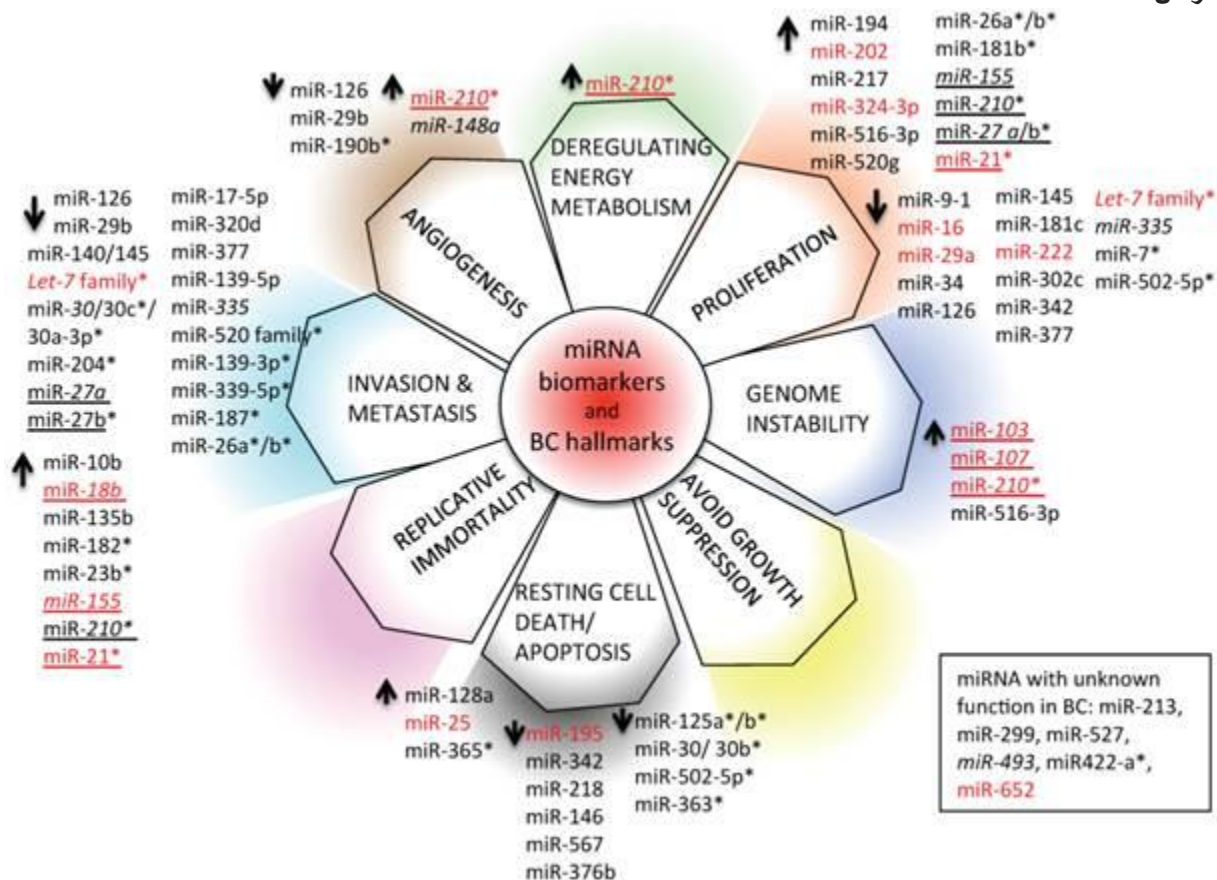


مروري بر ساختار و عملکرد میکروRNA ها (microRNA) و نقش میکروارناها در پدیده های زیستی مانند سرطان



تحقیقات صورت گرفته حاکی از آن است که پروفایل بیانی بسیاری از ncRNA ها از جمله miRNA ها در بسیاری از بیماری ها از جمله سرطان تغییر می کند. این مدرک بیانگر نقش این عوامل در ایجاد بسیاری از بیماری ها می باشد (۱۳۵).

اولین گزارش مبنی بر نقش miRNA در ایجاد سرطان در سال ۲۰۰۲ ارائه شد (۱۳۶). پس از آن در سال ۲۰۰۴، miRNA به عنوان یک بیومارکر در تشخیص و میزان پیشرفت بیماری مدنظر قرار گرفت (۱۳۷). در سال ۲۰۰۵ میانکنش بین miRNA و ژن های هدف آن در سرطان موردتوجه قرار گرفت (۱۳۸). در همین سال مشخص شد که تغییرات بیان miRNA در رشد و شکل گیری تومور در بدن موجود تأثیرگذار است (۱۳۹). در سال ۲۰۰۶ تنظیم بیان miRNA با اپی-ژنتیک در سلول های پستانداران گزارش شد (۱۴۰). همچنین تأثیر

تغییر بیان miRNA ها در ایجاد بیماری های قلبی عروقی عنوان گردید (۱۴۱). در طول سال ۲۰۰۷ چندین گزارش مبنی بر نقش این عوامل در ایجاد بیماری های نورودژنراتیو، متاستاز و خودایمنی ارائه گردید. در سال ۲۰۰۸ گزارشی مبنی بر وجود این عوامل در سرم و پلاسما ارائه گردید. سال ۲۰۰۹ سال آغاز مطالعاتی بود که از miRNA در درمان سرطان بهره می جست (۱۴۲). سال ۲۰۱۰ مشخص گردید که بیش بیان تنها یک miRNA می تواند سبب ایجاد سرطان گردد (۱۴۳). امروزه تحقیقات بر روی این عوامل مهم سلولی همچنان ادامه دارد. در اغلب مقالات به نقش مهاری miRNA ها در بیان ژنهای هدف اشاره کرده اند. اخیراً مشخص شده است که miRNA ها در برخی موارد می توانند نقش تنظیمی مثبت داشته باشند (۱۴۴).

miRNA ها نقش های کلیدی و مهمی در بسیاری از فرایندهای کلیدی بیولوژیکی از جمله رشد سلول، تمایز بافتی، تکثیر سلولی، نمو جنینی و آپوپتوز ایفا می کنند. همچنین در شبکه های سیگنالینگ سلولی، تفاوت های بیان ژنی بین گونه ای و هم بیانی با فاکتورهای نسخه برداری نیز دخیل اند. از این رو جهش در miRNA ها، نقص عملکردی، نقص در سنتز و نقص در تنظیم بیان miRNA ها و ژنهای هدف آنها در بسیاری از بیماری ها دخیل اند (۱۴۴).

