فاكتورهای محیطی. بدون شک استعداد ژنتیکی، ریسک خطر ابتلا به سرطان سینه را در افراد درجه یک افزایش می‌دهد. به عنوان مثال امروزه ثابت شده که جهش ژن *BRCA1* روی بازوی بلند کروموزوم ۱۷ در خانواده‌هایی که در سنین پایین دچار این سرطان می‌شوند، وجود دارد. زیاد بودن هورمون استروژن یا عدم توازن هورمون‌ها به گونه‌ای واضح نقش مهمی را ایفا می‌کند. فاكتورهایی چون طولانی بودن زمان بارور بودن و یا سن اولین بارداری و زایمان سبب افزایش استروژن در سیکل قاعدگی می‌شود. همچنین تومورهای تخمداهن می‌توانند سبب افزایش سطح استروژن گردند. امروزه ارتباط این افزایش با سرطان سینه ثابت شده است (Karami & Mehdipour, 2013). هورمون استروژن می‌تواند ترشح عده‌ای از پرومومترهای رشد را مانند *TGF-a*, *FGF*, *PDGF*،

## مواد و روش‌ها

در این مطالعه، پروفایل بیان *GAS5* *lncRNA*، *SRA* و *NEAT1* بر روی جمعیت ۴۴ نفر، متشکل از ۲۲ بیمار مبتلا به سرطان سینه و ۲۲ فرد سالم، به عنوان گروه کنترل مورد بررسی قرار گرفت. افراد گروه بیمار و کنترل، از نظر محدوده سنی با هم همسان شدند. نمونه‌ها از بیمارستان اصفهان جمع آوری شدند.

*EGF* و *TGF-b* افزایش دهد. این فاكتورها می‌توانند از سلول‌های سرطانی پستان ترشح شده و سبب پیشرفت تومور در بدن فرد گردند (Balazs & Phillip, 2015). اختلال در بیان بعضی از آنکوژن‌ها و ژن‌های سرکوب‌کننده تومور می‌تواند در ابتلا به این بیماری دخیل باشد. به عنوان مثال، افزایش بیان ژن *erb-B2/neu* که شبیه گیرنده فاكتور رشد عمل می‌کند در ۳۰ درصد از سرطان‌های سینه دیده می‌شود. حتی این افزایش بیان، پیشرفت بیماری را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهد *lncRNA* (Davies et al., 1998). به طور کلی *RNA*‌های غیر کدکننده بالای ۲۰۰ *nucleotide* می‌باشند. *lncRNA*‌ها بر خاموشی ژن، سیگنال‌های آدنیلاسیون و فاكتورهای مؤثر بر رونویسی تأثیر دارند. از جمله *lncRNA*‌ها می‌توان *H19*, *GAS5*, *MALAT1*, *HOTAIR*, *XIST*, *Guttman et al., 2009* و *NEAT1* *SRA* را نام برد (NEAT1). در چند سال اخیر *RNA*‌های غیر کدکننده به ویژه *RNA*‌های غیر کدکننده کوتاه و بلند به خاطر ویژگی‌های منحصر بفردشان توجه پژوهش‌گران را به خود جلب کرده‌اند. از آنجاکه *lncRNA*‌ها در بافت‌های سرطانی نسبت به بافت‌های نرمال بیان متغیر دارد، پتانسیل این مولکول‌ها را به عنوان بیومارکر برای تشخیص بیماری بالا می‌برد. همچنین تغییرات بیان *lncRNA*‌ها در بیماران با نوع سابتایپ سرطان و نژاد متفاوت، اهمیت استفاده از این مولکول‌ها را به عنوان بیومارکر برای تشخیص بیماری تشدید می‌کند.

از آغازگر الیگومر تیمیدین و با استفاده از کیت شرکت تاکارا-ژاپن در حجم  $1\text{ }\mu\text{l}$  ۱۰ طبق دستورالعمل شرکت سازنده به cDNA تبدیل شد.

