مقاله پژوهشی
نشریه علوم آبزی پروری

Research Article
www.aquaculturesciences.ir

بررسی بیوانفورماتیک میکرو RNA های مؤثر بر بیان ژن‌های دخیل در فرآیند ترمیم و بازسازی بافت ماهی گورخری (*Danio rerio*)

احمد علی بدر*[1]، مهدی بنایی[2]، مرضیه حیدریه[3]

[1]گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه صنعتی خاتم الانبیاء بهبهان، بهبهان، ایران.
[2]گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی خاتم الانبیاء بهبهان، بهبهان، ایران.
[3]پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، تهران، ایران.
*نویسنده مسئول badr713@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۸/۲۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۱۷

چکیده

بازسازی یک فرآیند درون‌زا است که با ترمیم کامل عملکرد بافت و اندام به اوج خود می‌رسد. در حالی که ظرفیت بازسازی در پستانداران محدود به بافت‌های خاصی است، مهره‌داران پست‌تر مانند ماهی گورخری توانایی بازسازی کل اندام‌ها و اکثر بافت‌های بالغ را دارند. میکرو RNA ها، مولکول‌های کوچک غیر کد شونده‌ای هستند که از طریق کنترل بیان ژن‌های هدف، فرآیندهای زیستی مختلف (مانند ترمیم، تمایز و آپوپتوز) را تنظیم می‌کنند. یک چالش مهم در مطالعه میکرو RNA ها، شناسایی و پیش‌بینی ژن‌هایی است که به‌وسیله این مولکول‌های کوچک مورد هدف قرار می‌گیرند. در سال‌های اخیر روش‌های مختلفی مانند ریز آرایه، نورترن بلات و qRT-PCR جهت شناسایی ژن‌های هدف میکرو RNA ها معرفی شده است اما هزینه بسیار زیاد، استفاده از این روش‌ها را محدود کرده است. با پیشرفت روش‌های محاسباتی و الگوریتم‌های بیوانفورماتیک می‌توان ژن‌های هدف میکرو RNA ها را با هزینه کمتری شناسایی و پیش‌بینی نمود. در این مطالعه تلاش بر این بود که با یک رویکرد بیوانفورماتیک، ژن‌ها و میکرو RNA های دخیل در فرآیند ترمیم و بازسازی بافت‌های ماهی گورخری (*Danio rerio*) را با استفاده از نرم افزارهای پایگاه‌های اطلاعاتی Target Scan و DIANA شناسایی کنیم. نتایج نشان داد که بیان ژن‌های *Ascl1a*, *Sox2*, *Tnfb*, *Cx43*, *Mmp9*, *Smarca5*, *Pax6b*, *Dot1l*, *Stat3* و *Hspd1* با بیشترین احتمال ممکن است در فرآیند ترمیم و بازسازی بافت‌های ماهی زبرا تحت تأثیر میکرو RNA های مختلف تنظیم شود. بنابراین، ژن‌های یاد شده جهت بررسی آزمایشگاهی ژن‌های دخیل در فرآیند ترمیم و بازسازی بافت گونه مورد نظر می‌توانند کاندیدای مناسبی باشند.

واژگان کلیدی: بازسازی، میکرو RNA، ماهی گورخری، Target Scan، DIANA.

مقدمه

بازسازی ترمیمی به جایگزینی قسمت‌های آسیب دیده یا از دست رفته بدن با بافت جدید، و پاسخی که هموستازی و عملکرد بهینه بافت را بازیابی می‌کند، اشاره دارد (Iismaa *et al*., 2018). در سال‌های اخیر، فرآیند بازسازی بافت به‌دلیل ماهیت جذاب و کاربردهای بالقوه آن در بیماری‌های انسانی در تحقیقات زیستی مورد توجه قرار گرفته است. (Chowdhury *et al*., 2022). در سلسله جانوران، از دست دادن توانایی بازسازی بافت، همزمان با تکامل سلول‌های جدید و پیچیده است (Elchaninov *et al*., 2021). توانایی بازسازی آسیب بافتی در بین گونه‌های مختلف حیوانی متفاوت است. برخی از پستانداران، قادر به بازسازی بافت‌های پوست، روده، کبد و سیستم عصبی محیطی هستند، اما برخی از گونه‌ها مانند انسان توانایی کمتری در بازسازی بافت‌های آسیب دیده دارند (Riley *et al*., 2022). پستانداران قادر هستند برخی از انواع سلول‌ها را به‌طور دائم بازسازی و در عین حال برخی از انواع محدود سلول‌ها را ترمیم نمایند. اعضای قابل توجهی