ارتباط معنی داری بین ژن و حفظ شدگی آن در مخمر و انسان وجود دارد. پیش بینی شده است که چنانچه یک ژن از نظر تکاملی حفظ شده باشد این ژن ارتباط بیشتری با ژنهای دیگر دارد و زمانی که آسیب ببیند اثر کشندگی آن بیشتر است. این ژنها با احتمال بالاتری در بیماری ها دخیل اند. این ارتباطات

در مورد بیماریها و miRNA ها نیز بررسی شده است و وجود برخی از SNP ها در miRNA های مرتبط با بیماری گزارش شده است (۱۴۴) .

آشنایی با بیوژنز میکروRNA ها (microRNA) و عملکرد میکروارناها

در پدیده های زیستی مانند سرطان

به منظور بررسی دقیق ارتباط سازماندهی ژنومی miRNA ها با بیوژنز و عملکرد آنها، نگاهی اجمالی به این دو فرایند می اندازیم .

اغلب miRNA های توسط RNA پلیمراز II نسخه برداری می شوند ولی برخی از miRNA های دیگر، مثل یک کلاستر از miRNA های انسانی

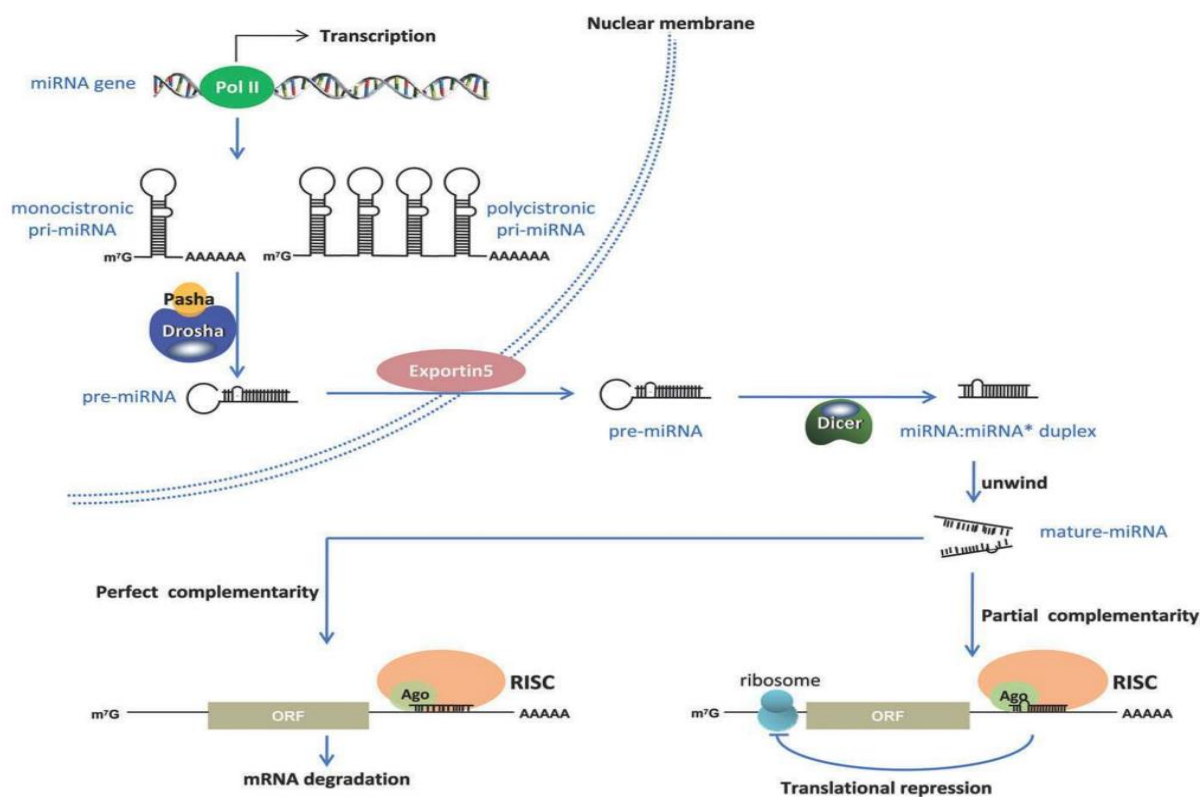
که داخل عناصر Alu در کروموزوم ۱۹ قرار گرفته اند، توسط RNA پلیمراز III نسخه برداری می شوند (۱۴۷). این ساختارهای ساخته شده در انتهای 5' خود cap و در انتهای 3' دم پلی A دارند. این ترانسکریپتها، miRNA اولیه یا pri-miRNA نامیده می شوند که اندازه آنها می تواند به چندین کیلوباز برسد و شامل یک یا چند ساختار ثانویه سنجاق سری است. پردازش اولیه pri-miRNA چه به صورت تک سیستمی و چه به صورت چند سیستمی باشد در هسته شروع می شود. این کار با شکستن بخش ساقه توسط آنزیم شبه RNase-III به نام دروشا انجام می شود. دروشا برای عملکرد خود به فعالیت کوفاکتورهای دیگر از جمله DGCR8 (که در حشرات و نماتودها پاشا نامیده می شود) صورت می گیرد. پردازش توسط دروشا و DGCR8 داخل کمپلکس میکروپروسور انجام می شود. در مورد miRNAهایی که توسط اینترونها کد می شوند، پردازش توسط این کمپلکس همزمان با نسخه برداری و اسپلایسینگ صورت می گیرد (۱۵۰).

در موارد خاصی از mirtronها، پردازش توسط دروشا ضروری نیست زیرا اینترون اسپلایس شده خود معادل یک پیش ساز پردازش شده عمل می کند (۱۵۱).

پس از عمل پردازشی توسط دروشا و یا خروج پیش ساز به صورت mirtron، یک RNA حدود ۷۰ نوکلئوتیدی ایجاد می شود که پیش ساز یا pre-miRNA نامیده می شود. pre-miRNA به شکل ساختار کوچک حلزونی درآمده و توسط exportin5 شناسایی، و از هسته به سیتوپلاسم منتقل می گردد (۱۵۰).

