Journal of Aquaculture Sciences 12(23): 91-۱۰۵ (2024)
Print ISSN: 2322-5351
www.aquaculturesciences.ir

نشریه علوم آبزی‌پروری
دوره ۱۲، شماره ۲۳: ۹۱–۱۰۵ (۱۴۰۳)

ارزیابی بیوانفورماتیک نقش MicroRNAها در تنظیم بیان ژن‌های دخیل در سیستم ایمنی ماهی گورخری (*Danio rerio*)

مهدی بنایی[۱*]، رضا شاکری[۲]

[۱]گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی خاتم‌الانبیا بهبهان، بهبهان، ایران.
[۲]گروه محیط‌زیست، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی خاتم‌الانبیا بهبهان، بهبهان، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۰/۲۰ **تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۱/۲۸**

چکیده

این مطالعه به بررسی نقش microRNAها در تنظیم بیان ژن‌های دخیل در سیستم ایمنی ماهی گورخری از طریق تحلیل بیوانفورماتیکی پرداخته است. بدین‌منظور، پروفایل‌های ژنی مرتبط با سیستم ایمنی ماهیان استخوانی از پایگاه داده NCBI استخراج و microRNAهای هدف‌گیرنده این ژن‌ها با استفاده از ابزار Target Scan و miRmap شناسایی شدند. نتایج نشان داد که ژن‌هایی نظیر *tlr3*، *nlrx1*، *saa*، *cxcl12a*، *C3*، *mhc1ze* و *mhc2dab* نقش مهمی در پاسخ‌های ایمنی، التهاب و استرس اکسیداتیو ایفا می‌کنند. از میان آنها، microRNAهای dre-miR-30e-3p و dre-miR-723-5p با امتیازهای بالاتر از ۸۰ به‌طور مؤثری ژن *tlr3* را که در تشخیص RNAدو رشته‌ای و فعال‌سازی پاسخ‌های ایمنی ذاتی نقش دارند، تنظیم می‌کنند. همچنین، dre-miR-155 و dre-miR-2194 و dre-miR-2185-5pبه‌عنوان تنظیم‌کننده‌های اصلی در تنظیم ژن *nlrx1*، که نقش مهمی در مسیرهای ایمنی و استرس اکسیداتیو دارد، شناخته شدند. بیان ژن *saa*، دخیل در پاسخ‌های التهابی و تنظیم ایمنی، به‌وسیلهٔ dre-miR-135c، dre-miR-135b و-dre-miR 135aتنظیم می‌شود. همچنین، ژن *cxcl12a* که کموکین SDF-1 را رمزگذاری می‌کند و در مهاجرت سلول‌های ایمنی نقش دارد، توسط dre-miR-740، dre-miR-22b و dre-miR-22a تنظیم می‌شود. از سوی دیگر، ژن‌های سیستم مکمل مانند *C3* تحت تأثیر-dre miR-93و dre-miR-128 قرار دارند. ژن‌های *mhc1ze* و*mhc2dab*، microRNAهایی نظیر dre-miR-101a،-dre-miR 3906و dre-miR-740 به‌عنوان تنظیم‌کننده‌های قوی شناسایی شدند. این نتایج، همراه با تحلیل‌های دقیق‌تری که از ترکیب داده‌های بیوانفورماتیک حاصل شده است، به شناسایی و درک نقشmicroRNAها در تنظیم سیستم ایمنی ماهی گورخری کمک کرده و به‌عنوان مبنای مطالعات تجربی آینده در این حوزه قرار می‌گیرند.

کلید واژگان: microRNAها، سیستم ایمنی، تنظیم بیان ژن، آنالیز تعاملاتmRNA-miRNA، ماهی گورخری

*نویسنده مسئول mahdibanaee2@gmail.com

مقدمه

MicroRNAها (miRNAs) مولکول‌های کوچک RNA غیرکدکننده‌ای هستند که تنظیم بیان ژن را در سطح پس از رونویسی انجام می‌دهند. رونوشت‌های اولیهٔ miRNA توسط اندونوکلئازها به دو مولکول miRNA بالغ کوتاه تبدیل می‌شوند که به‌ترتیب از انتهای ۵' و ۳' پیش‌ساز miRNAمشتق می‌شوند. این miRNAهای کوتاه که طولی معادل ۲۱ تا ۲۴ نوکلئوتید دارند، در کمپلکس خاموش‌کننده ناشی از (miRISC) miRNA که مجموعه‌ای ریبونوکلئوپروتئینی شامل پروتئین‌های آرگونات و دیگر عوامل مؤثر است، سازمان‌دهی می‌شوند. عملکرد miRNAبالغ هدایت miRISC به رونوشت هدف، یعنی mRNAای است که توسط این کمپلکس به‌طور منفی تنظیم می‌شود. شناسایی رونوشت هدف، به جفت شدن جزئی باز بین miRNA و محل هدف (که معمولاً در ناحیهٔ mRNA 3' UTRقرار دارد) وابسته است. مهم‌ترین بخش miRNAکه در شناساییmRNAهای هدف نقش دارد، یک توالی هپتامری شامل ۲ تا ۸ نوکلئوتید در انتهای ۵' آن است که به‌عنوان توالی بذر (seed sequence) شناخته می‌شود (Banaee and Sagvand, 2019; Kang *et al*., 2019; Badr *et al*., 2022; Banaee and Badr, 2024). بررسی‌ها نشان می‌دهد که در گونه‌های مختلف جانوری، معمولاً بین توالی بذر و محل هدف mRNA تطابق کامل وجود دارد که به‌دنبال آن نواحی ناکامل (bulges) و سپس مکمل‌های جزئی اضافی بین انتهای '۳ miRNA و محل هدف مشاهده می‌شود. سایت‌های هدف در ناحیهٔ '۳ UTR که تطابق کامل بذر دارند، به‌عنوان سایت‌های هدف متعارف شناخته می‌شوند. بنابراین روش‌های محاسباتی برای پیش‌بینی ژن‌های هدف miRNA، عمدتاً بر شناسایی این سایت‌های متعارف تمرکز دارند. براساس پیش‌بینی‌های بیوانفورماتیک، بیان ۶۰ درصد از کل ژن‌های کدکنندهٔ پروتئین در گونه‌های مختلف جانوری از جمله ماهیان ممکن است تحت تأثیرmiRNAها قرار گیرند (Andreassen and Høyheim, 2017; Banaee and Sagvand, 2019; Banaee *et al*., 2024; Bhuyan *et al*., 2024).

در مهره‌داران، miRNAها به‌عنوان عوامل کلیدی تنظیم‌کنندهٔ شبکه‌های ژنی، فرآیندهای زیستی اساسی نظیر رشد، پاسخ ایمنی، توسعه بافت و حفظ عملکردهای اختصاصی بافت را مدیریت می‌کنند. علاوه براین، miRNAهای اینترونیک که در اینترون‌های ژن‌های کدکننده پروتئین قرار دارند، می‌توانند بیان رونوشت ژن میزبان خود را تنظیم کنند. تنظیم پس از رونویسی توسط miRNAها منجر به کاهش بیان پروتئین از mRNAهای هدف می‌شود که یا ناشی از تخریب mRNA یا سرکوب ترجمه است، بدون اینکه سطح mRNA تغییر کند (Bela-ong *et al*., 2015; Eslamloo *et al*., 2018; He *et al*., 2020; Bhuyan *et al*., 2024).

مطالعات صورت گرفته نشان می‌دهد که اغلب، miRNAهای ارتولوگ در مهره‌داران با حفظ بالای توالی، به‌ویژه در توالی بذر، مشاهده می‌شوند. همچنین، گونه‌های مختلف می‌توانند چندین پارالوگ از یک ژن miRNA داشته باشند. علاوه براین، به‌دلیل مشابهت توالی بذر، انتظار می‌رود miRNAهای ارتولوگ اغلب ترجیحات یکسانی برای سایت‌های هدف داشته باشند. با این حال، نمونه‌هایی از تکامل متفاوت ژن‌های miRNA وجود دارند؛ از جمله جفت ژن‌های miRNA-462 و miRNA-731 در ماهیان استخوانی که ریشه مشترکی با ژن‌های miRNA-191 و miRNA-425در انسان دارند. در حالی‌که برخی از ژن‌های خوشه‌ای miRNA در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان در پاسخ ایمنی نقش دارند، به‌نظر نمی‌رسد چنین عملکردی در انسان داشته باشند، بلکه در کنترل چرخه سلولی نقش‌آفرینی می‌کنند. همچنین، ژن‌هایی ازmiRNAها مانند miRNA-734 و miRNA-7132 وجود دارند که مختص ماهیان استخوانی هستند و در مهره‌داران عالی‌تر یافت نمی‌شوند. با این حال، بسیاری از ژن‌های miRNA حفاظت‌شده به‌صورت خوشه‌ای در ژنوم در طول تکامل همچنان حفظ شده‌اند. به‌عنوان نمونه، ۲۶ خوشه ژن miRNA در گونه‌هایی همچون ماهی سالمون اقیانوس اطلس، ماهی کاد اقیانوس اطلس، گورخرماهی و انسان شناسایی شده‌اند (Wu *et al*., 2012; Wang *et al*., 2018a; He *et al*., 2020; Wang *et al*., 2020).