از شاخه‌های اولیه اجداد مهره‌داران (مانند ماهی‌های استخوانی و دوزیستان) نیز می‌توانند اندام‌های آسیب‌دیده خود را دوباره بازسازی نمایند (Khyeam *et al.*, 2021). ماهی گورخری (*Danio rerio*) به‌دلیل توانایی بسیار بالا در ترمیم بافت‌های آسیب‌دیده به‌عنوان محور تحقیقات بازسازی مورد توجه پژوهشگران علوم زیستی قرار گرفته است (Ribeiro *et al.*, 2022).

در پژوهش‌های مختلف مشخص شده است که پروفایل بیان ژن‌های دخیل در مسیر ترمیم در بافت‌های آسیب‌دیده نسبت به بافت‌های سالم متفاوت است (Hui *et al.*, 2014; Demirici *et al.*, 2020). مطالعات بیشتر نشان داد که این تفاوت بیان در بافت‌های سالم و آسیب‌دیده ناشی از وجود مولکول‌های کوچک غیر کد شونده به نام میکرو RNA (Mercer *et a*l., 2012) است. این مولکول‌های کوچک (تقریباً ۲۲ نوکلئوتید) با اتصال به mRNA هدف، از طریق چندین مکانیسم موجب کاهش بیان ژن در سطح رونویسی و پس از رونویسی می‌شوند. با توجه به نقش میکرو RNA ها در هدف قرار دادن تعداد زیادی از mRNA ها، این مولکول‌ها به‌عنوان تنظیم‌کننده‌های اصلی، تعداد زیادی از فرآیندهای زیستی مانند چرخه سلولی، تمایز، ترمیم و بازسازی شناخته شده‌اند (Ambros, 2004; Parvini *et al.*, 2015). همچنین در سایر پژوهش‌ها به نقش میکرو RNA ها در سرطان، ناباروری و تشخیص بیماری‌ها اشاره شده است (Badr, 2022). بنابراین دانشمندان معتقد هستند که شناسایی میکرو RNA های مرتبط با ژن‌های اصلی دخیل در فرآیند ترمیم و بازسازی از اهمیت زیادی برخوردار است، اما با توجه به تعداد زیاد میکرو RNA های شناخته شده هنوز اطلاعات کاملی در خصوص دخالت میکرو RNA ها در فرآیند ترمیم و بازسازی سلولی وجود ندارد.

امروزه به کمک تکنیک‌های مولکولی از جمله نورترن بلات، ریزآرایه و qRT-PCR می‌توان انواع میکرو RNA در بافت‌های مختلف را شناسایی نمود اما این روش‌ها مستلزم هزینه و زمان زیادی است. همزمان با کشف و شناسایی مولکول‌های RNA، روش‌های محاسباتی و استفاده از الگوریتم‌های بیوانفورماتیک نیز توسعه پیدا کرده‌اند و ابزارهایی برای فهم بهتر عملکرد میکرو RNA ها و پیش‌بینی دقیق‌تر جفت شدن آن‌ها با ژن‌های هدف هستند (Riffo-Campos *et al.*, 2016). در حال حاضر دانشمندان به دنبال روش‌هایی هستند که بتوانند ژن‌های هدف میکرو RNA و میکرو RNA های متصل شونده به ژن‌های مورد نظر را با دقت زیاد، صرف هزینه و زمان کمتر پیش از انجام آزمایش‌های تجربی شناسایی کنند.