برای انجام آزمایش qPCR از دستگاه Rotor-Gene برای انجام آزمایش SYBR® Premix Ex Taq™ II 6000 و کیت شرکت تاکارا-ژاپن استفاده شد. تمامی پرایمرهای استفاده شده در این آزمایش ساخت شرکت GENERay (Shanghai Generay Biotech CO, Ltd) بود. پرایمر رفت<sup>۱</sup> و پرایمر برگشت<sup>۲</sup> به صورت اختصاصی، توسط نرمافزار الیگو ۷ طراحی شد و به منظور تعیین صحت طراحی در پایگاه اینترنی NCBI Blast شدند. PUM1 که یک ژن با تغییرات بیان بسیار ناچیز در سرطان سینه می‌باشد نیز به عنوان کنترل داخلی<sup>۳</sup> (۴۱ و ۶۸) استفاده گردید. توالی پرایمرهای طراحی شده برای PUM1 LncRNA، GASS5، NEAT1، SRA و در جدول ۱ آمده است.

هر واکنش در حجم ۱۵ میکرولیتر شامل، ۷/۵ میکرولیتر SYBR Green Master Mix، ۱ میکرولیتر از هر پرایمر (غلظت ۵ پیکومول)، ۱ میکرولیتر cDNA (غلظت ۱۰۰۰ نانوگرم بر میکرولیتر) و ۹ میکرولیتر آب مقطر PCR انجام گردید. پس از تهیه حجم مورد نظر واکنش در ۴۰ سیکل شامل، فعال‌سازی اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، واسرشت‌سازی در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه، اتصال پرایمرها در دمای مناسب به مدت ۲۰ ثانیه، بسط در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و تنظیم دما در بازه ۶۵ تا ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه، بسط در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ ثانیه، برای سنتز cDNA به عناوan الیگو در واکنش Reverse transcription-PCR با استفاده از دستگاه ابتدا غلظت و خلوص RNA با استفاده از دستگاه نانودرایپ تعیین شد و غلظت RNA بر حسب  $\text{ng}/\text{ }\mu\text{l}$  و نیز نسبت جذب ۲۶۰ به ۲۸۰ مورد بررسی قرار گرفت. برای این کار میزان  $1\text{ }\mu\text{l}$  از هر نمونه برای سنجش غلظت در دستگاه نانودرایپ، استفاده شد. نظر را از روش  $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$  به دست آورد.

گردیدند. افراد گروه شاهد این مطالعه، همان افراد گروه بیمار هستند که از بخش‌های کاملاً سالم سینه آنها نمونه‌گیری بافت به عمل آمد. همه این نمونه‌های بافت (تومور و سالم) توسط یک پزشک متخصص پاتولوژیست، معاینه و طبق معیارهای گزارش شده، از نظر تومور یا سالم‌بودن نمونه، مورد تأیید قرار گرفتند. نمونه‌های انتخاب شده هیچ‌کدام پیشتر جراحی، شیمی درمانی یا رادیوتراپی انجام نداده بودند. همه افراد مورد مطالعه به پرسشنامه کتبی شامل سؤالاتی از جمله محل تولد، نژاد، نوع ازدواج، سن شروع سرطان، سابقه خانوادگی سرطان، سابقه مصرف دارو و ... پاسخ دادند. مقدار ۲۰۰ میکروگرم از نمونه‌های بافت بلافارسله پس از جراحی درون محلول RNA Latter غوطه‌ور شده و به مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی دانشگاه آزاد واحد شهرکرد منتقل شدند. روش استفاده از RNA Latter کیاژن به این صورت بود که نمونه‌های قرار گرفته در ابتدا RNA Latter ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه و سپس در فریزر -۲۰ درجه نگهداری شدند.

RNA کلی با استفاده از RNX-Plus تخلیص شد بلافارسله جهت سنتز cDNA مورداستفاده قرار گرفت. جهت سنجش کیفیت RNA کل استخراج شده، از ژل آگارز با غلظت ۲ درصد استفاده شد. مشاهده باندهای RNAهای ریبوزومی (۱۸S، ۲۸S) کیفیت، جامعیت و صحت استخراج RNA را تأیید نمود (شکل ۱). جهت اطمینان از عدم آلودگی RNA استخراج شده با DNA ژنومی از آنزیم (DNase I) عاری از Rnase (TaKaRa, Japan) مطابق دستورالعمل شرکت سازنده استفاده شد. برای سنتز cDNA به عناوan الیگو در واکنش Reverse transcription-PCR با استفاده از دستگاه ابتدا غلظت و خلوص RNA با استفاده از دستگاه نانودرایپ تعیین شد و غلظت RNA بر حسب  $\text{ng}/\text{ }\mu\text{l}$  و نیز نسبت جذب ۲۶۰ به ۲۸۰ مورد بررسی قرار گرفت. برای این کار میزان  $1\text{ }\mu\text{l}$  از هر نمونه برای سنجش غلظت در دستگاه نانودرایپ، استفاده شد. سپس ۱ میکروگرم از RNA استخراج شده با استفاده