پیشرفت‌های اخیر در فناوری توالی‌یابی و ابزارهای بیوانفورماتیکی، امکان شناسایی miRNAهای بالغ و ژن‌های miRNA مربوط به آنها را در گونه‌های متعدد ماهیان استخوانی فراهم کرده است. تاکنون، miRNAهایی بیش از ۹ گونه ماهیان استخوانی در پایگاه داده miRBase (http://www.mirbase.org/) ثبت شده است اگرچه تعداد گونه‌ها و ژن‌های miRNA کشف‌شده محدود است،

با این حال، انتظار می‌رود با استفاده از روش‌های پیشرفته‌تر در جست‌وجوی miRNAهای بیان‌شده در بافت‌ها و مراحل مختلف رشد، این تعداد افزایش یابد (Badr *et al*., 2022). مطالعات مرتبط با miRNAها می‌توانند اطلاعات ارزشمندی درباره نحوه تنظیم شبکه‌های ژنی و فرآیندهای زیستی فراهم کنند. با توجه به نقش حیاتیmiRNAها در تنظیم ژن‌ها، اختلال در عملکرد آنها می‌تواند به بروز بیماری‌ها منجر شود. در مطالعات مرتبط با گونه‌های ماهیان استخوانی با اهمیت تجاری، توجه به نقش miRNAها در ویژگی‌های اقتصادی نظیر افزایش نرخ رشد و بهبود کمیت و کیفیت محصول بسیار حائز اهمیت است. شناساییmiRNAهایی دخیل در تنظیم بیان ژن‌های مختلف در ماهیان در معرض عوامل بیماری‌زای زیستی و محیطی، از جمله ژن‌های فعال در تنظیم سیستم ایمنی می‌تواند راهی برای شناساییmiRNAهای مرتبط با سلامت باشد (Zhang *et al*., 2019; Zhao *et al*., 2023).

اگرچه، تنظیم شبکه‌های ژنی سیستم ایمنی توسطmiRNAها در مهره‌داران عالی به‌طور گسترده‌ای مطالعه شده است، اما مطالعه نقشmiRNAها در تنظیم پاسخ‌های ایمنی در ماهیان استخوانی بسیار محدودتر بوده است. با این وجود، مطالعات متعددی نشان داده‌اند که عملکرد زیرمجموعه‌ای از miRNAها پس از مواجهه با ویروس‌های DNA یا RNAدار و یا تیمار با پلی‌اینوزینیک (پلی‌سیتیدیلیک اسید یا (poly (I:C)) به‌عنوان یک محرک سیستم ایمنی در ماهیان استخوانی می‌تواند متفاوت باشد. استفاده از تکنیک ریزآرایه‌ها و توالی‌یابی نیز بر نقش متفاوت miRNAها در گونه‌های مختلف ماهیان تائید شده است. با این وجود، به نقش برخی از miRNAها مانند miRNA-455، miRNA-462 و miRNA-731 در تنظیم بیان ژن‌های کلیدی دخیل در سیستم ایمنی گونه‌های مختلفی کاملاً اتفاق نظر وجود دارد (Andreassen and Høyheim, 2017). در مطالعات اخیر، عملکرد متفاوتی از miRNAهایی دخیل در تنظیم بیان ژن‌های سیستم ایمنی ماهیانی که به‌طور تجربی در معرض باکتری‌های بیماری‌زا یا لیپوپلی‌ساکارید باکتریایی قرار داده شدند، مشاهده شده است (Wu *et al*., 2012). در مجموع هشت miRNA شامل miRNA-192، miRNA-462، miRNA-223، miRNA-146، miRNA-122، miRNA-731، miRNA-181 و miRNA-451 در ماهیانی در معرض عفونت‌های باکتریایی، شناسایی شده که برخی آنها (miRNA-462، miRNA-731، miRNA-181، miRNA-146 و miRNA-223) در تنظیم بیان ژن‌های دخیل در سیستم ایمنی ماهیان در مواجهه با عفونت‌های ویروسی نیز فعالند (Bela-ong *et al*., 2015; Wang *et al*., 2020; Zhao *et al*., 2022; Zhao *et al*., 2023). در حالی‌که miRNA دیگر مانند miRNA-122، miRNA-192 و miRNA-451 در مهره‌داران عالی‌تر با عملکردهای مرتبط با تنظیم پاسخ‌های ایمنی و التهابی گزارش شده‌اند.

هدف از این مطالعه ارزیابی بیوانفورماتیک نقش miRNA در کنترل بیان ژن‌های دخیل در سیستم ایمنی ماهی گورخری (*Danio rerio*) است. از آنجا که شناسایی شبکه‌های تنظیمی بیان ژن با واسطه miRNA می‌تواند در درک ما از مکانیسم‌های مولکولی زیست‌شناسی سیستم ایمنی و بهبود عملکرد آن در مواجهه با عوامل بیماری‌زا مؤثر باشد، پیش‌بینی بیوانفورماتیک نقش miRNA در کنترل بیان ژن‌های دخیل در سیستم ایمنی ماهیان استخوانی می‌تواند حائز اهمیت باشد.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر با هدف روشن کردن مکانیسم‌های تنظیمی پیچیدهmicroRNAها در تعدیل و تنظیم بیان ژن‌های دخیل در فیزیولوژی ایمنی ماهیان استخوانی انجام شد. ابتدا پروفایل ژنی مرتبط با سیستم ایمنی ماهی گورخری (*D. rerio*) از مخزنNCBI استخراج و به‌عنوان پایه‌ای برای تحلیل‌های بعدی انتخاب گردید. سپس با استفاده از نرم‌افزار *Target Scan*، microRNAهای دخیل در تنظیم ژن‌های هدف شناسایی شدند. این ابزار به‌صورت الگوریتمی نواحی ۷ یا ۳ نوکلئوتیدی مکمل ناحیه هسته ژن‌های هدف را شناسایی و پایداری ترمودینامیکی دوبلکس‌های microRNA-هدف را ارزیابی کرد تا احتمال تنظیم مؤثر مشخص شود. امتیازات عددی بالاتر در این سیستم نشان‌دهنده اتصال قوی‌تر microRNA به ژن هدف است. در ادامه، از برنامه miRBase (https://www.mirbase.org) برای شناسایی و

تفسیرmicroRNAهای هدف استفاده شد که با اعمال حد آستانه ۷۰ و شاخص‌هایی مانند قدرت اتصال و فراوانی تکرار ناحیه هدف در UTR۳'، تحلیل دقیقی ارائه کرد. ادغام این نتایج منجر به استخراج امتیاز جامع miRmap شد که مقادیر نزدیک به ۱۰۰ نشان‌دهنده دقت بالاتر در پیش‌بینی هستند. در نهایت، ژن‌هایی با امتیاز بالاتر به‌عنوان کاندیدای احتمالی برای آزمایش‌های عملی انتخاب شدند. این روش، با استفاده از داده‌های بیوانفورماتیکی و تحلیل الگوریتمی، ابزاری کارآمد برای شناسایی نقش تنظیمیmicroRNAها در بیان ژن‌های مرتبط با ایمنی ماهی گورخری ارائه می‌دهد (Banaee and Sagvand, 2019; Badr *et al*., 2022; Banaee and Badr, 2024; Banaee *et al*., 2024).

نتایج

ژن *tlr3* به‌دلیل نقش آن در تشخیص RNA دو رشته‌ای و فعال‌سازی پاسخ‌های ایمنی ذاتی، اهمیت زیادی دارد. miRNAهای dre-miR-30e-3p و dre-miR-723-5p دارای امتیازهای بالا (۸۴/۶۷ و ۸۳/۳۵) هستند. در حالی‌که، dre-miR-142a-3pنیز با امتیاز ۷۴/۲۴ احتمالاً تأثیر تنظیمی متوسطی دارد (جدول ۱).

ژن *nlrx1* عضوی از خانواده گیرنده‌های NOD-like است که در تنظیم پاسخ‌های ایمنی ذاتی نقش دارد. ژن *nlrx1* معمولاً در تنظیم پاسخ‌های ایمنی و استرس اکسیداتیو نقش دارد. این ژن با مهار مسیر NF-κB و تنظیم تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، به کاهش التهاب بیش از حد و جلوگیری از آسیب ناشی از استرس اکسیداتیو کمک می‌کند. پروتئین NLRX1 به‌عنوان یک تنظیم‌کننده کلیدی در حفظ تعادل بین ایمنی و اکسیداسیون در ماهیان، اهمیت ویژه‌ای دارد. dre-miR-155 با امتیاز ۹۴/۸۱ یکی از قوی‌ترین تعامل‌ها را نشان می‌دهد، که ممکن است در تنظیم مسیرهای سیگنال‌دهی مرتبط با ایمنی ذاتی نقش داشته باشد. علاوه براین، miRNAهای با امتیازهای نزدیک به ۹۰ نظیر dre-miR-2194، dre-miR-725 و dre-miR-2185-5p از نظر تعامل با ژن مذکور در مرتبه بعدی قرار دارد. miRNAهای دیگری مانند dre-miR-27، dre-miR-135a، و dre-miR-135c امتیازهایی بین ۸۰ تا ۸۵ دارند، که نشان‌دهنده تعاملات تنظیمی احتمالی متوسط است. تعاملات با امتیازهای پایین‌تر مانند dre-miR-190b با امتیاز ۷۰/۱۹ احتمالاً تأثیر کمتری دارند (جدول ۱).

ژن *saa* در پاسخ‌های التهابی و تنظیم ایمنی نقش دارد. ژن *saa* کد کننده یک پروتئین فاز حاد به نام آمیلوئید آ سرمی است که در پاسخ به عوامل التهابی و عفونت‌ها به‌طور چشمگیری افزایش می‌یابد. این پروتئین نقش‌های چندگانه‌ای در تنظیم پاسخ‌های ایمنی، فعال‌سازی سلول‌های ایمنی و کنترل التهاب ایفا می‌کند. همچنین به‌عنوان یک نشانگر زیستی برای التهاب حاد و مزمن شناخته می‌شود. بیان این ژن به‌طور خاص در ماهیان در واکنش به استرس‌های محیطی و عفونت‌های باکتریایی و ویروسی نقش حیاتی دارد. نتایج بیوانفورماتیک نشان می‌دهد که dre-miR-135c، dre-miR-135b و dre-miR-135a دارای امتیازهای بسیار بالا (۹۵/۹) هستند و نشان‌دهنده تنظیم قوی این ژن توسط این‌miRNAها هستند. نقش dre-miR-499، dre-miR-2184 و dre-miR-736 به ترتیب با امتیازات ۹۲/۶، ۸۳/۶۸ و ۷۵/۶۳ در تنظیم بیان ژن *saa* قابل توجه است (جدول ۱).