روش‌های محاسباتی و مدل‌سازی کامپیوتری می‌توانند به درک بهتر عملکرد میکرو RNA ها در فرآیندهای زیستی و پیش‌بینی اثرات آن‌ها کمک کنند. به‌همین دلیل محققین در ابتدا با استفاده از ابزارهای بیوانفورماتیک، برهمکنش احتمالی ژن‌های هدف و میکرو RNA را پیش‌بینی نموده سپس به دنبال تأیید آزمایشگاهی این برهمکنش‌ها و اثبات نقش آن‌ها در بافت‌های مورد نظر خواهند بود (Riffo-Campos et al., 2016). در این مطالعه تلاش بر آن است که نقش ژن‌های مختلف دخیل در فرآیند ترمیم و بازسازی ماهی گورخری (*Danio rerio*) بررسی و براساس پیش‌بینی‌های بیوانفورماتیک با الگوریتم های مختلف، میکرو RNA های مؤثر بر تنظیم بیان این ژن‌ها شناسایی گردد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تئوری که بر مبنای الگوهای بیوانفورماتیک انجام شده است، در مرحله اول بر اساس نتایج مطالعات انجام شده پیشین، پروفایل بیان ژن‌های دخیل در فرآیند ترمیم و بازسازی بافت‌های ماهی *Danio rerio* از پایگاه اطلاعاتی NCBI (National Center for Biotechnology Information) به‌دست آمد. در مرحله بعد با استفاده

جدول ۱- پروفایل ژن‌های دخیل در فرآیند بازسازی بافت ماهی گورخری و مشخصات miRNA های تنظیم‌کننده بیان آن‌ها.

کد شناسایی	نام miRNA	ژن هدف	امتیاز (درصد)
MI0004783	dre-miR-737	*Stat3*	۹۷
MI0001928	dre-miR-27a	*Dot1l*	۹۷
MI0002005	dre-miR-142a-5p	*Pax6b*	۹۷
MI0002006	dre-miR-142b-5p	*Pax6b*	۹۶
MI0001960	dre-miR-101a	*Smarca5*	۹۴
MI0001961	dre-miR-101b	*Smarca5*	۹۴
MIMAT0001879	dre-miR-455-5p	*Mmp9*	۹۱
MI0001961	dre-miR-101b	*Cx43*	۸۸
MI0001960	dre-miR-101a	*Cx43*	۸۸
MIMAT0001820	dre-miR-125a	*Tnfb*	۸۸
MI0004786	dre-miR-740	*Sox2*	۸۲
MI0004774	dre-miR-34c	*Ascl1a*	۷۴
MI0001365	dre-miR-34a	*Ascl1a*	۷۳
MI0001380	dre-miR-181a	*Hspd1*	۶۵
MI0004765	dre-miR-722	*Pax6b*	۶۰

از نرم‌افزار تحت وب Target Scan، پروفایل میکرو RNA های دخیل در تنظیم بیان ژن‌های مذکور دریافت شد (جدول ۱). در این نرم‌افزار، اهداف پیش‌بینی شده بر مبنای عاملی به نام احتمال هدف‌گیری محافظت شده رتبه‌بندی شدند. هر چه میزان رتبه به‌دست آمده بالاتر باشد، معیار بهتری از اتصال اختصاصی و صحیح میکرو RNA به ناحیه محافظت شده ژن هدف است. در مرحله سوم، آنالیز میکرو RNA ها در پایگاه اطلاعاتی DIANA انجام شد. در پایگاه مذکور، الگوریتم شناسایی اهداف هر میکرو RNA بر اساس چند شاخص محاسبه و به‌طور مجزا ارائه شد (جدول ۲). از ترکیب امتیاز نواحی محافظت شده و غیرمحافظت شده یک امتیاز کلی تحت عنوان miTG Score به‌دست آمد. هر چه میزان این امتیاز کلی به عدد ۱ نزدیکتر باشد، بیانگر دقیق‌تر بودن پیش‌بینی است. در آنالیز میکرو RNA ها، بر اساس متغیرهایی همچون قدرت اتصال به ژن هدف و تعداد تکرار در ناحیه 3′-UTR فاکتور رونویسی امتیاز داده شد و در پایان، فاکتورهای رونویسی دارای بالاترین انتخاب جهت بررسی‌های عملی انتخاب شدند (Banaee and Sagvand, 2019).

