

مقایسه پیش‌بینی ژن هدف میکروRNAهای مرتبه با بیماری آلزایمر با ابزارهای بیوانفورماتیکی آنلاین

مریم کرائی^۱، شمس الدین احمدی^{*۲}

۰ دریافت مقاله: ۹۹/۲/۲۷ • ۰ پذیرش مقاله: ۹۹/۵/۲۰

مقدمه: پیش‌بینی میکروRNAهای مرتبه با ژن‌های هدف با استفاده از ابزارهای بیوانفورماتیکی، موجب صرفه‌جویی در وقت و هزینه‌های بررسی آزمایشگاهی می‌شود. در این مطالعه، پیش‌بینی ژن‌های هدف میکروRNAهای مرتبه با بیماری آلزایمر توسط ابزارهای بیوانفورماتیکی مختلف با داده‌های تجربی گزارش شده مقایسه شد.

روش: ۴۱ میکروRNA که بر اساس نتایج آزمایشگاهی گزارش شده در مقالات موجب تعییر در بیان ۲۱ ژن اصلی دخیل در بیماری آلزایمر شده بودند، انتخاب گردید. سپس پیش‌بینی ژن هدف برای هر میکروRNA به وسیله سه ابزار بیوانفورماتیکی شامل Diana-microT و TargetScan MirTarget شده و نتایج به دست آمده برای هر سه ابزار با توجه به ژن‌های هدف گزارش شده برای آن‌ها با یکدیگر مقایسه گردید.

نتایج: در بررسی ۴۱ میکروRNA گزارش شده برای ۲۱ ژن دخیل در بیماری آلزایمر، ابزار MirTarget در ۶۶ درصد، TargetScan در ۶۱ درصد و Diana-microT در ۲۷ درصد از موارد اتصال میکروRNAهای مورد نظر را به ژن هدف، تأیید نمود؛ اما اتصال ۲۲ درصد از میکروRNAها به ژن‌های هدف، توسط هیچ کدام از ابزارها تأیید نشد.

نتیجه‌گیری: ابزارهای TargetScan MirTarget نسبت به Diana-microT در پیش‌بینی ژن هدف میکروRNAهای دخیل در بیماری آلزایمر توانایی بالاتری دارند. با توجه به الگوریتم به کار گرفته شده در MirTarget، این ابزار بیوانفورماتیکی در پیش‌بینی ژن‌های هدف میکروRNAها نتایج عملکردی و واقعی‌تری را ارائه می‌کند و به عنوان یک نرم‌افزار کاربردی در پیش‌بینی اهداف میکروRNAها توصیه می‌شود. همچنین می‌توان نتیجه‌گیری نمود که تعییرات بیان ژن گزارش شده با واسطه میکروRNAها در بیماری آلزایمر، در مواردی نیاز به بررسی بیشتر دارند.

کلید واژه‌ها: میکروRNA، بیوانفورماتیک، پیش‌بینی ژن هدف، بیماری آلزایمر

ارجاع: کرائی مریم، احمدی شمس الدین. مقایسه پیش‌بینی ژن هدف میکروRNAهای مرتبه با بیماری آلزایمر با ابزارهای بیوانفورماتیکی آنلاین. مجله انفورماتیک سلامت و زیست پژوهشی ۱۳۹۹، ۷(۴): ۳۷۶-۳۹۶.

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد سلوی و مولکولی، گروه علوم زیستی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران
۲. دانشیار رشته فیزیولوژی، گروه علوم زیستی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران

***نویسنده مسئول:** شمس الدین احمدی

آدرس: سنندج، بلوار پاسداران، دانشگاه کردستان، دانشکده علوم پایه، گروه علوم زیستی

شماره تماس: ۰۷۵-۳۳۶۶۰۰۷۵

Email: sh.ahmadi@uok.ac.ir

مقدمه

و پروتئین تاثو عمل می‌کنند و افزایش اطلاعات مولکولی در مورد نقش و نوع RNAهای غیرکدکننده دخیل در بیماری آلزایمر، در تشخیص زودهنگام، کنترل پیشرفت و درمان آن از اهمیت بالای برخوردار است [۸-۱۰].