ژن *cxcl12a*، که کموکین SDF-1 را رمزگذاری می‌کند، در مسیرهای ایمنی و مهاجرت سلول‌های ایمنی نقش کلیدی دارد. dre-miR-740 با امتیاز ۹۹/۳۱ قوی‌ترین تعامل پیش‌بینی‌شده را نشان می‌دهد. علاوه براین، نتایج بیوانفورماتیک نشان می‌دهد که‌dre-miR-22bو dre-miR-22a با امتیازهای ۹۸/۵۹ و ۹۸/۴۲ تعاملات بسیار قوی با ژن *cxcl12a* را نشان می‌دهند. miRNAهای dre-miR-182-5p، dre-miR-23a و dre-miR-23bنیز با امتیازهایی بالاتر از ۹۷ نقش تنظیمی مهمی دارند. در حالی‌که سایرmiRNAها با امتیازهای کمتر از ۹۵ (مانند dre-miR-365، dre-miR-194b و-dre miR-25) تأثیرات متوسطی در تنظیم بیان ژن *cxcl12a* دارند (جدول ۱).

ژن *C3*، که یکی از اجزای مهم سیستم مکمل است، در پاسخ ایمنی ذاتی و فرآیندهای التهابی نقش حیاتی دارد. dre-miR-93 و dre-miR-128 با امتیازهای ۸۷/۱۷ و ۸۷/۱۴ قوی‌ترین تعاملات پیش‌بینی‌شده برای این ژن را دارند. همچنین dre-miR-20a-5p و dre-miR-20b نیز با امتیازهای بالاتر از ۸۱، نقش تنظیمی متوسطی دارند. در حالی‌که، miRNAهایی با امتیاز پایین‌تر مانند -dre-miR

جدول ۱- ارزیابی بیوانفورماتیک miRNAهای دخیل در بیان ژن‌های *tlr3*، *nlrx1*، *saa*، *cxcl12a* و *C3* در ماهی زبرا (*Danio rerio*) با استفاده از پایگاه داده‌های miRmap

miRNA	نام ژن	miRmap امتیاز	miRNA	نام ژن	miRmap امتیاز
dre-miR-30e-3p	*tlr3*	۸۴/۶۷	dre-miR-182-5p	*cxcl12a*	۹۷/۷۹
dre-miR-723-5p	*tlr3*	۸۳/۳۵	dre-miR-23a	*cxcl12a*	۹۷/۷۸
dre-miR-142a-3p	*tlr3*	۷۴/۲۴	dre-miR-23b	*cxcl12a*	۹۷/۷۵
dre-miR-155	*nlrx1*	۹۴/۸۱	dre-miR-34b	*cxcl12a*	۹۷/۴۵
dre-miR-2194	*nlrx1*	۹۳/۳۳	dre-miR-30e-3p	*cxcl12a*	۹۷/۱
dre-miR-725	*nlrx1*	۹۳/۰۸	dre-miR-459-5p	*cxcl12a*	۹۶/۹۲
dre-miR-2185-5p	*nlrx1*	۹۲/۳۱	dre-miR-365	*cxcl12a*	۹۵/۲۶
dre-miR-203b-5p	*nlrx1*	۸۹/۹۹	dre-miR-194b	*cxcl12a*	۸۹/۵۹
dre-miR-192	*nlrx1*	۸۹/۴۲	dre-miR-25	*cxcl12a*	۸۹
dre-miR-128	*nlrx1*	۸۸/۳۳	dre-miR-212	*cxcl12a*	۸۸/۶۴
dre-miR-27b	*nlrx1*	۸۶/۶۶	dre-miR-96	*cxcl12a*	۸۸/۱۱
dre-miR-182-3p	*nlrx1*	۸۵/۶۸	dre-miR-141	*cxcl12a*	۸۷/۴۵
dre-miR-135a	*nlrx1*	۸۴/۳	dre-miR-200a	*cxcl12a*	۸۷/۱۶
dre-miR-27a	*nlrx1*	۸۳/۸۴	dre-miR-124	*cxcl12a*	۸۵/۷
dre-miR-727-5p	*nlrx1*	۸۳/۸	dre-miR-92b	*cxcl12a*	۸۴/۹۸
dre-miR-27c-3p	*nlrx1*	۸۳/۷۸	dre-miR-2184	*cxcl12a*	۸۴/۲۶
dre-miR-153a	*nlrx1*	۸۲/۶۵	dre-miR-18c	*cxcl12a*	۸۳/۹۲
dre-miR-135b	*nlrx1*	۸۲/۲۱	dre-miR-92a	*cxcl12a*	۸۳/۸۵
dre-miR-135c	*nlrx1*	۸۲/۱۱	dre-miR-723-3p	*cxcl12a*	۸۳/۵۵
dre-miR-27d	*nlrx1*	۸۱/۸۹	dre-miR-430b	*cxcl12a*	۸۳/۲۲
dre-miR-27e	*nlrx1*	۸۱/۰۱	dre-miR-430a	*cxcl12a*	۸۳/۱۱
dre-miR-735	*nlrx1*	۷۸/۷۸	dre-miR-122	*cxcl12a*	۸۳/۰۵
dre-miR-153b	*nlrx1*	۷۷/۵۵	dre-miR-18a	*cxcl12a*	۸۳/۰۴
dre-miR-724	*nlrx1*	۷۶/۵۶	dre-miR-727-3p	*cxcl12a*	۸۲/۹۲
dre-miR-722	*nlrx1*	۷۶/۰۱	dre-miR-192	*cxcl12a*	۸۲/۷
dre-miR-153c	*nlrx1*	۷۵/۵۷	dre-miR-430i	*cxcl12a*	۸۲/۴۲
dre-miR-190b	*nlrx1*	۷۰/۱۹	dre-miR-18b-5p	*cxcl12a*	۸۱/۷۲
dre-miR-135c	*saa*	۹۵/۹۷	dre-miR-93	*C3*	۸۷/۱۷
dre-miR-135b	*saa*	۹۵/۹۷	dre-miR-128	*C3*	۸۷/۱۴
dre-miR-135a	*saa*	۹۵/۹۱	dre-miR-20a-5p	*C3*	۸۴/۵۱
dre-miR-499	*saa*	۹۲/۶	dre-miR-20b	*C3*	۸۱/۶۲
dre-miR-2184	*saa*	۸۳/۶۸	dre-miR-17a-5p	*C3*	۸۱/۴۸
dre-miR-736	*saa*	۷۵/۶۳	dre-miR-459-3p	*C3*	۷۸/۸۳
dre-miR-740	*cxcl12a*	۹۹/۳۱	dre-miR-210-3p	*C3*	۷۴/۵۸
dre-miR-22b	*cxcl12a*	۹۸/۵۹	dre-miR-19b-5p	*C3*	۷۱/۲۶
dre-miR-22a	*cxcl12a*	۹۸/۴۲			

459-3p ، dre-miR-210-3p و dre-miR-19b-5p تأثیرات کمتری در تنظیم بیان ژن *C3* دارند (جدول ۱).

ژن *mhc1ze* بخشی از مولکول‌های متعلق به خانواده MHCکلاس I است که در ارائه آنتی‌ژن‌های داخل‌سلولی به سلول‌های ایمنی نقش دارد. همچنین ژن *mhc1uba* نیز به خانواده MHC کلاس I تعلق دارد. ژن *mhc2dab* نیز بخشی از مولکول‌های کلاس II MHC است که در ارائه آنتی‌ژن‌های برون‌سلولی به سلول‌های ایمنی تخصصی (مانند سلول‌های T کمکی) نقش دارد. در حالی‌که، ژن *mhc1zel* ممکن است در شناسایی آنتی‌ژن‌ها نقش داشته باشد. بررسی‌های بیوانفورماتیک نشان می‌دهد که dre-miR-101a، dre-miR-101b و dre-miR-2188-5p

جدول ۲- ارزیابی بیوانفورماتیک miRNAهای دخیل در بیان ژن‌های *mhc1ze*، *mhc1uba*، *mhc2dab* و *mhc1zel* در ماهی زبرا (*Danio rerio*) با استفاده از پایگاه داده‌های miRmap

miRNA	نام ژن	امتیاز miRmap	miRNA	نام ژن	امتیاز miRmap
dre-miR-101a	*mhc1ze*	۹۵/۹۱	dre-miR-3906	*mhc2dab*	۹۶/۲۶
dre-miR-101b	*mhc1ze*	۹۵/۸۳	dre-miR-204	*mhc2dab*	۹۱/۵۴
dre-miR-2188-5p	*mhc1ze*	۹۵/۴۱	dre-miR-103	*mhc2dab*	۸۶/۴۸
dre-miR-148	*mhc1ze*	۹۳/۶۲	dre-miR-216b	*mhc2dab*	۸۶/۳۵
dre-miR-152	*mhc1ze*	۹۳/۳۲	dre-miR-737	*mhc2dab*	۸۶/۱۴
dre-miR-723-5p	*mhc1ze*	۸۴/۰۱	dre-miR-107a	*mhc2dab*	۸۳/۸۶
dre-miR-144	*mhc1ze*	۷۳/۷	dre-miR-107b	*mhc2dab*	۸۲/۶۴
dre-miR-27c-5p	*mhc1uba*	۹۴/۶۸	dre-miR-734	*mhc2dab*	۸۱/۲۷
dre-miR-214	*mhc1uba*	۹۰/۶۶	dre-miR-194b	*mhc2dab*	۷۹/۵۳
dre-miR-93	*mhc1uba*	۸۴/۹	dre-miR-194a	*mhc2dab*	۷۸/۷۴
dre-miR-734	*mhc1uba*	۸۴/۰۱	dre-miR-214	*mhc2dab*	۷۵/۸۶
dre-miR-216b	*mhc1uba*	۸۱/۷۱	dre-miR-193b	*mhc2dab*	۷۴/۵
dre-miR-31	*mhc1uba*	۷۸/۸	dre-miR-18c	*mhc2dab*	۷۳/۸۷
dre-miR-20b	*mhc1uba*	۷۶/۳۱	dre-miR-193a	*mhc2dab*	۷۳/۸۷
dre-miR-20a-5p	*mhc1uba*	۷۶/۱۱	dre-miR-18a	*mhc2dab*	۷۰/۳۸
dre-miR-17a-5p	*mhc1uba*	۷۶/۰۴	dre-miR-3906	*mhc2dab*	۹۶/۲۶
dre-miR-3906	*mhc1uba*	۷۵/۶۸	dre-miR-2198	*mhc1zel*	۹۴/۷
			dre-miR-2185-5p	*mhc1zel*	۷۹/۷۶