نتایج

پروفایل بیان ژن‌های دخیل در فرآیند ترمیم و بازسازی بافت‌های ماهی گورخری و نیز مشخصات میکرو RNA های تنظیم‌کننده ژن‌های هدف در جدول ۱ ارائه شده است. بر این اساس بالاترین امتیاز یعنی ۹۷ مربوط به dre-miR-737، dre-miR-27a و dre-miR-142a-5p است که به‌ترتیب ژن‌های *Stat3*، *Dot1l* و *Pax6b* را هدف قرار می‌دهند. آنالیز میکرو RNA ها در پایگاه اطلاعاتی DIANA انجام شد که نتایج آن در جدول ۲ نشان داده شده است. هر چه میزان شاخص miTG score به عدد ۱ نزدیکتر باشد نشان‌دهنده دقیق‌تر بودن پیش‌بینی است.

بحث

ژن *Stat3* متعلق به خانواده ژنی *Stat* هست که مسئول ارائه دستورالعمل‌هایی برای ساخت پروتئین‌های ساختاری ضروری فعال در مسیر انتقال سیگنال‌های سلولی در سلول‌ها هستند. از آنجا که پروتئین‌های STAT توسط سیگنال‌های شیمیایی خاص فعال می‌شوند، به درون هسته سلول حرکت می‌کنند و به مناطق خاصی از DNA که تنظیم‌کننده

جدول ۲- آنالیز miRNA ها در پایگاه اطلاعاتی DIANA با حد آستانه ۰/۷.

کد نسخه برداری	نام ژن و کد شناسایی	نام miRNA	امتیاز miTG
ENSDART00000104519	ENSDARG00000022712 (stat3)	dre-miR-737	۰/۹۰۴
ENSDART00000089076	ENSDARG00000061992 (dot1l)	dre-miR-27a	۰/۹۵۱
ENSDART00000014572	ENSDARG00000045936 (pax6b)	dre-miR-142a-5p	۰/۹۰۷
ENSDART00000014572	ENSDARG00000045936 (pax6b)	dre-miR-142b-5p	۰/۸۳۴
ENSDARG00000052348	ENSDARG00000052348 (smarca5)	dre-miR-101a	۰/۸۶۶
ENSDARG00000052348	ENSDARG00000052348 (smarca5)	dre-miR-101b	۰/۸۵۳
ENSDART00000062845	ENSDARG00000042816 (mmp9)	dre-miR-455-5p	۰/۷۸۲
ENSDART00000061261	ENSDARG00000041799 (cx43)	dre-miR-101b	۰/۹۹۹
ENSDART00000061261	ENSDARG00000041799 (cx43)	dre-miR-101a	۰/۹۹۹
ENSDART00000017569	ENSDARG00000013598 (tnfb)	dre-miR-125a	۰/۷۶۵
ENSDART00000104493	ENSDARG00000070913 (sox2)	dre-miR-740	۰/۸۶۷
ENSDART00000056005	ENSDARG00000038386 (ascl1a)	dre-miR-34c	۰/۸۳۰
ENSDART00000056005	ENSDARG00000038386 (ascl1a)	dre-miR-34a	۰/۷۸۷
ENSDART00000078596	ENSDARG00000056160 (hspd1)	dre-miR-181a	۰/۷۴۳
ENSDART00000014572	ENSDARG00000045936 (pax6b)	dre-miR-722	۰/۸۳۴