در سیتوپلاسم یک آنزیم اندونوکلیئاز شبه RNase-III دیگر به نام دایسر ساختار سنجاق سری pre-miRNA را شناسایی کرده و آن را در محل لوپ انتهایی آن برش می دهد و تولید یک RNA دوپلکس

تقریباً ۲۲ نوکلئوتیدی می‌کند. پس از برش توسط دایسر، دوپلکس حاصل شامل miRNA بالغ و miRNA* می‌باشد. مرحله نهایی در بیوژنز miRNA ها بارگیری miRNA- miRNA* داخل کمپلکس RISC است. RISC آخرین کمپلکس عمل‌کننده در این فرایند است. زمانی که بارگیری انجام می‌شود رشته miRNA ای که میزان جفت‌شدگی باها در انتهای 5' آن پایداری کمتری دارد متصل به این کمپلکس باقی می‌ماند درحالی‌که miRNA* یا تخریب می‌شود و یا از کمپلکس جدا می‌شود (۱۵۰).



شکل ۱-۷. بیوژنز miRNA

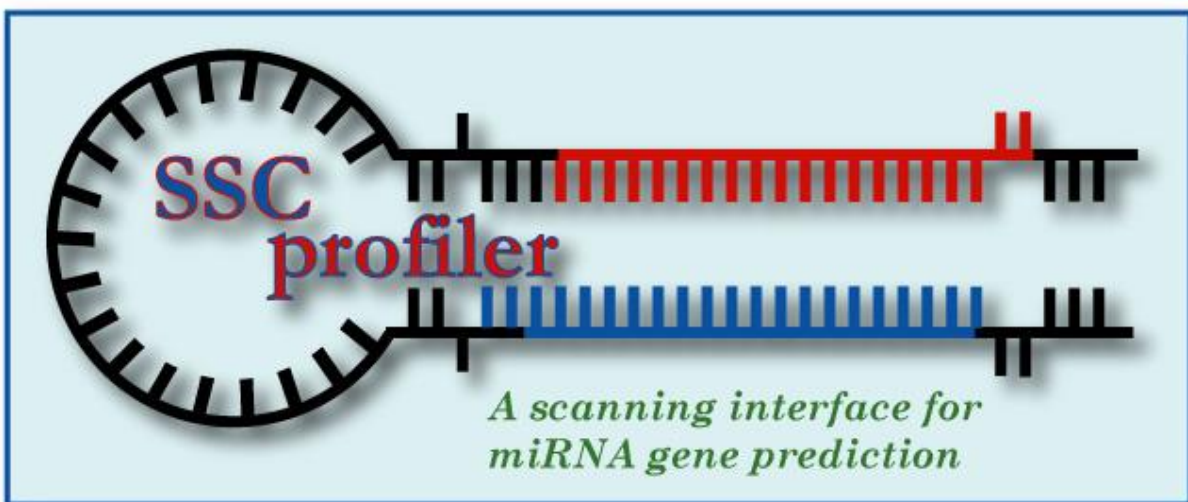
هنریک و همکارانش نشان دادند که علاوه بر دان آنزیم دروشا، بیان دسته ای از miRNA ها تغییر نکرد. آنالیزهای آماری بر روی ساختار دوم miRNA ها و تغییرات بیان آنها در پاسخ به

ناک دان دروشا نشان داد که عدم وجود جفت نشدگی^۱ در ناحیه مرکزی در توالی استم لوپ، نوکلئوتید ۵ و نوکلئوتیدهای ۹-۱۲ از جایگاه برش آنزیم دروشا، سبب کاهش حساسیت به ناک دان این آنزیم می شود. این مسئله نشان دهنده این است که در شرایط محدودکننده، miRNAهایی که در این جایگاه جفت نشدگی ندارند بهتر از miRNAهایی که دارای جفت نشدگی هستند توسط دروشا پردازش می شوند (۱۵۲).

¹mismatch

معرفی آشنایی با برخی از نرم افزارها به منظور پیش بینی و شناسایی میکروارناها (miRNA ها)

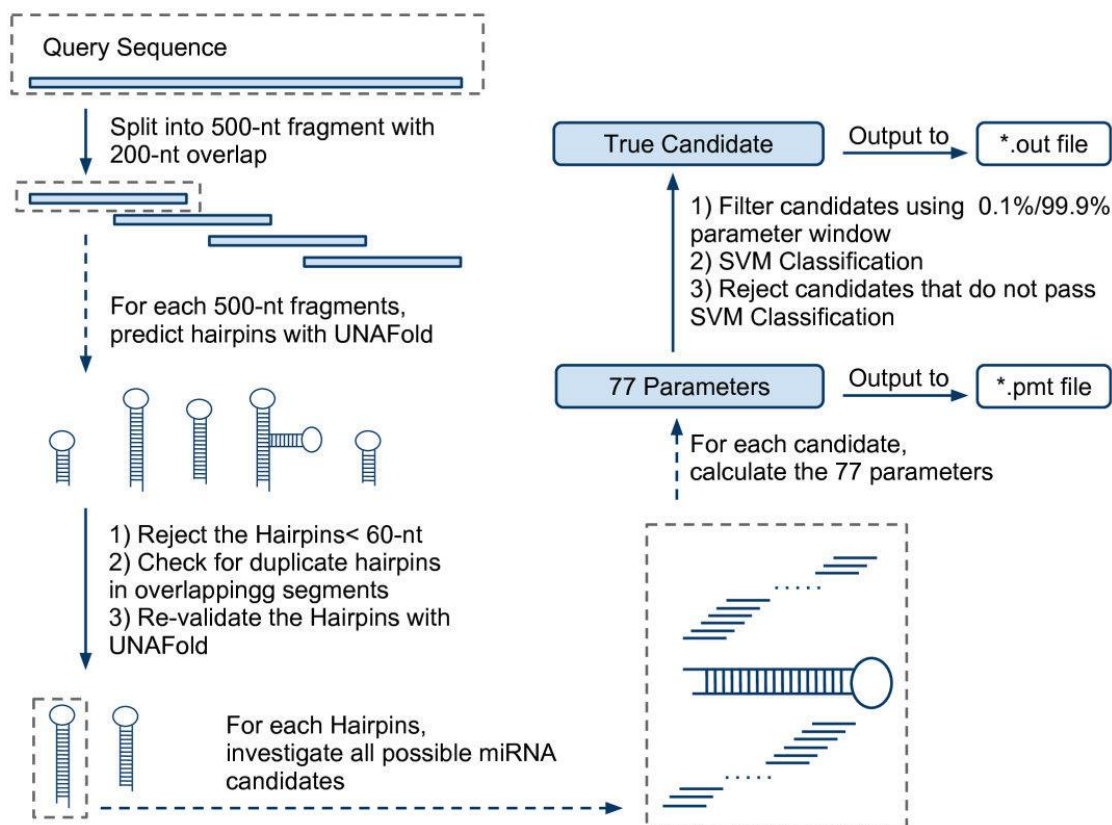
نرم افزار SSC profiler برای پیش بینی و شناسایی میکروارناها (miRNA ها)