میکروRNAها گروهی از RNAهای غیرکدکننده کوچک هستند که ۱۹ تا ۲۳ نوکلئوتید طول دارند. میکروRNAها اگر چه به پروتئین ترجمه نمی‌شوند؛ اما در تنظیم بیان ژن‌ها در سطح پس از رونویسی نقش مهمی دارند. اتصال میکروRNA به mRNA هدف، از طریق چندین مکانیسم موجب کاهش سطح mRNA هدف می‌شود که شامل القای د-adenylation) (D-adenylation) یا حذف نوکلئوتیدهای آدنین در انتهای mRNA، کاهش پایداری mRNA و افزایش میزان تجزیه آن می‌گردد. میکروRNAها همچنین موجب مهار مراحل آغاز و طویل‌سازی ترجمه می‌شوند و به طور کلی با این عملکردها از ساخته شدن پروتئین حاصل از ژن هدف جلوگیری می‌کنند [۱۱، ۱۲]. به دلیل پتانسیل میکروRNAها در هدف قرار دادن تعداد زیادی از mRNAها، این دسته از اولیگونوکلئوتیدها به عنوان تنظیم‌کننده‌های اصلی تعداد زیادی از فرآیندهای زیستی شامل تکوین جنینی، تمایز، تکثیر، مهاجرت سلولی و آپوپتوز شناخته شده‌اند [۱۳، ۱۴]. بر اساس شواهد و مطالعات انجام شده در دو دهه اخیر، اختلال در کارکرد میکروRNAها با ایجاد و پیشرفت بسیاری از بیماری‌ها از جمله بیماری‌های تحلیل برنده عصبی در ارتباط است [۱۵، ۱۶]. نتایج مطالعات زیادی نشان داده‌اند که میکروRNAها نقش حیاتی را در بیماری‌زایی بیماری آلزایمر ایفا می‌کنند و علاوه بر نقش مستقیمی که در کنترل بیان ژن‌های دخیل در بیماری آلزایمر دارند، می‌توانند از طریق تعامل با RNAهای غیرکدکننده طویل نیز در شروع و پیشرفت بیماری آلزایمر نقش اساسی داشته باشند [۸]. بر اساس نتایج مطالعات تحریکی، میکروRNAها در تنظیم تولید مولکول‌های مختلف که عوامل اصلی ایجاد و پیشرفت بیماری آلزایمر به شمار می‌آیند، شامل β-Site Amyloid Precursor Protein Cleaving Enzyme APP، آنزیم بتا سکرتاز (APP)، BACE1 و آمیلوئید بتا نتشیان میکروRNAها در مکانیسم‌های پاکسازی آمیلوئید بتا و نیز فسفریلاسیون پروتئین تاثو تأثیر دارند [۱۷، ۱۸]؛ بنابراین دانشمندان معتقدند که شناسایی میکروRNAهای مرتبه با ژن‌های اصلی دخیل در ایجاد و پیشرفت بیماری آلزایمر از اهمیت زیادی برخوردار است، اما با توجه به تعداد زیاد میکروRNAهای شناسایی شده