1. Forward  
2. Reverse  
3. Reference Gene

### جدول ۱. توالی آغازگرهای مورد استفاده در روش RT-qPCR

سایز باند (bp)	دماي اتصال (درجه سانتي گراد)	توالی پرایمر	پرایمر
54	101	F: 5'-TGGCTAGCTAGGGCTTCAG-3' R: 5'-TCTCTTGCAAGCTCCTTC-3'	<i>NEAT1</i>
56	114	F: 5'-CCTATTGCACTGTATCACCC-3' R: 5'-CCCCAATCTCAGTAATCTGG-3'	<i>SRA</i>
53	187	F: 5'-CACACAGGCATTAGACAGA-3' R: 5'-GCTCCACACAGTGTAGTCA-3'	<i>GAS5</i>
58	165	F: 5'-CCAGCAGGTAATTAATGAGA-3' R: 5'-GATAAGGCAAATACCTGTCC-3'	<i>PUM1</i>



شکل ۱. RNA استخراج شده روی ژل آغازر ۱ درصد.  
(ستون M: مارکر ۱ کیلو جفت بازی شرکت فرمتو، ستون ۱-۴: نمونه‌های RNA)

### آزمون‌های آماری

به منظور مطالعه آماری میزان تغییرات بیان نسیی LncRNA ها در نمونه‌های مبتلا به سرطان سینه در مقایسه با افراد سالم، از نرم‌افزار REST 2009 استفاده شد. همچنین نتایج به دست آمده به وسیله‌ی نرم‌افزار SPSS 16.0 مورد تحلیل آماری قرار خواهد گرفت؛ از آزمون ANOVA و LSD و نیز آزمون Independent T-test جهت بررسی وجود ارتباط و میزان معنی‌داری داده‌ها استفاده شد.

همچنین به منظور سنجش و مقایسه درستی بیان ژن از ژن PUM1 با قابلیت ثبات در شرایط مختلف و تغییرات بیان ناچیز در سرطان سینه - نیز به عنوان ژن مرجع<sup>۱</sup> استفاده گردید. برنامه دمایی PCR برای هر سه ژن به صورت یکسان انتخاب شد. پس از اتمام چرخه‌های PCR منحنی ذوب با برنامه دمایی ۱ درجه سانتی‌گراد در هر چرخه و بین ۶۵-۹۹ درجه سانتی‌گراد به منظور بررسی اختصاصیت PCR رسم گردید. از هر نمونه چهار تکرار مورد آزمایش قرار گرفت.

### نتایج

بررسی بیان LncRNA های *NEAT1*, *GAS5* و *SRA* به روش RT-qPCR با استفاده از TaqTM II ki SYBER®Premix Ex شکل‌های ۲، ۳ و ۴ مربوط به منحنی‌های ذوب مربوط به *NEAT1*, *GAS5* و *SRA* نشان می‌دهد که وجود تک منحنی نشان‌دهنده اختصاصی بودن تکثیر

### روش $\Delta\Delta Ct$

در روش  $\Delta\Delta Ct$  از رابطه‌های زیر استفاده شد:  

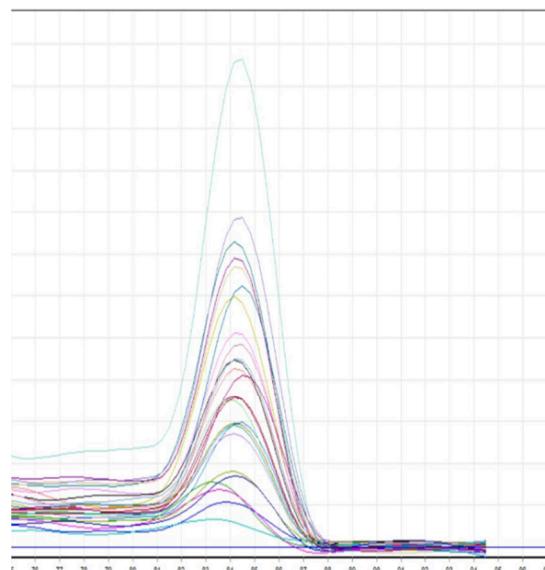
$$\text{رابطه ۱} \quad -\Delta\Delta Ct = -(\Delta Ct_{\text{sample}} - \Delta Ct_{\text{control}})$$