نرم افزار SSC profiler از ویژگی های مربوط به توالی، ساختار و حفظ شدگی برای شناسایی miRNA های جدید استفاده می کند. آنالیز بیانی انجام شده توسط این نرم افزار با استفاده از داده های حاصل از tilling array بدست می آید (۱۲۱).

<http://mirna.imbb.forth.gr/SSCprofiler.html>

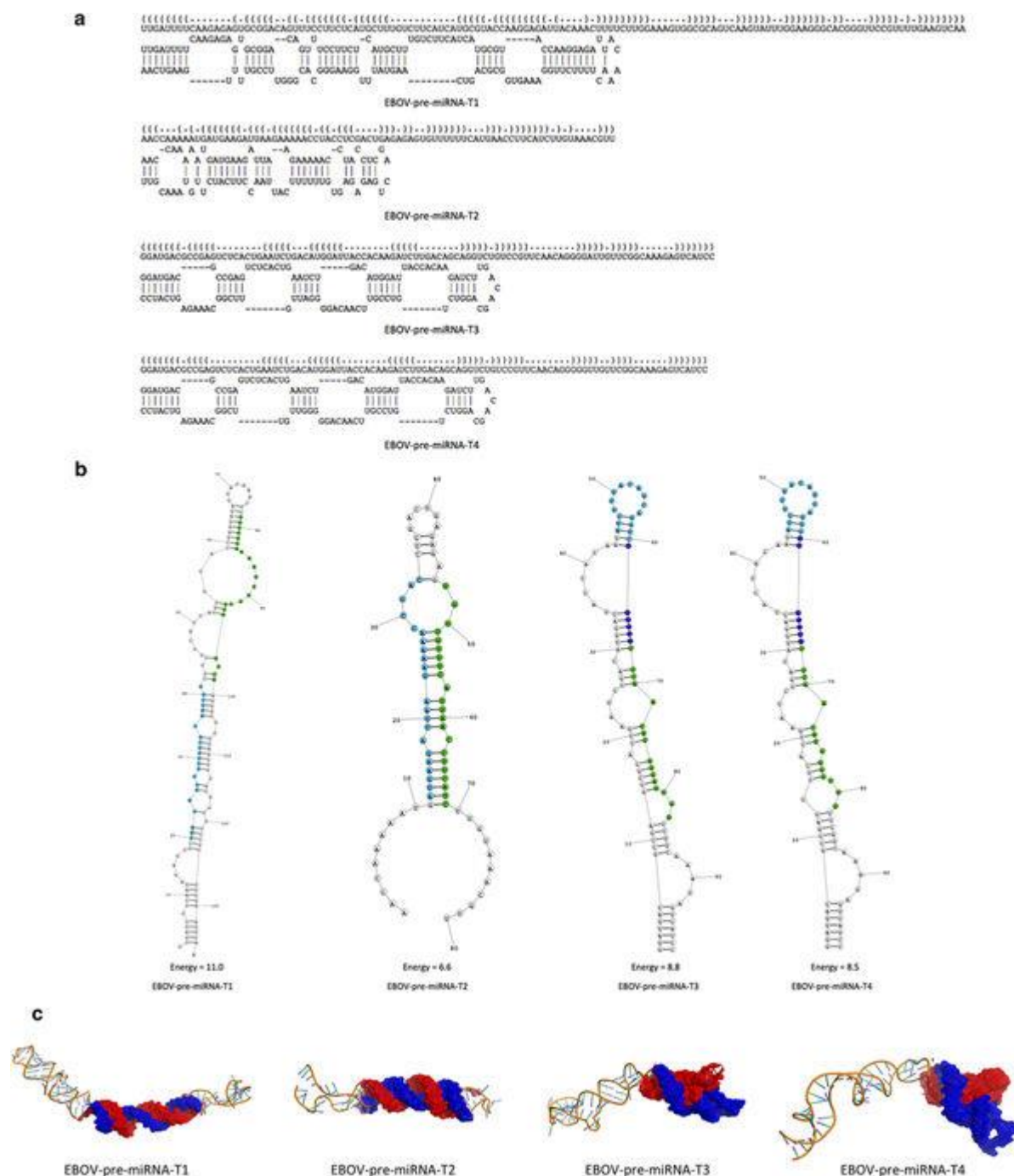
نرم افزار MirEval برای پیش بینی و شناسایی میکروارناها (miRNA ها)



با استفاده از این نرم افزار به منظور شناسایی توالی های شبه پیش سازهای miRNA، می توان به طور همزمان تا ۱۰۰۰۰ نوکلئوتید را آنالیز کرد. این آنالیز بر اساس چهار ویژگی اصلی miRNA، شامل ساختار ثانویه، حفظ شدگی توالی، بررسی کلاسترها و شباهت با miRNA های ثبت شده در miRBase انجام می شود (شکل ۱-۹). کاربر می تواند آنالیز توالی موردنظر را با استفاده از یک یا هر چهار ویژگی انجام دهد (۱۵۹).

<https://omictools.com/mireval-tool>

نرم افزار MiPred برای پیش بینی و شناسایی میکروارناها (miRNA ها)



در نرم افزار MiPred که در سایت <http://www.bioinf.seu.edu.cn/miRNA/>

در دسترس است (شکل ۱-۱۰) به منظور تمایز ساختارهای واقعی از غیرواقعی، چندین ویژگی مربوط به pre-miRNA ها شامل ویژگی های مربوط به ترکیب توالی و ساختار، حداقل انرژی آزاد ساختار

ثانویه شکل گرفته و همچنین P-Value نرمال سازی با هم بررسی می شود.