بالاترین امتیازها (۹۵/۹۱، ۹۵/۸۳ و ۹۵/۴۱) را دارند و به‌عنوان تنظیم‌کننده‌های قوی احتمالی تنظیم‌کننده بیان ژن *mhc1ze* می‌باشند. همچنین، سایر miRNAها مانند dre-miR-148 وdre-miR-152 نیز امتیازهای بالاتر از ۹۰ دارند و می‌توانند به‌عنوان اهداف تحقیقاتی معتبر در نظر گرفته شوند. در حالی‌که dre-miR-144 با امتیاز ۷۳/۷ ممکن است تأثیر کمتری در تنظیم بیان ژن *mhc1ze* داشته باشد (جدول ۲).

dre-miR-3906 با امتیاز ۹۶/۲۶ قوی‌ترین تعامل پیش‌بینی‌شده را در تنظیم بیان ژن *mhc2dab* دارد. به‌همین ترتیب dre-miR-204، dre-miR-103 و dre-miR-193b با امتیازهای ۹۱/۵۴، ۸۶/۴۸ و ۷۴/۵ در تنظیم بیان ژن مذکور از نظر اهمیت در مرتبه‌های بعدی قرار دارند (جدول ۲). نتایج بیوانفورماتیک نشان می‌دهد که dre-miR-27c-5p و dre-miR-214 به‌ترتیب با امتیاز ۹۴/۶۸ و ۹۰/۶۶ نقش مهمی در تنظیم بیان ژن *mhc1uba* دارند. در حالی‌که dre-miR-93، dre-miR-734، و dre-miR-216b نیز با امتیازهای ۸۴/۹، ۸۴/۰۱، و ۸۱/۷۱ نقش‌های تنظیمی متوسطی دارند و miRNAهایی مانند dre-miR-20b و dre-miR-17a-5p با امتیازهای حدود ۷۶ تأثیرات نسبتاً ضعیفی تنظیم بیان ژن *mhc1uba* دارند (جدول ۲). نتایج این مطالعه نشان داد که dre-miR-2198 با امتیاز ۹۴/۷ و dre-miR-2185-5p با امتیاز ۷۹/۷۶، نقش مهمی در تنظیم بیان ژن *mhc1zel* دارند (جدول ۲).

ژن‌های *ildr2*، *ildr1b*، و *ildr1a* ممکن است در مسیرهای سیگنالینگ مرتبط با شناسایی و پاسخ به عوامل بیماری‌زا مشارکت داشته باشند. همچنین این ژن‌ها در تنظیم ایمنی، تنظیم عملکرد سیستم ایمنی و فرآیندهای مرتبط با پاسخ‌های التهابی نقش دارد. تعاملات قوی با miRNAهای مشخص شده نشان‌دهنده اهمیت تنظیم بیان این ژن در مسیرهای زیستی مرتبط با ایمنی است. نتایج تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیکی miRNAها نشان داد که dre-miR-101a، dre-miR-183، dre-miR-101b، dre-miR-152 و dre-miR-148 به‌ترتیب با امتیازهای ۹۷/۲۵، ۹۷/۰۶، ۹۶/۹۸، ۸۷/۸۴ و ۸۶/۷ نقش مهمی در تنظیم بیان ژن *ildr2* و کنترل فرآیندهای مرتبط با التهاب یا پاسخ ایمنی ایفا کند. در حالی‌که dre-miR-454b و dre-miR-141 با امتیازی کمتر از ۸۰ تمایل کمتری در برهمکنش با ژن مذکور دارند و احتمالاً نقش مکملی در تنظیم بیان ژن *ildr2* ایفا می‌کنند (جدول ۳).

جدول ۳- ارزیابی بیوانفورماتیک miRNAهای دخیل در بیان ژن‌های *ildr2*، *ildr1b* و *ildr1a* در ماهی زبرا (*Danio rerio*) با استفاده از پایگاه داده‌های miRmap

miRNA	نام ژن	امتیاز miRmap	miRNA	نام ژن	امتیاز miRmap
dre-miR-101a	ildr2	۹۷/۲۵	dre-miR-126a-5p	ildr1b	۷۴/۹۱
dre-miR-183	ildr2	۹۷/۰۶	dre-miR-301b	ildr1b	۷۴/۸۶
dre-miR-101b	ildr2	۹۶/۹۸	dre-miR-196a	ildr1b	۷۴/۲۷
dre-miR-152	ildr2	۸۷/۸۴	dre-miR-301a	ildr1b	۷۴/۰۷
dre-miR-148	ildr2	۸۶/۷	dre-miR-454b	ildr1b	۷۴/۰۵
dre-miR-1	ildr2	۸۶/۳۲	dre-miR-196d	ildr1b	۷۳/۹۴
dre-miR-206	ildr2	۸۴/۸۱	dre-miR-130a	ildr1b	۷۳/۷۹
dre-miR-130a	ildr2	۸۱/۱۱	dre-miR-454a	ildr1b	۷۳/۰۵
dre-miR-144	ildr2	۷۸/۷۴	dre-miR-132-3p	ildr1b	۷۲/۰۹
dre-miR-130b	ildr2	۷۷/۵۲	dre-miR-196b	ildr1b	۷۲/۰۹
dre-miR-454a	ildr2	۷۶/۶۸	dre-miR-130c	ildr1b	۷۱/۱۳
dre-miR-454b	ildr2	۷۶/۳۵	dre-miR-142a-3p	ildr1a	۹۹/۸۲
dre-miR-141	ildr2	۷۵/۴۹	dre-miR-216b	ildr1a	۸۸/۹۲
dre-miR-200a	ildr2	۷۵/۳۱	dre-miR-133a-5p	ildr1a	۸۸/۶۸
dre-miR-187	ildr2	۷۵	dre-miR-2196	ildr1a	۸۷/۳۲
dre-miR-130c	ildr2	۷۳/۸	dre-miR-17a-3p	ildr1a	۸۶/۲۵
dre-miR-199-3p	ildr2	۷۳/۱	dre-miR-723-5p	ildr1a	۸۵/۶۶
dre-miR-740	ildr1b	۹۸/۵۴	dre-miR-20a-3p	ildr1a	۸۵/۴۲
dre-miR-723-5p	ildr1b	۹۵/۴۹	dre-miR-122	ildr1a	۸۰/۳۷
dre-miR-29b	ildr1b	۹۳/۳۲	dre-miR-454b	ildr1a	۷۷/۱
dre-miR-29a	ildr1b	۹۳/۱۳	dre-miR-130a	ildr1a	۷۶/۵
dre-miR-458	ildr1b	۸۹/۴۹	dre-miR-301c	ildr1a	۷۶/۲۶
dre-miR-21	ildr1b	۸۵/۹۶	dre-miR-301a	ildr1a	۷۵/۱۹
dre-miR-430a	ildr1b	۷۷/۶۳	dre-miR-301b	ildr1a	۷۴/۸۲
dre-miR-430i	ildr1b	۷۶/۹۹	dre-miR-454a	ildr1a	۷۴/۳
dre-miR-430c	ildr1b	۷۵/۷۴	dre-miR-460-3p	ildr1a	۷۳/۴۷
dre-miR-196c	ildr1b	۷۵/۶۶	dre-miR-130b	ildr1a	۷۱/۷۹
dre-miR-430b	ildr1b	۷۵/۴۹	dre-miR-130c	ildr1a	۷۱/۶۳
dre-miR-301c	ildr1b	۷۵/۱۵	dre-miR-22b	ildr1a	۷۱/۵۸
dre-miR-126b-5p	ildr1b	۷۴/۹۱			

براساس نتایج به‌دست آمده، dre-miR-740، dre-miR-723-5p، dre-miR-29b و dre-miR-29a به ترتیب با امتیارهای ۹۸/۵۴، ۹۵/۴۹، ۹۳/۳۲ و ۹۳/۱۳ دارای بیشتری تمایل به تنظیم بیان ژن *ildr1b* دارند. در حالی که dre-miR-430a، dre-miR-196c، dre-miR-196a و dre-miR-126a-5p با امتیازهای کمتر از ۷۸ دارای نقش تنظیمی متوسط و ضعیف‌تری داشته و احتمالاً نقش مکمل در مسیرهای سیگنال‌دهی مرتبط با ایمنی ایفا می‌کنند (جدول ۳). ژن *ildr1a* به‌دلیل تعاملات پیش‌بینی‌شده با miRNAها، احتمالاً در تنظیم فرآیندهای ایمنی پیچیده و پاسخ به عوامل استرس‌زا نقش مهمی ایفا می‌کند. نتایج نشان می‌دهد که dre-miR-142a-3p، dre-miR-216b، dre-miR-133a-5p، dre-miR-723-5p و dre-miR-20a-3p به‌ترتیب با امتیازات ۹۹/۸۲، ۸۸/۹۲، ۸۸/۶۸، ۵۶/۶۶ و ۸۵/۴۲ در نقش مهمی در تنظیم بیان ژن *ildr1a* دارند. در حالی‌که نقش dre-miR-130b و dre-miR-22b در تنظیم بیان ژن مذکور ضعیف‌تر بوده و ممکن است نقش پشتیبان در تنظیم ژن داشته باشند (جدول ۳).