بیماری آلزایمر یک بیماری تحلیل برنده عصبی غیرقابل برگشت است که اصلی‌ترین عامل دماسن یا زوال عقل در جمعیت افراد مسن جهان به شمار می‌آید. این بیماری با از دست رفتن پیشرونده حافظه و تحلیل رفتن توانایی‌های ذهنی فرد مبتلا مشخص می‌شود و در نهایت منجر به عدم توانایی فرد مبتلا در انجام کارهای روزمره خود می‌شود. با توجه به افزایش جمعیت سالمند در تمام دنیا، شناسایی عوامل ایجاد و یا مؤثر در پیشرفت بیماری آلزایمر در راستای دستیابی به روش‌های کنترلی و درمانی مؤثرتر این بیماری برای نظام سلامت هر کشوری از نظر اجتماعی و اقتصادی از اهمیت بالایی برخوردار است [۱]. از مهم‌ترین عوامل ایجاد بیماری آلزایمر، دو پروتئین به نام‌های آمیلوئید بتا (Amyloid beta) Aβ و پروتئین تاثو (Tau Protein) Tau هستند. این دو پروتئین به ترتیب با تشکیل پلاک‌های آمیلوئیدی در محیط خارج سلولی و کلاف‌های در هم پیچیده داخل نورونی در بیماری‌زایی بیماری آلزایمر نقش عمده‌ای دارند [۲-۴]. آمیلوئید بتا از شکسته شدن یک پروتئین پیش‌ساز به نام پروتئین (Amyloid precursor protein) APP به وجود می‌آید که تولید زیاد آن نیز موجب تشکیل و رسوب پلاک‌های آمیلوئیدی در فضای خارج سلولی نورون‌ها می‌شود [۵]. لازم به ذکر است که پیتید آمیلوئید بتا دارای عملکردهای فیزیولوژیکی نیز در مغز هست؛ اما تولید پیش‌ازحد و یا عدم پاکسازی به موقع آن از مغز، موجب تجمع این پروتئین و تولید پلاک‌های آمیلوئیدی می‌شود که برای فعالیت نورون‌ها مضر بوده و اختلال سیناپسی و مرگ نورونی را به دنبال دارد [۲]. پروتئین تاثو نیز در بیماران آلزایمری دچار هایپرسفوریلاسیون می‌شود و تجمعات نامحلولی به نام رشته‌های مارپیچی جفت و در نهایت کلاف‌های در هم پیچیده داخل نورونی را تشکیل می‌دهد. در نتیجه تغییرات ایجاد شده در تاثو، ساختار میکروتوبول‌ها و به دنبال آن اسکلت سلولی نورون به ویژه در آکسون و دندریت‌ها تخریب می‌شود و در نهایت ساختار سیناپس‌ها و انتقال پیام بین نورون‌ها دچار آسیب جدی خواهد شد [۲]. همچنین بین آمیلوئید بتا و تاثو در بیماری‌زایی بیماری آلزایمر ارتباط متقابلی وجود دارد و افزایش یکی از آن‌ها موجب تشدید تولید دیگری می‌گردد [۳، ۷]. تحقیقات انجام شده در سال‌های اخیر نشان داده‌اند که عوامل متعددی از جمله تغییرات در بیان RNAهای غیرکدکننده به عنوان یکی از عوامل اصلی در تغییرات بیان APP، آمیلوئید بتا

مقایسه شد. هدف از این تحقیق ارزیابی قدرت و صحت پیش‌بینی ژن‌های هدف میکروRNAها با این ابزارهای بیوانفورماتیکی و شناسایی بهترین ابزارها برای پیش‌بینی میکروRNAهای مرتبط با ژن‌های دخیل در بیماری آلزایمر است. از طرف دیگر نتایج حاصل از این تحقیق می‌تواند صحت گزارش‌های موجود در مورد میکروRNAهای مرتبط با ژن‌های دخیل در بیماری آلزایمر را نیز اعتبارسنجی نماید.

روش

استخراج میکروRNAها و ژن‌های هدف آن‌ها در بیماری آلزایمر بر اساس گزارش‌های تجربی منتشر شده

بر اساس شواهد موجود، میکروRNAها در بیماری‌زایی آلزایمر نقش مهمی را ایفا می‌کنند [۲۰]. تأثیر میکروRNAها در مراحل مختلف و کلیدی مؤثر در القاء و پیشرفت بیماری آلزایمر مانند تأثیر بر بیان APP و دیگر مولکول‌های تأثیرگذار بر تولید آمیلوئید بتا تا حد زیادی به اثبات رسیده است. همچنین میکروRNAها بر پاکسازی و حذف آمیلوئید بتا و نیز بر فسفویلاسیون پروتئین تاثیر می‌گذارند؛ اما نوع دقیق میکروRNAهای مؤثر در هر یک از این مراحل نیز به مطالعه و آزمایش‌های بیشتری نیاز دارد [۱۷]. در این مطالعه نظری در مرحله اول با بررسی مقالات منتشر شده و بر اساس گزارش‌های موجود در نتایج مطالعات آزمایشگاهی در مورد مکانیسم‌های مولکولی مرتبط با بیماری آلزایمر، ۴۱ میکروRNA مرتبط با ۲۱ ژن اصلی دخیل در بیماری آلزایمر انتخاب گردید. در جدول ۱ به طور خلاصه مهم‌ترین ژن‌های دخیل در بیماری آلزایمر و میکروRNAهای اصلی مرتبط با آن‌ها و نقش و عملکرد آن‌ها در مراحل مختلف بیماری آلزایمر شامل تولید و انباست آمیلوئید بتا، پاکسازی آمیلوئید بتا، سُمیت عصبی و اختلال سیناپسی و دیگر مراحل بیماری‌زایی بیماری بر اساس گزارش‌های موجود در مقالات علمی آورده شده است. لازم به ذکر است که در سال‌های اخیر رشد چاپ مقالات علمی در این زمینه افزایش چشمگیری داشته و این موارد به عنوان نمونه‌ای از میکروRNAهای مرتبط با ژن‌های اصلی دخیل در بیماری آلزایمر به شمار می‌روند و ممکن است تمامی موارد منتشر شده در مقالات علمی را شامل نشوند.