نرم افزار microprocessor برای پیش بینی و شناسایی میکروارنها (miRNA ها)

علازم اینکه تقریباً تمامی miRNA های انسانی در گونه های دیگر هم حفظ شده هستند ولی برخی از آن ها فقط خاص پستانداران هستند.

نرم افزار CID-miRNA برای پیش بینی و شناسایی میکروارناها (miRNAها)

A



(Computational identification of micro RNA)

An internet scanning tool by:
Center for Computational Biology and Bioinformatics
Jawahar Institute of Postgraduate Medical Education and Research
Tamil Nadu, India 605 006
E-mail: ghosh000@rediffmail.com ghosh000@rediffmail.com
Telephone: +91-43-26717630

[Home](#) | [Download](#) | [Help](#)

Upload Sequence

(File should be in FASTA format, with size less than 200 KB. If your file is larger than 200 KB, please download our tool for use.)

Input Sequence

(Input sequence should be more than 40 and less than 300 characters. FASTA format is acceptable.)

Organism

Minimum Terminal Stem Length

(Values equal to or above 3 are acceptable.)

Window Length to

(Acceptable values are between 40 and 140. Lowering window sizes will exponentially increase the scan time.)

Score Cutoff

(Only Negative Scores are acceptable. -0.20000 is more stringent than -0.00000.)

Structural Score Cutoff

(Only Positive Scores are acceptable. Higher Scores are more stringent.)

Use MFold Filter? ☐ Yes ☐ No

Batch? ☐ Yes ☐ No

E-mail Address

(Enter a valid e-mail address. On batch completion, a link to the scan results will be sent to this address.)

This page has been tested on Internet Explorer 6.0 and Mozilla Firefox 3.0.6

B



(Computational identification of micro RNA)

An internet scanning tool by:
Center for Computational Biology and Bioinformatics
Jawahar Institute of Postgraduate Medical Education and Research
Tamil Nadu, India 605 006
E-mail: ghosh000@rediffmail.com ghosh000@rediffmail.com
Telephone: +91-43-26717630

CIDmiRNA scan is through.

Total precursor miRNAs found: 1.

[miRNA format \(sequences only\)](#) [miRNA format \(sequences only\)](#) [miRNA format \(seq, sequences and systems\)](#)

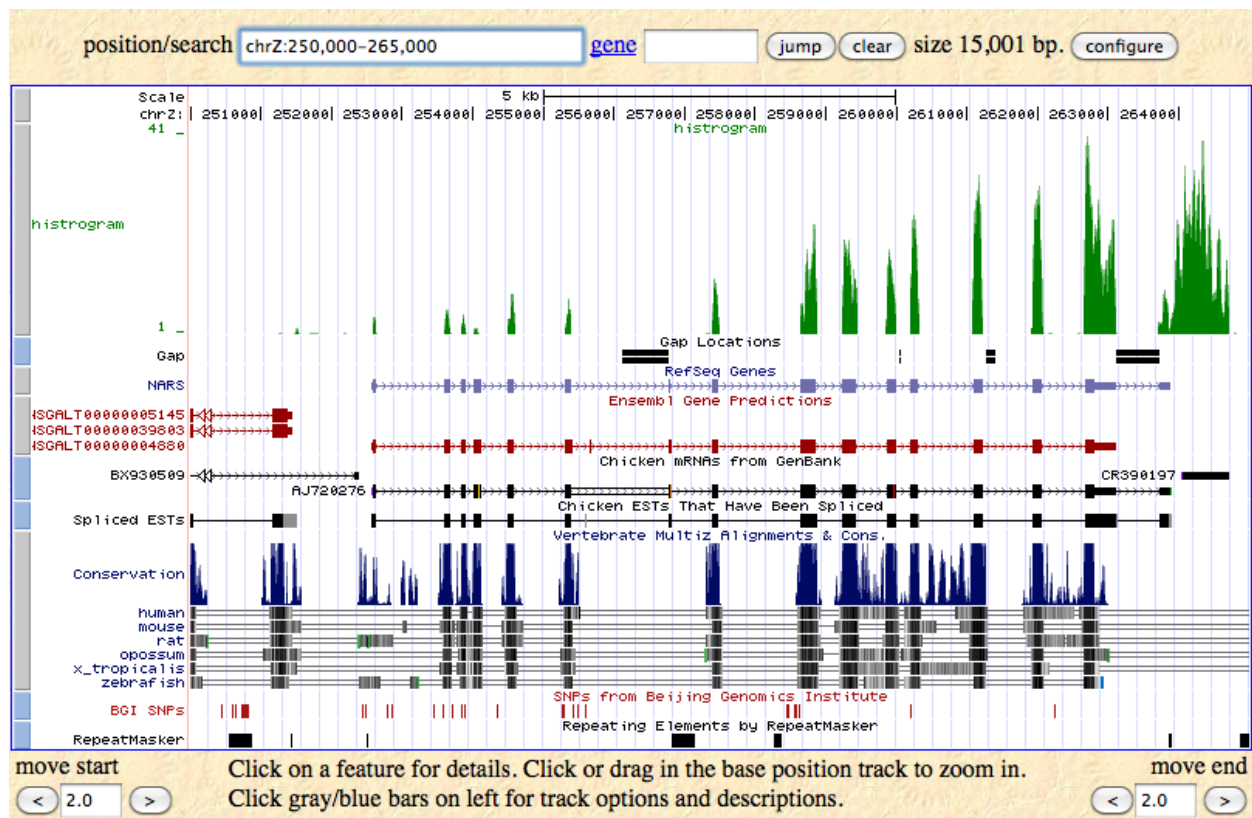
S.No.	Position	Length	Normalised Grammar Score	Structural Score
1	1	63	-0.598803	51
	AGAGGGGAGTGTGTGTGTGTAGAGAGACATGAATTGATCGGAGACCCCTCTCCCTCT			
	<pre> u u u a g a a agagggggg g g gguugua ga gac u scucccccuc c c ccagacg cu uug g u - c g ag a </pre>			

[Back to Home Page](#)

This page has been tested on Internet Explorer 6.0 and Mozilla Firefox 3.0.6

با مراجعه کابر به <http://mirna.jnu.ac.in/cidmirna/> دسترسی به این وب سرور امکان آنالیز توالی با طول بین ۶۰ تا ۱۰۰۰ نوکلئوتید مقدور می باشد