بیان ژن‌ها هستند، متصل می‌شوند، و سطح بیان ژن‌ها را افزایش یا کاهش می‌دهند. بنابراین پروتئین‌های STAT یک نوع فاکتورهای رونویسی محسوب می‌شوند. از این‌رو، پروتئین STAT3 از طریق تنظیم فعالیت ژن، بر بسیاری از عملکردهای سلولی از جمله کنترل رشد و تقسیم و ازدیاد سلولی، حرکت سلولی (مهاجرت) و خود تخریبی برنامه‌ریزی شده سلولی (آپوپتوز) تأثیر می‌گذارد. پروتئین STAT3 در همه بافت‌های بدن فعال هستند و نقش مهمی در رشد و ترمیم بافت‌های آسیب‌دیده ایفا می‌کند (NCBI, 2022). محصول بیان ژن *Dot1L* در تنظیم عملکردهای مختلف زیستی از جمله چرخه سلولی، توسعه و ترمیم DNA ایفای نقش می‌کند (Bennett *et al*., 2019). ژن *Pax6b* مسئول کد کردن یک پروتئین حاوی هومئوباکس است که به‌عنوان تنظیم‌کننده رونویسی عمل می‌کند. بیان این ژن نقش مهمی در شکل‌گیری تیغه عصبی، شکل‌گیری و تکامل سیستم عصبی چشم به‌ویژه صفحه عصبی در دو طرف عصب بینایی و همچنین اعصاب سیستم غدد ترشحی درون‌ریز در ماهیان بازی می‌کند. بیان ژن *Pax6b* همچنین در بازسازی شبکیه چشم ماهیان توسط گلیا مولر ضروری است. مطالعات صورت‌گرفته در طی فرآیند بازسازی شبکیه چشم ماهی گورخری نشان داد که سطح mRNA ژن‌های *Ascl1a* و *Pax6b* در فرآیند بازسازی گلیا مشتق شده از مولر افزایش می‌یابد (Saito *et al*., 2020).

بیان ژن *Smarca5* نقش مهمی در بازسازی کروماتین، مونتاژ و فاصله‌گذاری نوکلئوزوم‌ها و تنظیم همانندسازی DNA، ترمیم و رونویسی ژنوم از طریق تنظیم فعالیت هر سه کلاس RNA پلیمراز ایفا می‌کند. تغییر در بیان ژن *Smarca5* در سلول‌های اولیه بر برنامه‌های تنظیم ژن شامل ترمیم آسیب DNA، تکثیر DNA، نگهداری تلومر، جداسازی کروموزومی، آپوپتوز و پیری سلول تأثیر می‌گذارد (Thakur *et al*., 2022). ژن *Mmp9* پروتئین‌های خانواده متالوپروتئیناز ماتریکس (MMP) را که در تجزیه ماتریکس خارج سلولی نقش دارند را کد می‌کنند. بیشتر MMP ها به‌صورت پروپروتئین‌های غیرفعال ترشح می‌شوند که با جدا شدن توسط پروتئینازهای خارج سلولی فعال می‌شوند. آنزیمی که توسط این ژن *Mmp9* کدگذاری می‌شود، کلاژن‌های نوع IV و V را تخریب می‌کند. بنابراین بیان این ژن نقش مهمی در فرآیندهای فیزیولوژیکی طبیعی، مانند رشد جنینی، تولید مثل، و بازسازی بافت، ایفا می‌کند