$$\text{رابطه ۲} \quad \text{تغییر بیان} = 2^{-\Delta\Delta Ct}$$

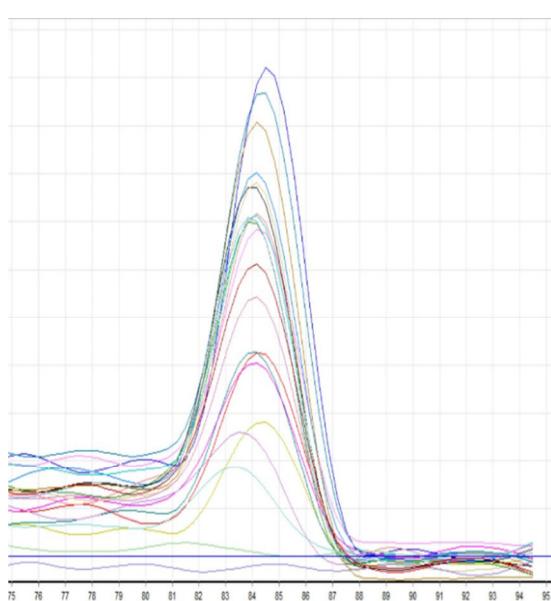
<sup>۱</sup>- Reference Gene

نمونه غیر توموری با استفاده از روش RT-qPCR انجام شد. مقایسه میزان میانگین بیان نسبی ژن در نمونه‌های توموری در بازه‌های سنی ذکر شده در آزمون آماری، نشان داد میانگین میزان بیان نسبی ژن در نمونه‌های *NEAT1*، *GAS5* و *SRA* lncRNA توموری برای lncRNAs *GAS5* و *NEAT1* به طور معنی‌دار کمتر از نمونه‌های نرمال می‌باشد (شکل‌های ۵ و ۶). ولی برای lncRNA *SRA* هیچ تغییر بیانی مشاهده نشد (شکل ۷).

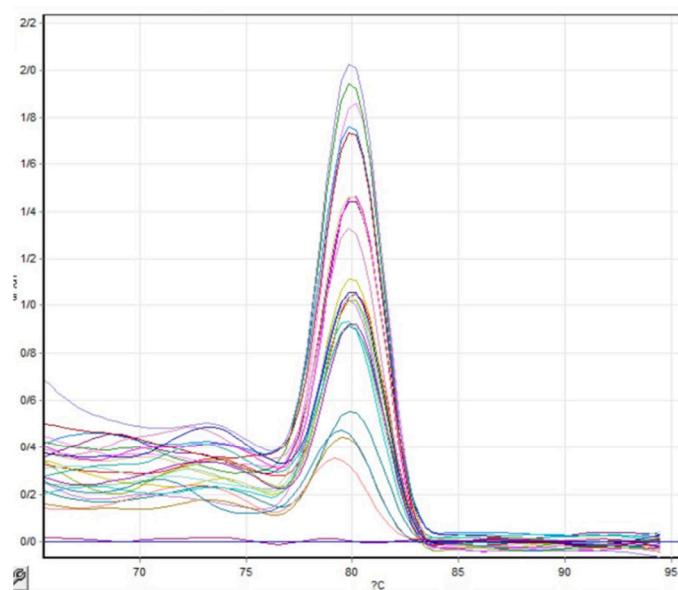
در هر کدام می‌باشد. علاوه بر این، محصول PCR نیز بر روی ژل آگار ۲ درصد قرار گرفت و مشاهده شد که در هر کدام از واکنش‌های انجام‌شده با پرایمرهای *PUMI*, *SRA*, *NEAT1*, *GAS5* یک باند اختصاصی وجود دارد که این نیز یک اختصاصی بودن نتایج PCR در نمونه‌های مورد نظر را تأیید کرد. بررسی میانگین بیان نسبی ژن (نرمال شده نسبت به ژن کنترل داخلی *PUMI*) در ۲۲ نمونه توموری و ۲۲ نمونه غیر توموری در هر کدام می‌باشد. علاوه بر این، محصول PCR نیز بر روی ژل آگار ۲ درصد قرار گرفت و مشاهده شد که در هر کدام از واکنش‌های انجام‌شده با پرایمرهای *PUMI*, *SRA*, *NEAT1*, *GAS5* یک باند اختصاصی وجود دارد که این نیز یک اختصاصی بودن نتایج PCR در نمونه‌های مورد نظر را تأیید کرد.