بررسی میزان حفظ شدگی توالی miRNA پیش بینی شده در به سایت UCSC Genome Browser

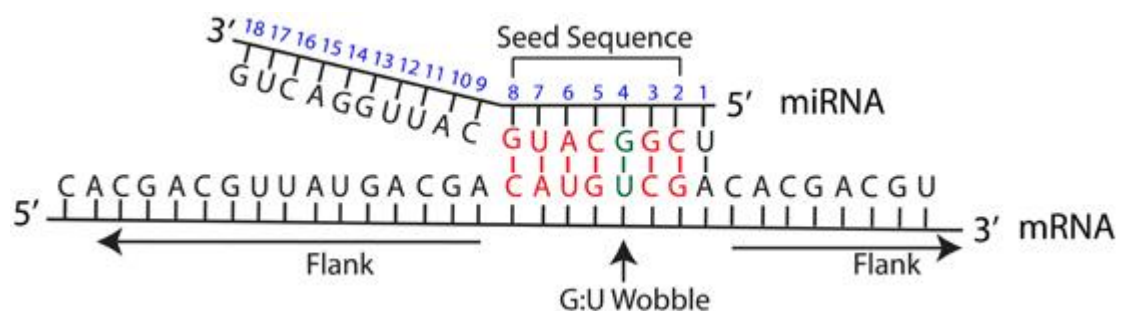


<https://genome.ucsc.edu>

معرفی نرم افزارهای مهم در شناسایی بیوانفورماتیکی ژن های هدف میکروارناها (miRNAها)

با شناسایی یک miRNA جدید، همواره شناسایی ژن هایی که هدف این miRNA هستند ضروری است. در این مهم نیز، بیوانفورماتیک کمک شایانی در پیش بینی ژن های هدف یک miRNA نموده است. با کشف miRNAها، شاهد توسعه نرم افزارهای پیش بینی کننده ژن های هدف miRNA بوده ایم. در این راستا برخی از مهمترین و کاربردی ترین این نرم افزارها MFold (۱۶۵)، RNAhybrid (۱۶۶)، PicTar (۱۷۰)، miRanda (۱۶۹)، DIANA-MicroT (۱۶۸)، TargrtScanS (۱۶۷) و miRWalk (۲۰۴) هستند که در بسیاری از مطالعات انجام گرفته مورد استفاده قرار گرفته اند. از این رو در مطالعه ای که در پیش روست، استفاده از این نرم افزارها اجتناب ناپذیر است.

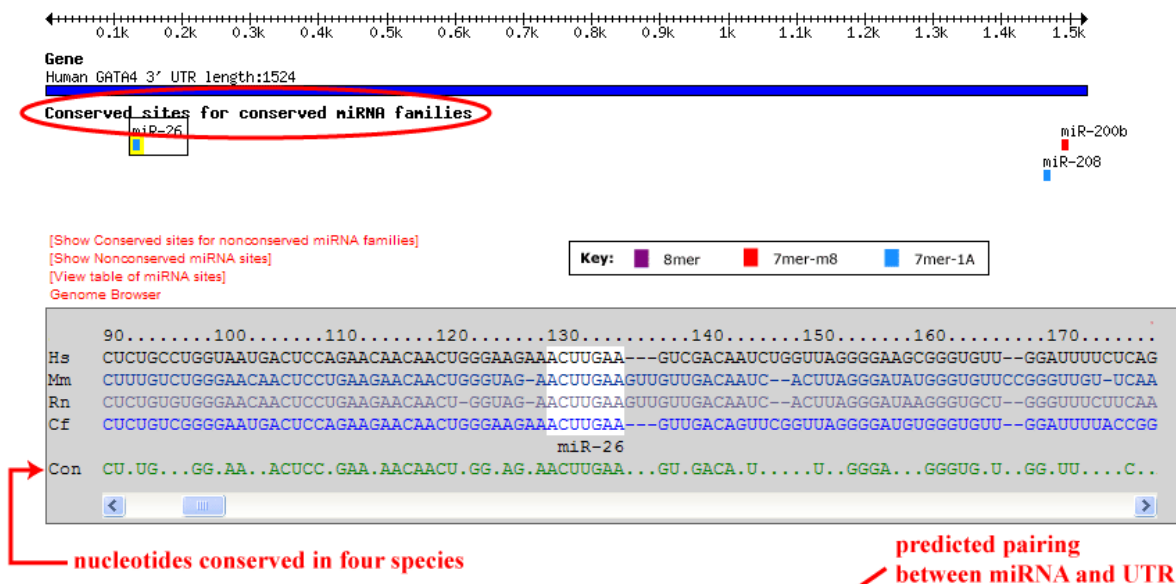
معرفی نرم افزار Miranda جهت شناسایی بیوانفورماتیکی ژن های هدف میکروارناها (microRNAها)



در این روش که ابتدا برای پیش بینی اهداف miRNA ها در ژنوم مگس سرکه استفاده می شد، وجود MRE های با جفت شدگی قوی در 3'UTR ژنها مورد نظر است. چون توالی seed در قسمت 5' miRNA قرار دارد از نظر این نرم افزار جفت شدگی بازها در این ناحیه امتیاز بیشتری نسبت به جفت شدگی بازها در انتهای 3' دارد. سپس این جفت شدگی ها از لحاظ ترمودینامیکی بررسی می شوند. میزان مثبت کاذب های پیش بینی شده توسط نرم افزار Miranda حدوداً بین ۲۴ تا ۳۹ درصد تقریب زده شده است ولی چنانچه چندین جایگاه شناسایی در یک ژن مشاهده شود این میزان کاهش پیدا می کند (۱۷۳-۱۷۵).