نتایج ارائه‌شده در جدول ۴ پایگاه TargetScan نشان‌دهنده پیش‌بینی تعامل بینmicroRNAهای مختلف و ژن‌های هدف در ماهی زبرا (*Danio rerio*) با استفاده از context+ score percentileاست. این امتیاز بیانگر

جدول ٤- ارزیابی بیوانفورماتیک miRNAهای دخیل در بیان ژن‌های در سیستم ایمنی ماهی زبرا (*Danio rerio*) با استفاده از پایگاه داده‌های Target Scan

miRNA	نام ژن	context+ score percentile	miRNA	نام ژن	context+ score percentile
dre-miR-722	*tlr3*	۶۹	dre-miR-23a	*mhc1zel*	۳۳
dre-miR-129	*tlr3*	۶۷	dre-miR-23b	*mhc1zel*	۳۳
dre-miR-155	*nlrx1*	۸۹	dre-miR-430b	*ildr2*	۴۵
dre-miR-2194	*nlrx1*	۸۷	dre-miR-430a	*ildr2*	۴۵
dre-miR-135c	*saa*	۹۲	dre-miR-430i	*ildr2*	۴۴
dre-miR-135b	*saa*	۹۲	dre-miR-430c	*ildr2*	۴۴
dre-miR-135a	*saa*	۹۲	dre-miR-34c	*ildr1b*	۵۹
dre-miR-430a	*cxcl12a*	۸۸	dre-miR-34	*ildr1b*	۵۷
dre-miR-430i	*cxcl12a*	۸۸	dre-miR-199	*ildr1a*	۳۳
dre-miR-430b	*cxcl12a*	۸۷	dre-miR-23a	*mhc1ze*	۳۳
dre-miR-430c	*cxcl12a*	۸۳	dre-miR-23b	*mhc1ze*	۳۳
dre-miR-730	*C3*	۹۷	dre-miR-107	*mhc2dab*	۷۷
dre-miR-740	*C3*	۹۰	dre-miR-107b	*mhc2dab*	۷۷
dre-miR-2195	*C3*	۶۱	dre-miR-103	*mhc2dab*	۷۷

میزان تأثیر بالقوه miRNA بر کاهش بیان ژن هدف است، به‌طوری که درصدهای بالاتر نشان‌دهنده توان مهاری قوی‌تر miRNA بر بیان ژن هدف هستند.

ژن *tlr3* که در شناسایی الگوهای مولکولی پاتوژن‌ها (PAMPs) و فعال‌سازی سیستم ایمنی ذاتی نقش دارد، تحت تنظیم *dre-miR-722* (با امتیاز ۶۹) و-*dre-miR-129*(با امتیاز ۶۷) قرار گرفته است. این مقادیر نشان‌دهنده تأثیر متوسط تا زیادmiRNA ها بر سرکوب بیان این ژن است که ممکن است منجر به تعدیل پاسخ‌های ایمنی شود. ژن *nlrx1* که در تنظیم التهاب و مسیرهای پاسخ به استرس نقش دارد، تحت تأثیر قوی*dre-miR-155* (با امتیاز ۸۹) و *dre-miR-2194* (با امتیاز ۸۷) قرار دارد. این مقادیر بالا نشان‌دهنده کنترل قوی miRNA بر این ژن است که می‌تواند بیان *nlrx1* را به میزان زیادی سرکوب کند.

ژن (Serum Amyloid A) *saa* که یک پروتئین فاز حاد التهابی است، تحت تنظیم قوی *dre-miR-135a*،*dre-miR-135b*و *dre-miR-135c* با امتیاز بسیار بالا (۹۲) قرار دارد. این نتایج نشان می‌دهند که این miRNA ها نقش مهمی در سرکوب ژن‌های التهابی دارند که می‌تواند اثرات مهمی در پاسخ‌های استرس و التهاب ایجاد کند. ژن *C3* که جزء مهمی از سیستم کمپلمان است و در ایمنی ذاتی نقش دارد، تحت تأثیر miRNAهایی مانند *dre-miR-730* (امتیاز ۹۷) و *dre-miR-740* (امتیاز ۹۰) قرار دارد. این نتایج بیانگر تأثیر مهاری بسیار قوی این miRNAها بر بیان *C3* هستند که می‌تواند منجر به کاهش عملکرد سیستم کمپلمان و تضعیف دفاع ایمنی شود. ژن‌های *mhc1zel* و *mhc2dab*که در ارائه آنتی‌ژن و پاسخ ایمنی تطبیقی نقش دارند، توسطmiRNA هایی مانند *dre-miR-23a*،*dre-miR-23b*و *dre-miR-107* تنظیم می‌شوند. امتیاز (۳۲) *mhc1zel* نشان‌دهنده تأثیر ضعیف‌تر این miRNAها در سرکوب آن است، درحالی‌که *dre-miR-107* اثر قوی‌تری (۷۷) بر *mhc2dab* دارد. این نتایج نشان می‌دهند که تنظیم این ژن‌ها توسط miRNA می‌تواند تأثیر متفاوتی بر کارایی ارائه آنتی‌ژن داشته باشد. ژن *cxcl12a* که در مهاجرت سلولی و پاسخ‌های ایمنی نقش دارد، توسط چندین miRNAاز جمله *dre-miR-430a* و *dre-miR-430i* با امتیازهای بالا (۸۸ و ۸۷) تنظیم می‌شود. این نتایج نشان می‌دهند که این miRNAها می‌توانند نقش مهمی در مهار بیان *cxcl12a* و در نتیجه کنترل مهاجرت سلول‌های ایمنی ایفا کنند.

جدول ۵ ارائه‌شده از پایگاه داده miRWalk نشان‌دهنده تعاملات بینmicroRNAهای مختلف (*dre-miR*) و ژن‌های هدف آن‌ها در ماهی زبرا (*Danio rerio*) است. این داده‌ها بر اساس معیار سطح اطمینان بالا (P>۰/۹۵) انتخاب شده‌اند، که نشان‌دهنده دقت بالای تعاملات شناسایی‌شده است. ژن *tlr3* که در شناسایی

جدول ۵. ارزیابی بیوانفورماتیک miRNAهای دخیل در بیان ژن‌های در سیستم ایمنی ماهی زبرا (*Danio rerio*) با استفاده از پایگاه داده‌های miRWalk(Binding P>۰/۹۵)

تعداد بازهای جفت شده	نام ژن	Mirna	تعداد بازهای جفت شده	نام ژن	Mirna
۱۶	*cxcl12a*	dre-miR-214	۱۹	*tlr3*	dre-miR-221-3p
۱۴	*cxcl12a*	dre-miR-10d-5p	۱۱	*tlr3*	dre-let-7d-5p
۱۸	*cxcl12a*	dre-miR-19d-5p	۱۳	*tlr3*	dre-miR-125b-1-3p
۱۹	*cxcl12a*	dre-miR-30c-3p	۱۵	*nlrx1*	dre-miR-25-3p
۱۹	*cxcl12a*	dre-miR-92a-5p	۱۷	*nlrx1*	dre-miR-301b-5p
۱۸	*cxcl12a*	dre-miR-92a-2-5p	۱۹	*nlrx1*	dre-miR-725-3p
۱۸	*cxcl12a*	dre-miR-125b-1-3p	۱۷	*nlrx1*	dre-miR-29b3-5p
۱۳	*cxcl12a*	dre-miR-130c-5p	۱۷	*nlrx1*	dre-miR-301b-5p
۱۱	*cxcl12a*	dre-miR-133a-3p	۱۹	*nlrx1*	dre-miR-725-3p
۱۱	*cxcl12a*	dre-miR-133b-3p	۱۷	*nlrx1*	dre-miR-29b3-5p
۱۷	*cxcl12a*	dre-miR-196b	۱۳	*ildr2*	dre-miR-34a
۱۷	*cxcl12a*	dre-miR-456	۱۸	*ildr2*	dre-miR-34a
۱۵	*cxcl12a*	dre-miR-456	۱۸	*ildr2*	dre-miR-222a-5p
۱۴	*cxcl12a*	dre-miR-2185-5p	۱۶	*ildr2*	dre-miR-430c-3p
۱۴	*cxcl12a*	dre-miR-1388-5p	۱۵	*ildr2*	dre-miR-27b-5p
۱۸	*cxcl12a*	dre-miR-2196	۱۵	*ildr2*	dre-miR-101a
۱۲	*cxcl12a*	dre-miR-24b-5p	۱۳	*ildr2*	dre-miR-152
۱۵	*cxcl12a*	dre-miR-128-3-5p	۱۹	*ildr2*	dre-miR-489
۱۰	*mhc1lga*	dre-miR-216a	۱۸	*ildr2*	dre-miR-2194
۱۹	*mhc1lga*	dre-miR-133b-5p	۱۳	*ildr2*	dre-miR-34a
۱۸	*mhc1lga*	dre-miR-193a-5p	۱۸	*ildr2*	dre-miR-34a
۱۳	*mhc1lga*	dre-miR-193b-5p	۱۸	*ildr2*	dre-miR-222a-5p
۱۵	*mhc1lga*	dre-miR-456	۱۶	*ildr2*	dre-miR-430c-3p
۱۴	*mhc1lga*	dre-miR-725-5p	۱۵	*ildr2*	dre-miR-27b-5p
۱۶	*mhc1lga*	dre-miR-725-5p	۱۵	*ildr2*	dre-miR-101a
۱۰	*mhc1lga*	dre-miR-216a	۱۳	*ildr2*	dre-miR-152
۱۹	*mhc1lga*	dre-miR-133b-5p	۱۹	*ildr2*	dre-miR-489
۱۸	*mhc1lga*	dre-miR-193a-5p	۱۸	*ildr2*	dre-miR-2194
۱۳	*mhc1lga*	dre-miR-193b-5p	۱۹	*ildr1b*	dre-miR-137-5p
۱۵	*mhc1lga*	dre-miR-456	۱۴	*ildr1b*	dre-miR-2192
۱۴	*mhc1lga*	dre-miR-725-5p			
۱۶	*mhc1lga*	dre-miR-725-5p			

RNAویروسی و فعال‌سازی مسیرهای التهابی نقش دارد، تحت تأثیر چندین miRNA از جمله *dre-miR-221-3p* (با ۱۹ جفت‌باز) قرار دارد که نشان‌دهنده مهار قوی این ژن است. همچنین ژن *nlrx1* که در تنظیم استرس اکسیداتیو و پاسخ‌های ایمنی نقش دارد، توسط *dre-miR-725-3p* با ۱۹ جفت‌باز به‌شدت سرکوب می‌شود. ژن *cxcl12a* که در مهاجرت سلولی و پاسخ‌های ایمنی مؤثر است، تحت تأثیر miRNAهایی مانند *dre-miR-30c-3p* و-*dre-miR-92a-5p* با ۱۹ جفت‌باز قرار گرفته که نشان‌دهنده کنترل پس از رونویسی قوی این ژن است. از سوی دیگر، ژن *mhc1lga*که در سیستم ایمنی تطبیقی نقش دارد، تحت تنظیمmiRNAهایی مانند *dre-miR-133b-5p* با ۱۹ جفت‌باز قرار گرفته که می‌تواند اثر مهمی بر ارائه آنتی‌ژن و پاسخ ایمنی داشته باشد.