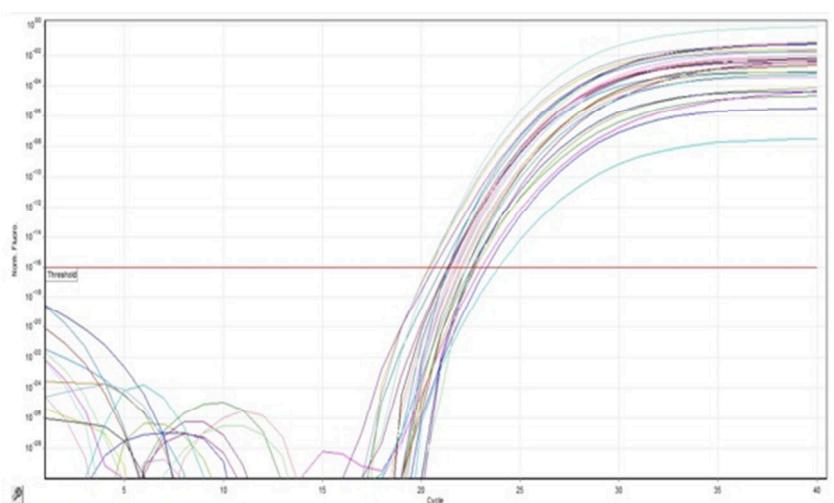
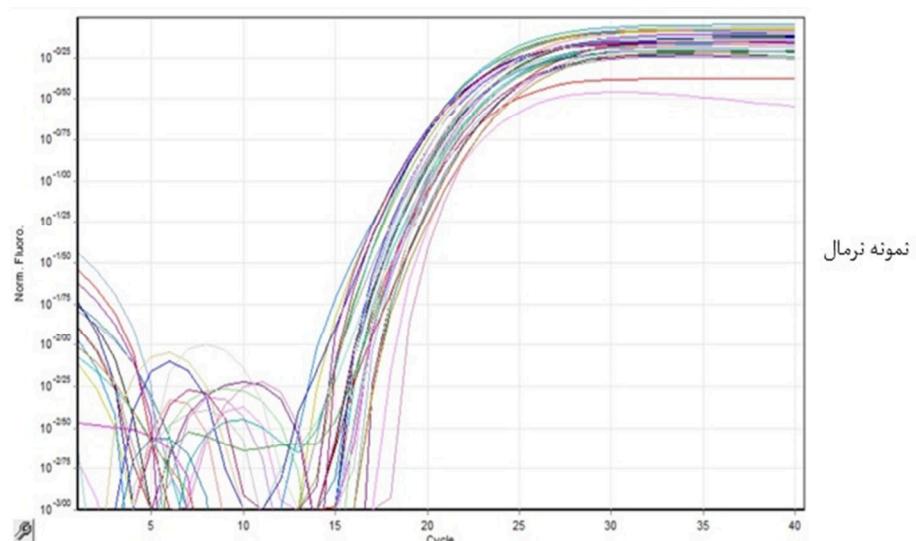
شکل ۲. نمودار منحنی ذوب مربوط به LncRNA *GAS5*