معرفی نرم افزار **target scan/target scans** جهت شناسایی بیوانفورماتیکی ژن های هدف میکروارناها (microRNA ها)

Human GATA4 3' UTR



Conserved

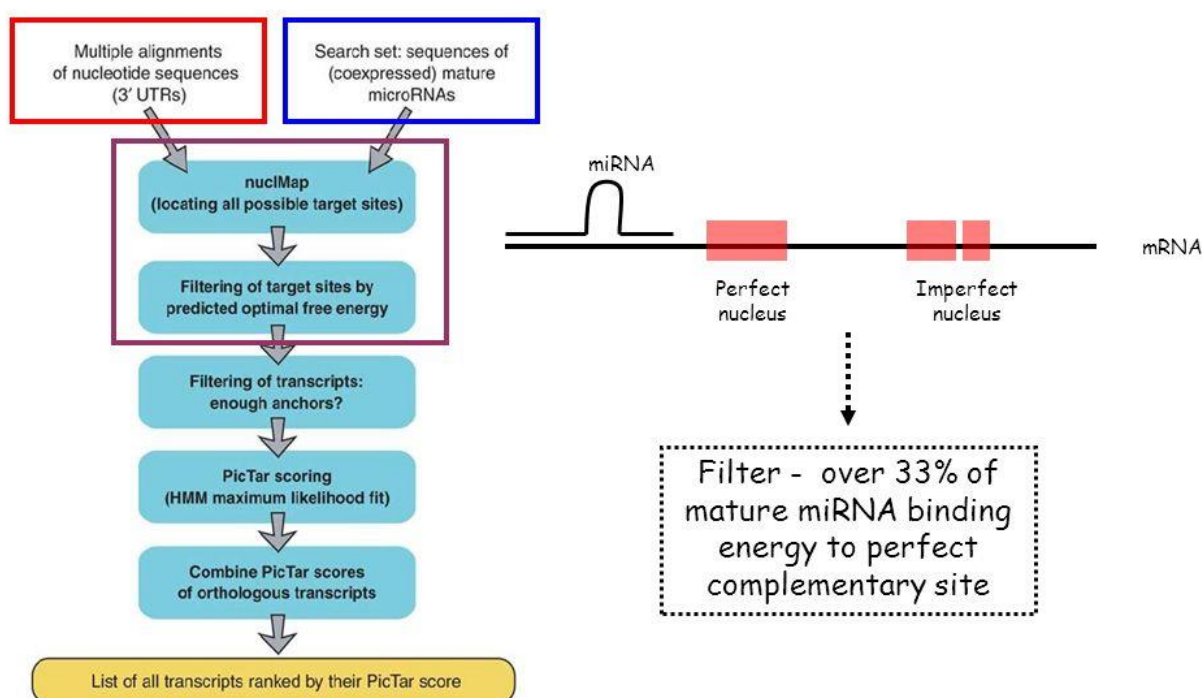
	predicted alignment of target region (top) and miRNA (bottom)	Seed Type
Position 110-137 of GATA4 3' UTR	5' ...GAACAACAACUGGGAAGAAACUUGAAG... 3' CGGAUAGGACCU---AAUGAACUU	7mer-1A
Position 111-137 of GATA4 3' UTR	5' ...AACAACUG---GGAAGAAACUUGAAG... 3' UUGGAUAGGACUU-AAUGAACUU	7mer-1A

در سایر روش‌های پیش بینی MRE ها در ژنهای هدف، ابتدا جفت شدگی احتمالی تمام قسمتهای miRNA مورد استفاده قرار می گیرد و سپس با استفاده از معیارهای دیگر کاذب مثبتها فیلتر می شوند ولی در روش Target scan ابتدا جفت شدگی کامل برای ناحیه seed جستجو و سپس به نواحی اطراف بسط داده می شود. به این ترتیب بسیاری از پاسخهای مثبت کاذب از همان ابتدا فیلتر میشوند. Target scan اولین نرم افزار بود که برای پیش بینی اهداف miRNA های انسانی به کار گرفته شد. در این نرم افزار از ژنوم موش، موش صحرایی و ماهی برای بررسی حفظ شدگی استفاده می شود. میزان مثبت کاذب در این نرم افزار حدود ۲۲ تا ۳۱

درصد در نظر گرفته شده است. جفت شدگی miRNA در اینجا محدود به ۶ نوکلئوتید ناحیه seed و سپس انطباق ناحیه 3' و اولین نوکلئوتید آدنین می باشد. البته، به خاطر جفت شدگی قوی مورد نیاز در ناحیه seed، هدفهایی که دارای حفاظت شدگی ضعیف هستند و یا دارای یک حباب در ناحیه جفت شدگی باشند از دست می روند (۱۲۳، ۱۷۵).

معرفی نرم افزار **pictar** جهت شناسایی بیوانفورماتیکی ژن های هدف میکروارناها (microRNAها)

PicTAR: Combinatorial Targets



این الگوریتم یک گروه از اورتولوگ های 3'UTR از گونه های مختلف را به عنوان داده ورودی در نظر می گیرد و آن هایی را انتخاب

می‌کند که جفت شدگی ناحیه seed با miRNA را نشان دهند و سپس از لحاظ ترمودینامیکی فیلتر شده و بر اساس روش HMM^۲، امتیاز بندی می‌شود. Pictar اولین نرم افزار بود که از ویژگی هم بیانی زمانی و مکانی miRNA و هدفش استفاده می‌کند (۱۷۴، ۱۷۵).

معرفی نرم افزار Diana-microt جهت شناسایی بیوانفورماتیکی ژن های هدف میکروارناها (microRNA ها)

Search by miRNA e.g. miR-155

Search for targets of a specific miRNA

Insert a miRNA identifier (eg.hsa-let-7a)

OR predict targets for user defined microRNA sequence

SEARCH RESULTS

Predict miTGs ~600 miTGs

miRNA name: hsa-miR-155

Alternative Description: MIMAT0000646

miRNA Sequence: UUAUUGCUAAUUGGUAUAGGUGU

Influenced KEGG Pathways: T cell receptor signaling pathway, mTOR signaling pathway, B cell receptor signaling pathway, View

Score Threshold: 0.35 KEGG Filter

Rank	Gene name	Ensembl Gene ID	miTG score	Precision	SNR
1	GNHR1	ENSG0000011451	1.40	0.98	3.47
2	TRIM2	ENSG0000011297	0.93	0.89	3.47
3	RCOR1	ENSG00000089902	0.82	0.89	3.47
4	BACH1	ENSG0000018673	0.81	0.89	3.47