بررسیmiRNAهایی که اهداف متعددی دارند، مانند *dre-miR-34a*که با ژن‌های *ildr2* تعامل دارد، نشان می‌دهد که این‌miRNAها می‌توانند به‌عنوان تنظیم‌کننده‌های کلیدی در مسیرهای مختلف ایمنی عمل

کنند. همچنین miRNAهایی مانند *dre-miR-725-3p* که با چندین ژن درگیر هستند، ممکن است نقش مهمی در سرکوب مسیرهای ایمنی ایفا کنند. اتصال‌های قوی (≤۱۹ جفت‌باز) که بین برخی miRNAها و ژن‌های هدف مشاهده شده است، می‌تواند نشان‌دهنده اثر مهاری بسیار قوی باشد که ممکن است موجب کاهش بیان ژن و تضعیف پاسخ‌های ایمنی شود.

بحث

ژن‌های کمپلکس اصلی سازگاری بافتی (MHC) در ماهیان نقش محوری در ایمنی تطبیقی دارند. پروتئین‌های MHC کلاس I (*mhc1ze* و *mhc1uba*) و عمدتاً توسط سلول‌های هسته‌دار بیان می‌شوند و آنتی‌ژن‌های درون‌سلولی، مانند آنتی‌ژن‌های ویروسی، را شناسایی و به لنفوسیت‌های T سیتوتوکسیک (+CD8) ارائه می‌دهند. این مکانیسم برای حذف سلول‌های آلوده به ویروس یا سلول‌های دارای تغییرات سرطانی ضروری است. از سوی دیگر، پروتئین‌های MHC کلاس II (*mhc2dab*) در سلول‌های تخصصی ارائه‌دهنده آنتی‌ژن، مانند ماکروفاژها و سلول‌های دندریتیک، بیان می‌شوند و آنتی‌ژن‌های خارج‌سلولی، مانند پروتئین‌های باکتریایی، را به لنفوسیت‌های T کمکی (+CD4) ارائه می‌کنند (Yamaguchi and Dijkstra, 2019). این فرآیند برای ایجاد پاسخ‌های ایمنی تطبیقی ضروری است. در ماهیان، تنوع ژن‌های MHC می‌تواند به‌عنوان شاخصی برای مقاومت به بیماری‌ها و سازگاری با تغییرات محیطی (مانند استرس‌های ناشی از آلودگی یا تغییر دما) در نظر گرفته شود. miRNAهای مانند dre-miR-101a، dre-miR-101b و dre-miR-2188-5p بالاترین امتیازها را برای *mhc1ze* دارند که نشان‌دهنده نقش تنظیمی قوی آنها است. ژن *mhc2dab* تحت تأثیر dre-miR-3906 با امتیاز بالا (۹۶/۲۶) قرار دارد که نشان‌دهنده مهار قوی این ژن در مسیرهای ایمنی تطبیقی است.

ژن C3 یکی از اجزای کلیدی سیستم کمپلمان است که نقش مهمی در ایمنی ذاتی ایفا می‌کند. پروتئین C3 از طریق مسیرهای کلاسیک، آلترناتیو، و لکتینی فعال شده و وظایف متعددی بر عهده دارد. این وظایف شامل اپسونیزاسیون (چسبیدن به سطح پاتوژن‌ها برای تسهیل فاگوسیتوز توسط ماکروفاژها و نوتروفیل‌ها)، تولید آنافیلاتوکسین‌هایی مانند C3a و C5a (که باعث جذب سلول‌های ایمنی و تقویت التهاب می‌شوند) و ایجاد کمپلکس حمله به غشا (MAC) برای لیز سلول‌های پاتوژن است. در ماهیان، این ژن به‌طور مستقیم در مقابله با عفونت‌های باکتریایی و انگلی نقش دارد (Najafpour *et al*., 2020). از آنجا که C3 در واکنش به تهدیدات محیطی به سرعت فعال می‌شود، می‌تواند به‌عنوان نشانگر زیستی برای سلامت ایمنی و تاثیر آلودگی‌های زیست‌محیطی استفاده شود. dre-miR-93 و dre-miR-128 با امتیازهای ۸۷/۱۷ و ۸۷/۱۴ نشان‌دهنده تأثیرات قوی بر این ژن هستند. این miRNAها می‌توانند در کنترل فرآیندهای کمپلمان و کاهش التهاب نقش مهمی ایفا کنند.

ژن‌های TLR3 (Toll-Like Receptor 3) و NLRX1 (NOD-Like Receptor X1) به‌عنوان گیرنده‌های شناسایی الگوی (PRRs) در ایمنی ذاتی عمل می‌کنند. TLR3 به RNA دو رشته‌ای ویروسی متصل می‌شود و باعث فعال شدن مسیرهای سیگنال‌دهی، از جمله تولید سایتوکاین‌های التهابی مانند اینترفرون‌های نوع I (IFN-I)، می‌شود که برای مقابله با عفونت‌های ویروسی ضروری هستند. NLRX1 یک گیرنده سیتوزولی است که در تنظیم پاسخ‌های التهابی و کاهش آسیب ناشی از واکنش‌های شدید ایمنی نقش دارد. این ژن با تنظیم مسیرهای NF-κB و تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) به حفظ تعادل در پاسخ‌های ایمنی کمک می‌کند. در ماهیان، این ژن‌ها نه تنها در شناسایی پاتوژن‌ها بلکه در جلوگیری از آسیب‌های ناشی از پاسخ‌های ایمنی بیش از حد (مانند التهاب مزمن) اهمیت دارند. Rebl و همکاران (۲۰۰۹) دریافتند که MyD88، یک پروتئین آداپتور که مستقیماً باTLR ها و آمیلوئید (SAA) A سرم در تعامل است در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، نشان‌دهنده درجه بالایی از حفظ ساختاری با ارتولوگ های پستانداران است. Wang و همکاران (a,b ۲۰۱۸) به شبیه‌سازی و تعیین ویژگی‌های cDNA تمام‌قد گیرنده TLR3 در ماهی سوف دریایی (*Lateolabrax japonicus*) پرداختند و بیان اختصاصی آن در بافت‌های مختلف را بررسی کردند. نتایج نشان داد که بیان این ژن در طحال، کلیه سر و کبد در سطوح بالایی قرار دارد. به‌طور مشابه، Wang و همکاران (۲۰۲۱) موفق به شناسایی ۱۶ گیرنده TLR در ماهی ماندارین (*Siniperca chuatsi*)

شدند و آنها را در پنج زیرخانواده طبقه‌بندی کردند. این گیرنده‌ها الگوی بیان بافتی ویژه‌ای نشان دادند و پس از تحریک با الگوهای مولکولی مرتبط با پاتوژن‌ها (PAMPs)، مانند پلی (I:C)، لیپوپلی‌ساکارید (LPS) و پپتیدوگلیکان (PGN)، به‌طور قابل‌توجهی تنظیم مثبت شدند. همچنین، Wu و همکاران (۲۰۲۱) ژن *TLR3* را در پومپانوی طلایی (*Trachinotus ovatus*) مورد تجزیه‌وتحلیل قرار داده و حفظ تکاملی و تغییرات قابل‌توجه آن را در بافت‌های مرتبط با ایمنی، پس از تحریک با پاتوژن‌های مختلف باکتریایی، شناسایی کردند. این مطالعه ویژگی‌های *TLR3* را در شناسایی الگوهای مولکولی مرتبط با پاتوژن‌ها (*PAMPs*) و باکتری‌ها نشان داد و بر نقش حیاتی آن در شناسایی پاتوژن‌ها تأکید کرد. یافته‌های بیوانفورماتیکی نشان می‌دهند کهmiRNAهای dre-miR-30e-3p و-dre-miR-723 5p با امتیازهای بالا (۸۴/۶۷ و ۸۳/۳۵) می‌توانند تأثیر به‌سزایی در تنظیم بیان این ژن داشته باشند. این نتایج نشان می‌دهند که تنظیم *tlr3* توسط این‌miRNAها می‌تواند نقش کلیدی در تعدیل پاسخ‌های ایمنی در برابر عفونت‌های ویروسی ایفا کند. dre-miR-142a-3p با امتیاز ۷۴/۲۴ به عنوان یک عامل تنظیمی با تأثیر متوسط بر ژن *tlr3* محسوب می‌شود. نتایج نشان داد که dre-miR-155 با امتیاز ۹۴/۸۱ قوی‌ترین تعامل را نشان داده که احتمالاً در تنظیم مسیر NF-κB و کاهش التهاب بیش از حد نقش دارد. سایرmiRNAها مانند dre-miR-2194 و-dre-miR-725نیز با امتیازهای نزدیک به ۹۰ تعاملات قابل‌توجهی دارند که می‌توانند نقش‌های کلیدی در تعادل بین ایمنی و استرس اکسیداتیو ایفا کنند. این miRNAها می‌توانند به عنوان عوامل تنظیمی در مسیرهای ایمنی در نظر گرفته شوند.