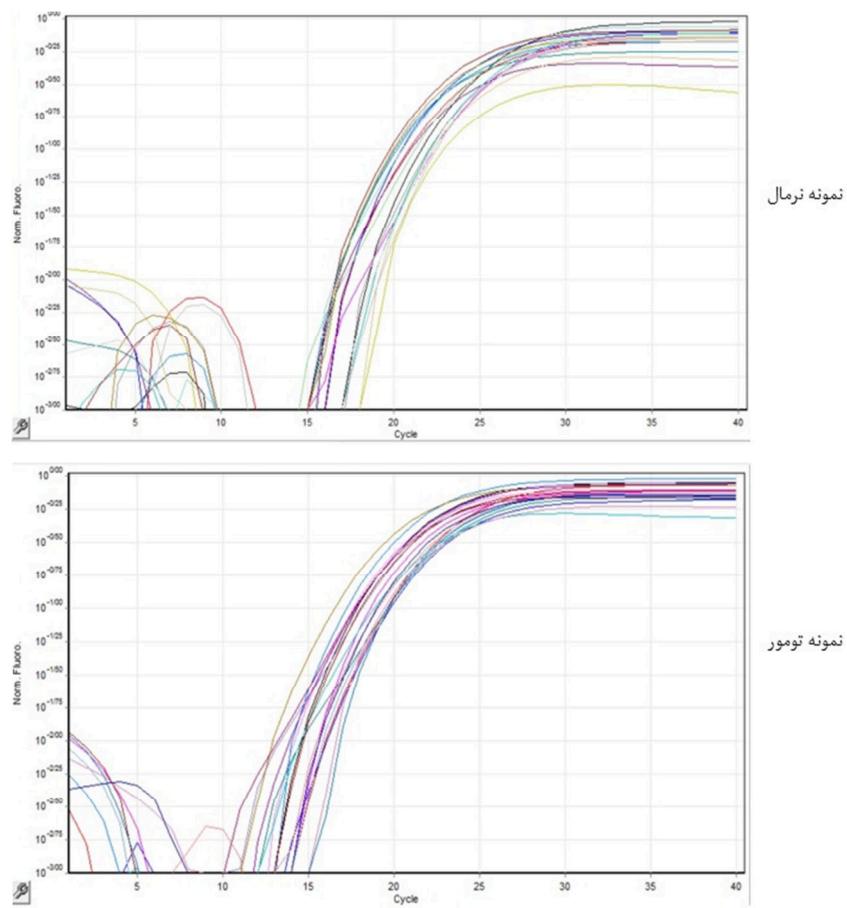
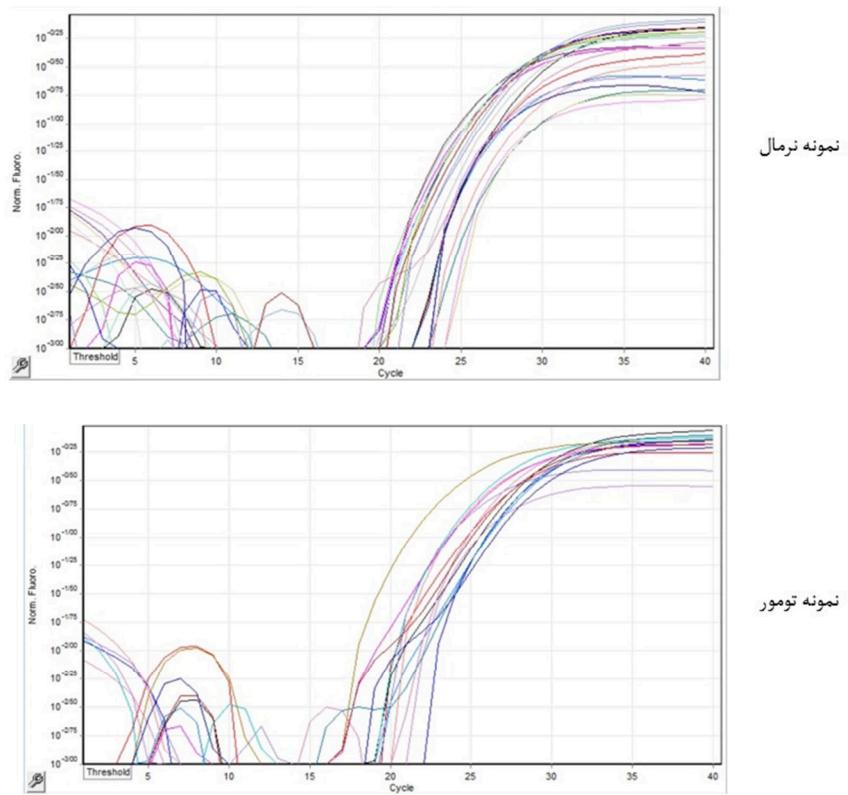
شکل ۳. نمودار منحنی ذوب مربوط به LncRNA *NEAT1*