(Yoong *et al*., 2007). رشد مفاصل برای شکل و عملکرد اسکلتی حیاتی است، اما اطلاعات کمی در مورد این فرآیند وجود دارد. باله دمی ماهی گورخری منبع غنی از مفاصل است و از ۱۶ تا ۱۸ شعاع تشکیل شده است که هر کدام از چندین بخش استخوانی تشکیل شده است که توسط مفاصل فیبری از هم جدا شده‌اند. بازسازی باله، طی چندین مرحله انجام می‌شود. بهبود زخم ۱۲ تا ۲۴ ساعت پس از قطع عضو اتفاق می‌افتد و به‌دنبال آن یک ساختار تخصصی به نام بلاستما در مزانشیم دیستال ایجاد می‌شود. سطح *Cx43* mRNA در بازسازی باله ماهیان در جمعیت سلول‌های در حال تقسیم در مزانشیم بلاستمی، و در سلول‌هایی که در کنار مفاصل هستند به‌طور معنی داری افزایش می‌یابد. *ژن Cx43* سیگنال‌های تنظیم‌کننده تقسیم سلولی و تشکیل مفصل را با هدایت ارتباط بین سلول‌های مزانشیمی مثبت *Cx43* و سلول‌های اطراف مفاصل تازه تشکیل شده، هماهنگ کند (Sims *et al*., 2009). پس از قطع باله دمی، تجمع ماکروفاژها M1 در محل آسیب دیده منجر به بروز یک پاسخ اولیه و شروع بازسازی می‌شود. در واقع، ماکروفاژهای شبیه M1 که *tnfa* را بیان می‌کنند، محور TNFα/TNFR1 را برای افزایش جذب ماکروفاژها به زخم فعال می‌کند. علاوه بر این، TNFα به‌واسطه ماکروفاژهای شبهM1، تکثیر سلول‌های بلاستما را از طریق گیرنده TNFR1 کنترل می‌کند. از این‌رو، ماکروفاژها نقش کلیدی در طی بازسازی باله در گورخرماهی دارد. احتمالاً ماکروفاژها در ازدیاد و تکثیر سلولی و تشکیل بلاستوما دخیل هستند. در مراحل اولیه بازسازی بافت، تومور نکروز فاکتور از ماکروفاژها آزاد می‌شوند. بنابراین بیان ژن *Tnfb* نقش مهمی در بازسازی باله دمی ماهیان دارد (Nguyen-Chi *et al*., 2017). ژن *Sox2* مسئول بیان فاکتور نسخه‌برداری SRY است که در بازسازی باله، سیستم عصبی، تیغه و میله عصبی و اعصاب شبکیه چشم نقش به‌سزایی دارد. بیان ژن *Sox2* در حفظ جمعیت سلول‌های بنیادی پرتوان و تمایز سلول‌های اولیه نیز نقش دارد. محصول این ژن از تنظیم‌کننده‌های شکل‌گیری نورکتودرم در حین مراحل گاسترولاسیون است (Millimaki *et al*., 2010). بیان ژن *Ascl1* در پیش‌ساز عصبی درحال ازدیاد و تکثیر در تلن‌سفالون و پره‌تالاموس نقش مهمی در بازسازی بافت‌های آسیب دیده دارد (MacDonald *et al*., 2013). علاوه‌براین بیان ژن *Ascl1* در بیوسنتز هورمون رشد در آدنوهیپوفیز تاثیر معنی‌دارد. از این‌رو، محصول این ژن می‌تواند از طریق افزایش سطح سنتز و ترشح هورمون رشد در زمان بازسازی بافت‌های آسیب‌دیده، نقش خود را ایفا کند (Pogoda *et al*., 2006). بیان ژن *Hspd1* نقش مهمی در نوسازی باله دمی و گیرنده‌های نوری مخروطی در شبکیه چشم ماهی گورخری دارد. ژن *Hspd1* با کد کردن یک پروتئین شوک حرارتی (Hsp60) با توالی حفاظت‌شده در تشکیل و نگهداری سلول‌های بنیادی بلاستوم اولیه مشتق شده از مزانشیم در بازسازی باله دمی نقش دارد (Qin *et al*., 2009).

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که بیان ژن‌های *Stat3, Dot1l, Pax6b, Smarca5, Mmp9, Cx43, Tnfb, Sox2, Ascl1a* و *Hspd1* با بیشترین احتمال ممکن است در فرآیند ترمیم و بازسازی بافت‌های ماهی گورخری تحت تأثیر میکرو RNA های مختلف تنظیم شود. بنابراین جهت بررسی آزمایشگاهی ژن‌های دخیل در فرآیند ترمیم و بازسازی بافت ماهی گورخری می‌توانند گزینه مناسبی باشند.

منابع

Ambros V. 2004. The functions of animal microRNAs. *Nature* 431(7006), 350-355.