هنوز در مورد نحوه دخالت میکروRNAها و نیز انواع با اثرگذاری بیشتر در بیماری آلزایمر اطلاعات کاملی وجود ندارد. خانواده ژنی میکروRNAها یکی از بزرگ‌ترین خانواده‌های ژنی در یوکاریوت‌ها هستند. با توجه به دانش رو به رشد در مورد میکروRNAها و معرفی توالی‌های آن‌ها، پایگاه‌های متعددی حاوی توالی‌های میکروRNAها راهاندازی شده است که یکی از مهم‌ترین آن‌ها داده پایگاه miRBase است. براساس گزارش منتشر شده در نسخه اکتبر سال ۲۰۱۸ تعداد ۳۸۵۸۹ میکروRNA در این داده پایگاه، شناسایی شده‌اند که هر کدام از آن‌ها پتانسیل اتصال به صدها رونوشت از ژن‌های مختلف را دارند [۱۸]. هم‌زمان با شناسایی و کشف میکروRNAها، روش‌های محاسباتی نیز توسعه پیدا کرده‌اند و ابزارهایی برای فهم عملکرد میکروRNAها و پیش‌بینی جفت شدن میکروRNAها با ژن‌های هدف معرفی شده‌اند [۱۹]. در حال حاضر محققان به روش‌هایی روی آوردگارند که بتوانند ژن‌های هدف میکروRNAها و یا بر عکس، میکروRNAهای متصل شونده به ژن‌های خاص را قبل از انجام آزمایش‌های تجربی و صرف زمان و هزینه زیاد، به دقت شناسایی کنند. این روش‌ها می‌توانند موجب تسريع در درک هر چه بهتر عملکرد میکروRNAها در روندهای زیستی و در نتیجه پیش‌بینی اثرات آن‌ها نیز گردد. بر همین اساس، محققین در ابتدا به کمک ابزارهای بیوانفورماتیکی برهمکنش احتمالی ژن‌ها و میکروRNAها را پیش‌بینی نمود و پس از آن به دنبال تأیید تجربی این برهمکنش‌ها و اثبات نقش عملکردی آن‌ها در نمونه‌های زیستی خواهند بود [۱۹]. در این مطالعه در ابتدا قصد با بررسی نتایج منتشر شده مطالعات قبلی آزمایشگاهی، مهم‌ترین ژن‌ها و میکروRNAهای مرتبط با آن‌ها که در بیماری آلزایمر گزارش شده‌اند مشخص خواهد شد. سپس قدرت پیش‌بینی ژن‌های هدف این میکروRNAها با استفاده از ابزار بیوانفورماتیکی جدیدی به نام MirTarget که در سال ۲۰۱۹ به عنوان جدیدترین و بهترین مدل در شناسایی عملکردی ژن‌های هدف معرفی شده است و نیز با دو نرمافزار قدیمی‌تر پیش‌بینی ژن‌های هدف میکروRNAها شامل TargetScan که معمول‌ترین نرمافزار برخط مورد استفاده در پیش‌بینی ژن هدف میکروRNA به شمار می‌رود و Diana-microT که در میان ابزارهای پیش‌بینی ژن هدف بالاتر از متوسط قرار دارد، بررسی کرده و نتایج حاصل از آن‌ها با هم

جدول ۱: نام و نقش ژن‌های اصلی دخیل در بیماری‌زایی بیماری آلزایمر و میکروRNAهای گزارش شده برای این ژن‌ها