شکل ۴. نمودار منحنی ذوب مربوط به LncRNA SRA



شکل ۵. نمودار منحنی تکثیر مربوط به LncRNA GASS5

شکل ۶. نمودار منحنی تکثیر مربوط به LncRNA *NEAT1*شکل ۷. نمودار منحنی تکثیر مربوط به LncRNA *SRA*

افزایش بیان lncRNA SRA را باعث افزایش شانس بقا در بیماران مبتلا به سرطان سینه دانستند. آنها همچنین بیان کردند افزایش بیان lncRNA SRA باعث کاهش قدرت تهاجم تومور می‌شود. همچنین lncRNA Mourtada *et al.* (2011) به بررسی بیان GAS5 نشان دادند کاهش بیان GAS5 در سرطان سینه اتفاق افتاد.

همچنین Lanz & Chua (2003) با بررسی بیان lncRNA SRA در سرطان‌های سینه، رحم و تخمدان افزایش بیان lncRNA SRA در هر سه سرطان (سینه، رحم و تخمدان) را نشان دادند. علاوه بر این، Zhang *et al.* (2013) در مطالعه‌ای نشان دادند که miR-21 قادر است lncRNA GAS5 را سرکوب کند. این ارتباط منفی بین miR-21 و GAS5 در نمونه‌های سرطان سینه نیز مشاهده شده است. GAS5 نیز قادر است بیان miR-21 را مهار کند. آنها همچنین یک جایگاه اتصال برای miR-21 lncRNA GAS5 مشخص روی اگزون شماره ۴ کردند که حذف این جایگاه اتصال، باعث از بین رفتن فعالیت miR-21 خواهد شد. در مطالعه‌ای توسط Meng *et al.* (2014) بیان lncRNA (et al., 2011) نیز در ۸۸۷ نمونه سرطان سینه مورد بررسی قرار گرفت. مجموعه‌ای از چهار ژن در نمونه‌ها شناسایی گردید که عبارت بودند از U79277، AK024118، BC040204 و AK000974. آن‌ها همچنین در این مطالعه رابطه سن و سابتایپ با lncRNA‌ها را مورد بررسی قرار دادند.

Choudhry *et al.* (2014) نیز در مطالعه‌ای lncRNA NEAT1 را به عنوان یک RNA غیرکدکننده بلند در سرطان سینه که با افزایش بیان همراه است مورد بررسی قرار دادند. نتایج این مطالعه که روی ۲۰۰۰ بیمار مبتلا به سرطان سینه انجام گرفت، نشان داد lncRNA NEAT1 ارتباط ویژه‌ای با نتایج کلینیکی و آسیب‌شناسی بالینی دارد (Choudhry *et al.*, 2014; Gibb *et al.*, 2011)

## بحث و نتیجه‌گیری

سرطان سینه در زنان یکی از شایع‌ترین نوع سرطان و بیشترین علت مرگ ناشی از سرطان در میان زنان می‌باشد. با وجود استفاده از روش‌های جدید برای تشخیص این نوع سرطان نظیر مثل ماموگرافی و نمونه‌برداری سوزنی متأسفانه تغییر قابل ملاحظه‌ای در میزان مرگ‌ومیر زنان دارای این نوع سرطان در طول ۶۰ سال دیده نمی‌شود. براساس آخرین گزارش کشوری، سرطان پستان در ایران، سومین سرطان شایع در زنان و مردان می‌باشد (۱۰ درصد کل سرطان). برخلاف کشورهای غربی به نظر می‌رسد سن شایع آن Ebrahimi *et al.*, (2002) بین ۳۵ تا ۴۴ سالگی باشد (). در چند سال اخیر RNA‌های غیرکدکننده، بهویژه RNA‌های غیر کدکننده کوتاه و بلند به‌خاطر ویژگی‌های منحصر بفردشان توجه محققان را به خود جلب کرده‌اند. از آنجاکه lncRNA‌ها در بافت‌های سرطانی نسبت به بافت‌های نرم‌البته نسبت به این مولکول‌ها را به عنوان بیومارکر برای تشخیص بیماری بالا می‌برد. همچنین تغییرات بیان lncRNA‌ها در بیماران با نوع سابتایپ سرطان و نژاد متفاوت، اهمیت استفاده از این مولکول‌ها را به عنوان بیومارکر برای تشخیص بیماری تشدید می‌کند (Gibb et al., 2011).