Badr A.A. 2022. Investigation of the role of microRNAs in the regeneration of damaged organs in zebrafish. *Aquaculture Sciences* 10(18), 67-79. (Persian).

Banaee M., Sagvand S. 2019. Bioinformatics evaluation of the miRNAs effect on expression of genes involved in neurogenesis process in zebrafish (*Danio rerio*). *Aquatics Physiology and Biotechnology* 7(3), 73-88.

Bennett R.L., Bele A., Maji S., Licht J.D. 2019. Epigenetic Therapy. In Paolo Boffetta P.H. Encyclopedia of Cancer (3th Ed.). pp: 1-13.

Chowdhury K., Lin S., Lai S.L. 2022. Comparative Study in Zebrafish and Medaka Unravels the Mechanisms of Tissue Regeneration. *Frontiers in Ecology and Evolution* 10(1), 1-27.

Demirci, Y., Cucun, G., Poyraz, Y. K., Mohammed, S., Heger, G., Papatheodorou, I., Ozhan, G. 2020. Comparative transcriptome analysis of the regenerating zebrafish telencephalon unravels a resource with key pathways during two early stages and activation of wnt/β-catenin signaling at the early wound healing stage. *Frontiers in Cell and Developmental Biology* 9(8), 1-19.

Elchaninov A., Sukhikh G., Fatkhudinov, T. 2021. Evolution of regeneration in animals: A tangled story. *Frontiers in Ecology and Evolution* 5(9), 1-14.

Hui S.P., Sengupta D., Lee S.G.P., Sen T., Kundu S., Mathavan S., Ghosh, S. 2014. Genome wide expression profiling during spinal cord regeneration identifies comprehensive cellular responses in zebrafish. *PloS One* 9(1), 1-23.

Iismaa S.E., Kaidonis X., Nicks A.M., Bogush N., Kikuchi K., Naqvi N., Harvey R., Husain A., Graham, R.M. 2018. Comparative regenerative mechanisms across different mammalian tissues. *NPJ Regenerative Medicine* 3(1), 1-20.

Khyeam S., Lee S., Huang G.N. 2021. Genetic, epigenetic, and post-transcriptional basis of divergent tissue regenerative capacities among vertebrates. *Advanced Genetics* 2(2), 1-14.

MacDonald R.B., Pollack J.N., Debiais-Thibaud M., Heude E., Talbot J.C., Ekker M. 2013. The ascl1a and dlx genes have a regulatory role in the development of GABAergic interneurons in the zebrafish diencephalon. *Developmental Biology* 381(1), 276-285.

Mercer S.E., Cheng C.H., Atkinson D.L., Krcmery J., Guzman C.E., Kent D.T., Zukor K., Marx K.A., Odelberg S.J., Simon, H.G. 2012. Multi-tissue microarray analysis identifies a molecular signature of regeneration. *PloS One* 7(12), 1-21.

Millimaki B.B., Sweet E.M., Riley B.B. 2010. Sox2 is required for maintenance and regeneration, but not initial development, of hair cells in the zebrafish inner ear. *Developmental Biology* 338(2), 262-269.

NCBI. (2022, August 4). National Center for Biotechnology Information. Retrieved from PubChem Gene Summary for Gene 6774: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/gene/STAT3/human

Nguyen-Chi M., Laplace-Builhé B., Travnickova J., Luz-Crawford P., Tejedor G., Lutfalla G., Jorgensen C., Djouad, F. 2017. TNF signaling and macrophages govern fin regeneration in zebrafish larvae. *Cell Death and Disease* 8(8), 1-12.

Parvini N., Ahmadi S. 2015. Role of MicroRNAs in development of immune cells and nervous system and their relation to multiple sclerosis. *The Neuroscience Journal of Shefaye Khatam* 3(1), 131-144.

Pogoda H.M., von der Hardt S., Herzog W., Kramer C., Schwarz H., Hammerschmidt M. 2006. The proneural gene ascl1a is required for endocrine differentiation and cell survival in the zebrafish adeno-hypophysis. *Development*, 133(6), 1079-1089.