ژن CXCL12a، که یکی از کموکین‌های مهم محسوب می‌شود، نقش حیاتی در جذب و هدایت سلول‌های ایمنی به محل التهاب یا عفونت دارد. این ژن از طریق اتصال به گیرنده CXCR4 در سلول‌های ایمنی، باعث فعال شدن مسیرهای سیگنال‌دهی مرتبط با حرکت سلولی و مهاجرت لنفوسیت‌ها، ماکروفاژها و سلول‌های بنیادی می‌شود. علاوه بر نقش ایمنی، *CXCL12a* در بازسازی بافت‌ها و تنظیم فرآیندهای هموستاتیک نیز دخیل است. Gao و همکاران (۲۰۲۰) ژن‌های *CXCL12a* و *CXCL12b*را در تیلاپیا نیل (*Oreochromis niloticus*) شناسایی کرده و بیان گسترده و تنظیم متفاوت آنها را در مواجهه با چالش‌های باکتریایی و ویروسی نشان دادند. پروتئین‌های نوترکیب *CXCL12* موجب افزایش تولید اکسید نیتریک و بیان سایتوکاین‌ها شدند که این امر نشان‌دهنده نقش آنها در تعدیل پاسخ‌های ایمنی است. Qi و همکاران (۲۰۲۳) دوازده لیگاند کموتاکتیک *CXC* و هشت گیرنده کموتاکتیک *CXC*را در باس دهان‌گنده (*Micropterus salmoides*) شناسایی کردند. آنها دریافتند که پس از تحریک با *LPS* و پلی (I:C)، این مولکول‌ها در بافت‌های ایمنی به‌طور قابل‌توجهی بیان می‌شوند. Li و همکاران (۲۰۲۱) مطالعه‌ای مشابه را بر روی *Sebastes schlegelii* انجام دادند که نشان داد گسترش ژن‌های کموتاکتیک به‌دلیل تکرار ژنومی بوده و این ژن‌ها در پاسخ‌های ایمنی علیه عفونت *Aeromonas salmonicida* نقش دارند. Fu و همکاران (۲۰۲۲) کموتاکتیک‌ها را در توربوت (*Scophthalmus maximus*) بررسی کرده و کمترین تعداد کموتاکتیک‌های *CC* و *CXC* را در بین ماهیان استخوانی شناسایی کردند. مطالعه آنها بر تأثیر تکرارهای ژنومی و واگرایی تکاملی بر عملکرد کموتاکتیک‌ها تأکید داشت و نشان داد که بیان این ژن‌ها در پاسخ به عفونت باکتریایی به‌طور قابل‌توجهی افزایش می‌یابد. در ماهیان، این ژن می‌تواند در پاسخ به عفونت‌های موضعی، بهبود زخم‌ها و بازسازی آسیب‌های ناشی از تنش‌های محیطی یا آسیب‌های فیزیکی نقش کلیدی ایفا کند. dre-miR-740 با بالاترین امتیاز قوی‌ترین تعامل را نشان داده است. همچنین miRNAهای dre-miR-22b و-dre-miR-22aنیز امتیازهای بسیار بالا داشته و می‌توانند تنظیم‌کننده‌های مهمی در مسیرهای مهاجرت سلولی باشند. در حالی‌که miRNAهایی با امتیازهای پایین‌تر مانند-dre miR-365تأثیر کمتری دارند.

ژن *saa* که پروتئین فاز حاد را کد می‌کند، در واکنش به التهاب و عفونت توسط کبد تولید می‌شود. این پروتئین نقش‌های متعددی دارد، از جمله اتصال به لیپوپروتئین‌ها و پاتوژن‌ها برای تسهیل فاگوسیتوز، تنظیم پاسخ ایمنی و کاهش آسیب‌های ناشی از استرس اکسیداتیو. علاوه بر این، بیان ژن *saa* با مهار رشد باکتری‌ها و تنظیم التهاب به بهبود پاسخ ایمنی کمک می‌کند. Yu و همکاران (۲۰۱۷) سه ژن

SAA (CcSAA3a، CcSAA3b و CcSAA1) را در ماهی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) شناسایی کرده و به الگوهای بیان متمایز آنها در بافت‌های مختلف اشاره کردند. ژن *CcSAA3a* در تمامی بافت‌ها شناسایی شد، در حالی که *CcSAA3b* و *CcSAA1* به‌ترتیب در روده، کبد و پوست بیان شدند. عفونت با *Aeromonas hydrophila* موجب تنظیم قابل‌توجه این ژن‌ها شد، به‌ویژه *CcSAA3a* که فعالیت ضدباکتریایی قابل‌توجهی از خود نشان داد. به‌طور مشابهی، Castellano و همکاران (۲۰۲۰) *SAA* را به‌عنوان یک پروتئین فاز حاد (APP) مثبت کلیدی در ماهیان خاویاری روسی شناسایی کردند. نتایج آنها نشان داد که این ژن در پاسخ به چالش باکتریایی تنظیم مثبت شده و با بیان *saa* در کبد همبستگی دارد. همچنین، Lee و همکاران (۲۰۱۷) ژن‌های *SAA* و پروتئین واکنشی/ C (CRP) آمیلوئید P سرم (SAP) را در ماهی آزاد اقیانوس اطلس (*Salmo salar*) بررسی کردند. آنها پنج مولکول مشابه *CRP/SAP*را شناسایی کرده و دریافتند که *SAA-5* به‌عنوان یک *APP* اولیه در پاسخ به عفونت *Aeromonas salmonicida* القا می‌شود. در ماهیان، سطح بیان *SAA* در مواجهه با عوامل بیماری‌زا یا استرس‌های محیطی افزایش می‌یابد و می‌تواند به‌عنوان شاخصی برای پایش سلامت ایمنی در آبزی‌پروری مورد استفاده قرار گیرد. miRNAهای نظیر dre-miR-135a، dre-miR-135b و dre-miR-135cبا داشتن بالاترین امتیازها به‌عنوان تنظیم‌کننده‌های قوی این ژن شناسایی شدند. این نتایج بیانگر تأثیر بالقوه miRNAها در سرکوب التهاب و کنترل شرایط استرس‌زا در ماهی‌ها است.

ژن‌های (Immunoglobulin-Like Domain Receptor) ILDR به‌عنوان گیرنده‌های دخیل در یکپارچگی بافتی و تنظیم پاسخ‌های ایمنی شناخته می‌شوند *ILDR1a*و *ILDR1b* ممکن است در مسیرهای سیگنال‌دهی مرتبط با حفظ ساختار بافت‌ها و تنظیم التهاب نقش داشته باشند. *ILDR2* علاوه بر نقش در یکپارچگی بافت، به‌طور مستقیم در تنظیم مسیرهای التهابی و تقویت پاسخ ایمنی سلولی نقش دارد. این ژن‌ها احتمالاً در حفظ تعادل میان فرآیندهای ترمیم بافتی و پاسخ‌های التهابی مؤثر هستند. در ماهیان، بیانILDRها در شرایط عفونت، آسیب بافتی یا استرس محیطی افزایش می‌یابد و نقش بالقوه‌ای در مقابله با عوامل بیماری‌زا و ترمیم آسیب‌های فیزیکی دارد. نتایج بیوانفورماتیک نشان داد که dre-miR-101a و-dre miR-183با امتیازهای بالا نشان‌دهنده تنظیم قوی *ildr2* هستند. تعامل‌های miRNA با ژن *ildr1b* نشان داد که dre-miR-740و dre-miR-723-5p بیشترین تأثیر را دارند، در حالی‌که miRNAهایی مانند dre-miR-196a تأثیر کمتری دارند.

نتیجه‌گیری

در مجموع، نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که microRNA ها نقش مهمی در تنظیم بیان ژن‌های کلیدی مرتبط با پاسخ‌های ایمنی، التهاب و استرس اکسیداتیو در گورخرماهی ایفا می‌کنند. بنابراین شناساییmicroRNAهای مؤثر بر ژن‌هایی مانند *sat*، *nlrx1*،*tlr3* و *cxcl12a* نشان می‌دهد که این مولکول‌های کوچک می‌توانند به‌عنوان عوامل تنظیمی مهم در مسیرهای ایمنی ذاتی و سازشی عمل کنند. علاوه بر این، ارتباط microRNAها با ژن‌های سیستم مکمل و مجتمع سازگاری بافتی نشان‌دهنده نقش گسترده آنها در هماهنگی پاسخ‌های ایمنی است. یافته‌های این پژوهش، که با استفاده از ابزارهای بیوانفورماتیکی دقیق به‌دست آمده‌اند، زمینه‌ساز مطالعات آزمایشگاهی آتی برای درک بهتر مکانیسم‌های مولکولی مرتبط با ایمنی در آبزیان خواهند بود و می‌توانند در توسعه راهکارهای نوین در بهبود سلامت ماهیان و مدیریت بیماری‌های آنها مورد استفاده قرار گیرند.

منابع

Andreassen R., Høyheim B. 2017. miRNAs associated with immune response in teleost fish. *Developmental Comparative Immunology* 75, 77-85.

Badr A.A., Banaee M., Heidarieh M. 2022. Bioinformatics study of microRNAs effect on the expression of genes involved in the process of tissue repair and regeneration of zebrafish (*Danio rerio*). *Aquaculture Sciences* 10(2), 126-133.

Banaee M., Badr A.A. 2024. Bioinformatic evaluation of the impact of miRNAs on the expression of detoxification-related genes in Zebrafish (*Danio rerio*). *Journal of Aquatic Ecology* 14(1), 1-12.