در مطالعه‌ای Xin & Zheng (2015) به بررسی lncRNA GAS5 در انواع مختلف سرطان‌ها از جمله سرطان سینه، ریه، معده، پانکراس، پروستات و خون پرداختند. نتایج مطالعه آنها کاهش بیان این lncRNA را در کلیه سرطان‌های ذکر شده نشان داد. Berteaux *et al.* (2005) نشان دادند بیان lncRNA CCAT2 مربوط به GAS5 و H19 در سرطان سینه و همچنین در پیشرفت تومور افزایش یافت. همچنین Perander (2014) در مطالعه‌ای نشان داد افزایش بیان 1 lncRNA NEAT1 با نشان داد افزایش کلینیکی سرطان سینه و سرطان پروستات ویژگی‌های کلینیکی سرطان سینه و سرطان پروستات مرتبط است. در مطالعه‌ای دیگر Leygue (2007)

## REFERENCES

- Balazs, I.; Phillip, T. (2015). Breast Cancer Survivorship: A Comprehensive Review of Long-Term Medical Issues and Lifestyle Recommendations. *The Permanente Journal*; 19(2): 48-79.
- Berteaux, N.; Lottin, S.; Monte, D.; Pinte, S.; Quatannens, B. (2005). H19 mRNA-like noncoding RNA promotes breast cancer cell proliferation through positive control by E2F1. *The Journal of Biological Chemistry*; 280:29625-29636.
- Choudhry, H.; Schodel, J.; Albukhari, A.; Oikonomopoulos, S.; Haider, S.; Moralli, D. (2014). Unlocking the complexity of hypoxia non-coding transcriptome landscape of breast cancer. *BMC Genom*; 15(2): 30.
- Davies, B.R.; Auersperg, N.; Worsley, S.D.; Ponder, B.A. (1998). Transfection of rat ovarian surface epithelium with erb-B2/neu induces transformed phenotypes in vitro and the tumorigenic phenotype in vivo. *The American Journal of Pathology*; 152(1): 297-306.
- Ebrahimi, M.; Vahdaninia, M.; Montazeri, A. (2002). Risk factors for breast cancer in Iran: a case-control study. *Breast Cancer Research*; 4(5): R10.
- Guttman, M.; Amit, I.; Garber, M.; French, C.; Lin, M.F. (2009). Chromatin signature reveals over a thousand highly conserved large non-coding RNAs in mammals. *Nature*; 458: 223-227.
- Gibb, E.A.; Brown, C.J.; Lam, W.L. (2011). The functional role of long non-coding RNA in human carcinomas. *Molecular Cancer*; 10: 38.
- Karami, F.; Mehdipour, P. (2013). A Comprehensive Focus on Global Spectrum of BRCA1 and BRCA2 Mutations in Breast Cancer. *BioMed Research International*. 928562.
- Lanz, R.B.; Chua, S.S. (2003). Barron stimulates proliferation as well as apoptosis in vivo. *Molecular and Cellular Biology*; 23: 7163-76.
- Leygue, E. (2007). Steroid receptor RNA activator (SRA1): unusual bifaceted gene products with suspected relevance to breast cancer. *Nuclear Receptor Signal* 5: e006.
- Meng, J.; Li, P.; Zhang, Q.; Yang, Z.; Fu, S. (2014). A four-long non-coding RNA signature in predicting breast cancer survival. *The Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*; 33(84): 1-10.
- Mourtada-Maarabouni, M.; Pickard, M.R.; Hedge, V.L.; Farzaneh, F.; Williams, G.T. (2009). GAS5, a non-protein-coding RNA, controls apoptosis and is downregulated in breast cancer. *Oncogene*; 28: 195-208.
- Perander, M. (2014). The long non-coding RNA NEAT1 is upregulated during epithelial-mesenchymal transition and is abnormally expressed in breast cancer. *RNA*; 20: 1844-184.
- Xin, Y.U.; Zheng, L.I. (2015). Long non-coding RNA growth arrest-specific transcript 5 in tumor biology (Review). *Oncology Letters*; 10(4): 1953-1958.
- Zhang, Z.; Zhu, Z.; Watabe, K.; Zhang, X.; Bai, C.; Xu, M. (2013). Negative regulation of lncRNA GAS5 by miR-21. *Cell Death & Differentiation*; 20(11): 1558-1568.