Qin Z., Barthel L.K., Raymond P.A. 2009. Genetic evidence for shared mechanisms of epimorphic regeneration in zebrafish. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106(23), 9310-9315.

Ribeiro A.O., de Oliveira A.C., Costa J.M., Nachtigall P.G., Herkenhoff M.E., Campos V.F., Delella G.K., Pinhal, D. 2022. MicroRNA roles in regeneration: Multiple lessons from zebrafish. *Developmental Dynamics* 251(4), 556-576.

Riffo-Campos Á.L., Riquelme I., Brebi-Mieville P. 2016. Tools for sequence-based miRNA target prediction: what to choose? *International Journal of Molecular Sciences* 17(12), 1-18.

Riley S.E., Feng Y., Hansen C.G. 2022. Hippo-Yap/Taz signalling in zebrafish regeneration. *NPJ Regenerative Medicine* 7(1), 1-16.

Saito Y., Yamaguchi A., Nakamura S., Okuyoshi H., Shimazawa M., Hara H. 2020. Contribution of platelet-derived growth factor signaling to retina regeneration in zebrafish. *Neuroscience Letters* 14(727), 134930.

Sims Jr K., Eble, D.M., Iovine, M.K. 2009. Connexin43 regulates joint location in zebrafish fins. *Developmental Biology* 327(2), 410-418.

Thakur S., Cahais V., Turkova T., Zikmund T., Renard C., Stopka T., Zavadil J. 2022. Chromatin Remodeler *Smarca5* Is required for cancer-related processes of primary cell fitness and immortalization. *Cells* 11(5), 1-20.

Yoong S., O'Connell B., Soanes A., Crowhurst M.O., Lieschke G.J., Ward A.C. 2007. Characterization of the zebrafish matrix metalloproteinase 9 gene and its developmental expression pattern. *Gene Expression Patterns* 7(1-2), 39-46.

Bioinformatics study of microRNAs effect on the expression of genes involved in the process of tissue repair and regeneration of zebrafish (*Danio rerio*)

Ahmad Ali Badr[*1], Mahdi Banaee[2], Marzieh Heidarieh[3]

[1]Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Behbahan Khatam Alanbia University of Technology, Behbahan, Iran.
[2]Department of Aquaculture, Faculty of Natural Resources, Khatam Al-Anbia University of Technology, Behbehan, Iran.
[3]Nuclear Science and Technology Research Institute, Tehran, Iran.
*Corresponding author: badr713@gmail.com
Received: 2022/11/20 Accepted: 2023/1/7

Abstract

Regeneration is an endogenous process that culminates in restoring tissue and organ function completely. While the regeneration capacity in mammals is limited to specific tissues, lower vertebrates such as zebrafish can regenerate entire organs and most adult tissues. MicroRNAs are small non-coding molecules that regulate various biological processes (such as repair, differentiation, apoptosis, etc.) by controlling the expression of target genes. An important challenge in the study of microRNAs is to identify and predict the genes that are targeted by these small molecules. In recent years, various methods such as microarray, northern blot, and qRT-PCR have been introduced to identify the target genes of microRNAs, but the high cost has limited the use of these methods. With the advancement of computational methods and bioinformatics algorithms, target genes of microRNAs can be identified and predicted at a lower cost. In this study, an attempt was made to identify the genes and microRNAs involved in the repair and regeneration processes of zebrafish (*Danio rerio*) tissues using the software of Target Scan and DIANA databases with a bioinformatics approach. This research showed that the expression of *Stat3, Dot1l, Pax6b, Smarca5, Mmp9, Cx43, Tnfb, Sox2, Ascl1a*, and *Hspd1* genes is most likely to be regulated in the process of repair and regeneration of zebrafish tissues under the influence of different microRNAs. Therefore, the mentioned genes can be suitable candidates for the laboratory investigation of genes involved in the tissue repair and regeneration process of the desired species.

Keywords: Regeneration, microRNA, Zebra fish, Target Scan, DIANA.