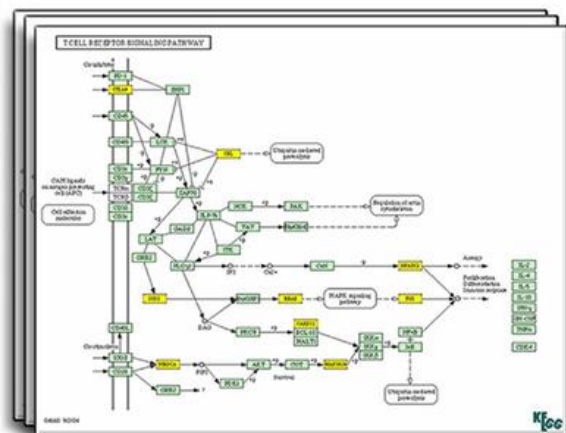
Gene description: Transcription regulator protein BACH1 (BTB and CNC homolog 1) (Hs2303). [Source:UniProt/GwissPro/Accession:14869]

PubMed Links: miRNA | gene | both

KEGG Pathways:

Links:

Binding Type	UTR position	Score	Conservation	Also predicted by
5mer	2150-2184	0.33	8	VERIFIED pictar targetscan
Position	en 21:20639182-20639210	3'UTR: 5' CUCUCUA	AAACA U	
Conservation Info	panTro1, rhesMac2, rn4, mm8, gryCus1, bosTau2, canFam2, galGal2	CCUAD GGAGA G GUG U	G UAGCAUAAA C AAUUGUAAU 5'	
5mer	2360-2394	0.3	8	VERIFIED pictar targetscan
5mer	2217-2245	0.20	7	VERIFIED pictar targetscan



Filter miTGs found in Pathways

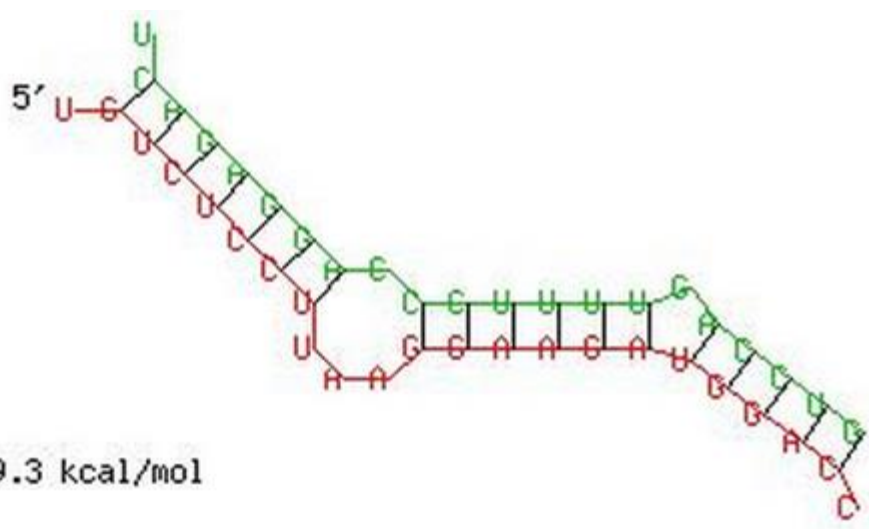
~10 miTGs / Pathway

این سرور در سال ۲۰۰۴ با ترکیب رویکردهای تجربی و بیوانفورماتیکی توسعه داده شد. این نرم افزار برای پیش بینی جایگاه های اتصال بهتر، ترمودینامیک را به عنوان شاخص اولیه

² High marcov model

در نظر می‌گیرد. در این روش از پنجره‌های ۳۸ نوکلئوتیدی در اطراف ناحیه 3'UTR استفاده و به بررسی انرژی آزاد نواحی اتصال پیش‌بینی شده می‌پردازد و سپس با اطلاعات به دست آمده از توالی مقایسه می‌شود (۱۲۳, ۱۷۵, ۱۷۶).

معرفی نرم افزار **RNA hybrid** جهت شناسایی بیوانفورماتیکی ژن های هدف میکروارناها (**microRNA** ها)



این نرم افزار نیز نواحی از 3'UTR را مشخص می‌کند که قابلیت ایجاد دوبلکس هایی که از لحاظ ترمودینامیکی مساعد هستند را دارند (۱۲۳, ۱۷۵). این نرم افزار نیز برای پیش‌بینی جایگاه‌های اتصال بهتر، ترمودینامیک را به عنوان شاخص اولیه در نظر می‌گیرد.

معرفی نرم افزار **Mirwalk** جهت شناسایی بیوانفورماتیکی ژن های هدف میکروارناها (**microRNA** ها)

Predicted Gene(s) Targets

Step1. Select a species

Step2. Select Region(s) of interest

Step3. Select a transcript

Step4. Enter min. seed length or/and P-value for searching miRNA binding sites

Step5. Select other prediction programs (min. 2 selection)

Step6. Enter gene symbol or upload a file and Press submit button

Select Options Here

Select a species:

Select a Transcript: ☐ All ☒ Longest

Min. Seed Length:

OR/AND

P-value:

Choose Gene Region(s)

☐ Promoter ☐ 5' UTR ☐ DIANA-mT ☒ miRWalk ☐ PITA ☒ TargetScan/TargetScanS

Upstream Flanked: (Max.:10000)

☐ CDS ☒ 3'UTR ☒ miRanda ☒ miRDB ☐ PICTAR4 ☐ PICTAR5 ☐ RNAhybrid ☒ RNA22

Enter Gene Symbols: (Max. 200 genes)

[Example](#)

OR BATCH UPLOAD [Example](#)

این نرم افزار طولترین جفت شدگی ها را بین توالی ژن و miRNA مشخص می‌کند. ابتدا کل توالی ژن و توالی میتوکندریایی را بر اساس هپتامر ناحیه seed و miRNA بررسی و نواحی اتصالی ممکن را بر اساس بلندترین جفت شدگی انتخاب می‌کند؛ و سپس نواحی پیدا شده را بر اساس اینکه پروموتور، 5'UTR، CDS یا 3'UTR باشد بررسی می‌کند. همچنین این نرم افزار نتایج به دست آمده را با هشت نرم افزار دیگر شامل Diana-microt، Miranda، miRDB، Pictar، RNA22، RNAHybrid و Targetscan مقایسه و نتایج به صورت یک جدول به نمایش گذاشته می‌شود (۱۲۳، ۱۷۱).

به طور کلی می‌توان گفت روش‌هایی که مبنای عمل آن‌ها، به صورت ترکیبی از الگوریتم‌های مختلف است، دید کلی‌تری را در

مورد احتمال هدف بودن ناحیه مورد مطالعه در اختیار ما قرار
می‌دهند.