Banaee M., Badr A.A., Vazirzadeh A. 2024. Bioinformatics study of the role of miRNAs in regulating the expression of genes involved in sexual maturity and reproduction in zebra fish (*Danio rerio*) . *Aquaculture Sciences* 12(1), 23-38.

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

Bela-ong D.B., Schyth B.D., Zou J., Secombes C.J., Lorenzen N. 2015. Involvement of two microRNAs in the early immune response to DNA vaccination against a fish rhabdovirus. *Vaccine* 33(28), 3215-3222.

Bhuyan M.S., Islam M.T., Haider S.M.B., Yacoubi L., Khan M., Ali M.M., Pandit D., Huda M.M., Akter S., Rabbi M.R.I.J.M.P.B. 2024. Assessment of heavy metals and proximate composition in jellyfish (*Lobonemoides robustus* Stiasny, 1920) collected from Cox's Bazar coast. *Human Health Risk Assessment* 207, 116899.

Castellano M., Silva-Álvarez V., Aversa-Marnai M., Lamas-Bervejillo M., Quartiani I., Perretta A., Villarino A., Ferreira A.M. 2020. Serum amyloid A is a positive acute phase protein in Russian sturgeon challenged with Aeromonas hydrophila. *Scientific Reports* 10, 22162.

Eslamloo K., Inkpen S.M., Rise M.L., Andreassen R. 2018. Discovery of microRNAs associated with the antiviral immune response of Atlantic cod macrophages. *Molecular Immunology* 93, 152-161.

Fu Q., Hu J., Zhang P., Li Y., Zhao S., Cao M., Yang N., Li C. 2022. CC and CXC chemokines in turbot (*Scophthalmus maximus* L.): identification, evolutionary analyses, and expression profiling after Aeromonas salmonicida infection. *Fish & Shellfish Immunology* 127, 82-98.

Gao A., Yan F., Zhou E., Wu L., Li L., Chen J., Lei Y., Ye J. 2020. Molecular characterization and expression analysis of chemokine (CXCL12) from Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish & Shellfish Immunology* 104, 314-323.

He Y., Ye G., Chi S., Tan B., Dong X., Yang Q., Liu H., Zhang S. 2020. Integrative transcriptomic and small RNA sequencing reveals immune-related miRNA–mRNA regulation network for soybean meal-induced enteritis in hybrid grouper, *Epinephelus fuscoguttatus*♀× *Epinephelus lanceolatus*. Frontiers in Immunology 11, 1502.

Kang H., Liang Q.-J., Hu R., Li Z.-H., Liu Y., Wang W.-N. 2019. Integrative mRNA-miRNA interaction analysis associated with the immune response of *Epinephelus coioddes* to *Vibrio alginolyticus* infection. *Fish Shellfish Immunology* 90, 404-412.

Lee P.-T., Bird S., Zou J., Martin S. 2017. Phylogeny and expression analysis of C-reactive protein (CRP) and serum amyloid-P (SAP) like genes reveal two distinct groups in fish. *Fish & Shellfish Immunology* 65, 42-51.

Li Y., Zhang P., Gao C., Cao M., Yang N., Li X., Li C., Fu Q. 2021. CXC chemokines and their receptors in black rockfish (*Sebastes schlegelii*): Characterization, evolution analyses, and expression pattern after Aeromonas salmonicida infection. *International Journal of Biological Macromolecules* 186, 109-124.

Najafpour B., Cardoso J.C., Canário A.V., Power D.M. 2020. Specific evolution and gene family expansion of complement 3 and regulatory factor H in fish. *Frontiers in Immunology* 11, 568631.

Qi Z., Xu Y., Dong B., Pi X., Zhang Q., Wang D., Wang Z. 2023. Molecular characterization, structural and expression analysis of twelve CXC chemokines and eight CXC chemokine receptors in largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *Developmental Comparative Immunology* 143, 104673.

Rebl A., Goldammer T., Fischer U., Köllner B., Seyfert H.-M. 2009. Characterization of two key molecules of teleost innate immunity from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): MyD88 and SAA. *Veterinary Immunology Immunopathology* 131(1-2), 122-126.

Wang K.L., Chen S.N., Huo H.J., Nie P. 2021. Identification and expression analysis of sixteen Toll-like receptor genes, TLR1, TLR2a, TLR2b, TLR3, TLR5M, TLR5S, TLR7− 9, TLR13a− c, TLR14, TLR21− 23 in mandarin fish Siniperca chuatsi. *Developmental Comparative Immunology* 121, 104100.

Wang M., Jiang S., Wu W., Yu F., Chang W., Li P., Wang K. 2018a. Non-coding RNAs function as immune regulators in teleost fish. *Frontiers in Immunology* 9, 2801.

Wang P., Zhao C., Wang C., Fan S., Yan L., Qiu L. 2018b. TLR3 gene in Japanese sea perch (*Lateolabrax japonicus*): Molecular cloning, characterization and expression analysis after bacterial infection. *Fish & Shellfish Immunology* 76, 347-354.

Wang Y., Wang Q., Li Y., Yin J., Ren Y., Shi C., Bergmann S.M., Zhu X., Zeng W. 2020. Integrated analysis of mRNA-miRNA expression in Tilapia infected with Tilapia lake virus (TiLV) and identifies primarily immuneresponse genes. *Fish & Shellfish Immunology* 99, 208-226.

Wu M., Zhu K-.C., Guo H.-Y., Guo L., Liu B., Jiang S.-G., Zhang D.-C. 2021. Characterization, expression and function analysis of the TLR3 gene in golden pompano (*Trachinotus ovatus*). *Developmental Comparative Immunology* 117, 103977.

Wu T.-H., Pan C.-Y., Lin M.-C., Hsieh J.-C., Hui C.-F., Chen J.-Y. 2012. In vivo screening of zebrafish microRNA responses to bacterial infection and their possible roles in regulating immune response genes after lipopolysaccharide stimulation. *Fish physiology and biochemistry* 38, 1299-1310

Yamaguchi T., Dijkstra J.M. 2019. Major histocompatibility complex (MHC) genes and disease resistance in fish. *Cells* 8, 378.

Yu J., Tang Y., Li J., Li H., Yu F., Yu W., He F., Fu C., Mao S. 2017. Cloning, expression analysis, and antibacterial propertiesof three serum amyloid A in common carp (*Cyprinus carpio*). *Fish & Shellfish Immunology* 65, 267-277.

Zhang Q.-L., Dong Z.-X., Luo Z.-W., Jiao Y.-J., Guo J., Deng X.-Y., Wang F., Chen J.-Y., Lin L.-B. 2019. MicroRNA profile of immune response in gills of zebrafish (Danio rerio) upon Staphylococcus aureus infection. *Fish & Shellfish Immunology* 87, 307-314.

Zhao L., Huang J., Li Y., Wu, S., Kang Y. 2023. Comprehensive analysis of immune parameters, mRNA and miRNA profiles, and immune genes expression in the gill of rainbow trout infected with infectious hematopoietic necrosis virus (IHNV). *Fish & Shellfish Immunology* 133, 108546.

Zhao L., Huang J., Wu S., Li Y., Pan Y. 2022. Integrative analysis of miRNA and mRNA expression associated with the immune response in the intestine of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) infected with infectious hematopoietic necrosis virus. *Fish& Shellfish Immunology* 131, 54-66.

Journal of Aquaculture Sciences Vol. 12, No 23, 91-105
Print ISSN: 2322-5351
www.aquaculturesciences.ir

Bioinformatics assessment of the role of MicroRNAs in regulating the expression of genes involved in the immune system of zebrafish (*Danio rerio*)

Mahdi Banaee*[1], Reza Shakeri[2]

[1]Department of Aquaculture, Faculty of Natural Resources, Behbahan Khatam Alanbia University of Technology, Behbahan, Iran.
[2]Department of Environment, Faculty of Natural Resources, Behbahan Khatam Alanbia University of Technology, Behbahan, Iran.

*Corresponding author: mahdibanaee2@gmail.com
Received: 9.Jan.2025 **Accepted: 16.Feb.2025**

Abstract
This study investigated the role of microRNAs in regulating the expression of genes involved in the immune system of zebrafish through bioinformatics analysis. To achieve this, gene profiles related to the immune system of teleost fish were extracted from the NCBI website, and microRNAs targeting these genes were identified using the TargetScan and miRmap tools. The results revealed that genes such as *tlr3*, *nlrx1*, *saa*, *cxcl12a*, *C3*, *mhc1ze*, and *mhc2dab* play a crucial role in immune responses, inflammation, and oxidative stress. Notably, microRNAs dre-miR-30e-3p and dre-miR-723-5p, with scores exceeding 80, effectively regulated the *tlr3* gene, which is essential for recognizing double-stranded RNA and activating innate immune responses. Additionally, dre-miR-155, dre-miR-2194, and dre-miR-2185-5p, were identified as key regulators of the nlrx1 gene, which is pivotal in immune pathways and oxidative stress. The expression of the *saa* gene, which is involved in inflammatory responses and immune regulation, is regulated by dre-miR-135c, dre-miR-135b, and dre-miR-135a. Similarly, the *cxcl12a* gene, which encodes the chemokine SDF-1 and plays a role in immune cell migration, is regulated by dre-miR-740, dre-miR-22b, and dre-miR-22a. Furthermore, complement system genes such as *C3* are influenced by dre-miR-93 and dre-miR-128. The major histocompatibility complex genes mhc1ze and mhc2dab are strongly regulated by microRNAs such as dre-miR-101a, dre-miR-3906, and dre-miR-740. These findings, supported by comprehensive bioinformatics analyses, provide valuable insights into the role of microRNAs in regulating the zebrafish immune system and serve as a foundation for future experimental studies in this field.

Keywords: microRNAs, Immune system, Gene expression regulation, mRNA-miRNA interaction analysis, Zebrafish