ردیف	نام ژن	نام میکروRNAهای مرتبه	نقش پروتئین حاصل از ژن هدف در بیماری آلزایمر
۱	APP	miR-200-b, miR-106a, miR-106b, miR-520c, miR-20a, miR-17-5p, miR-153, miR-16, miR-101	بیان بیش از حد پروتئین پیش‌ساز آمیلوئید بتا باعث تولید بیشتر آمیلوئید بتا شده و این فرایند منجر به سمتی عصبی و اختلال سیناپسی و نهایتاً زوال عقل می‌گردد [۲۱].
۲	BACE1	miR-339-5p, miR-29a/b, miR-29c, miR-107, miR-298, miR-328, miR-195, miR-124, miR-135a, miR-135b, miR-186	از زیم حاصل از این ژن موجب شکستن APP و تولید آمیلوئید بتا می‌شود. فرایند شکسته شدن APP اولین مرحله و مرحله محدود کننده در تشکیل آمیلوئید بتا است. بنابراین افزایش بیان BACE1، تجمع آمیلوئید بتا را افزایش می‌دهد و به تدریج باعث بروز بیماری آلزایمر می‌شود [۲۲].
۳	Tau	miR-132	تاثو یک پروتئین مرتبه با میکروتوبول است که در بیماران آلزایمری به شکل غیرطبیعی و بیش از حد فسفویله می‌شود که این حالت موجب عدم تشکیل طبیعی میکروتوبول‌ها و اختلال در شکل زوائد عصبی از جمله آکسون و در نتیجه اختلال در مذاقیت پیام‌های عصبی می‌شود [۲۳].
۴	Fyn	miR-106-b	حذف آن باعث کاهش فسفویلاسیون تأثو می‌شود. بنابراین غیرفعال سازی و حذف آن به عنوان یک راه کار درمانی برای درمان بیماری آلزایمر پیشنهاد شده است [۲۴].
۵	PTPN1	miR-124	در اختلال سیناپسی نقش دارد. سرکوب PTPN1 به طور چشمگیری باعث اختلالات سیناپسی و کاهش حافظه می‌شود. آزمایش‌های نشان داده است که حذف آن در موش باعث ایجاد فوتیپ شبه آلزایمری می‌شود [۲۵].
۶	ITPKB	miR-132	در تجمع و اباحت آمیلوئید بتا نقش دارد ITPKB باعث فعال شدن آنزیم BACE1 می‌شود و افزایش آن باعث افزایش فعالیت BACE1 و در نتیجه باعث القای بیماری آلزایمر می‌شود [۲۶].
۷	Sirt1	miR-132	با داشتیله کردن اهداف پروتئینی مختلف، اثر محافظتی در برابر بیماری آلزایمر دارد. بیان بیش از حد باعث کاهش تولید A β و پلاک‌های آمیلوئیدی می‌شود در حالی که حذف SIRT1 سطح A β را افزایش می‌دهد. SIRT1 علاوه بر کاهش پلاک‌های A β ، قادر است سطح تأثو می‌شده را از طریق داشتیله شدن تنظیم کند؛ بنابراین افزایش فعالیت SIRT1 ممکن است برای بررسی راه‌های درمانی این بیماری مهم باشد [۲۷].
۸	NOS1	miR-132	در مسیر فسفویلاسیون تأثو درگیر است. افزایش آن باعث افزایش هایپر فسفویلاسیون تأثو شده و بدین ترتیب در بروز بیماری آلزایمر نقش یافا می‌کند [۲۸].
۹	PTEN	miR-132, miR-212	در سمتی عصبی آمیلوئید بتا نقش دارد و مهار آن می‌تواند با سمتی عصبی ناشی از آمیلوئید بتا مقابله کند [۲۹].
۱۰	FOXO3	miR-132, miR-212	در سمتی عصبی آمیلوئید بتا نقش دارد. با غیرفعال کردن مسیر NF-kB از طریق هدف قرار دادن TNFAIP1، سمتی عصبی ناشی از آمیلوئید بتا کاهش می‌اید. فعال‌سازی مسیر NF-kB به تخریب نورون‌ها در AD کم می‌کند. بنابراین، مهار مسیر NF-kB ممکن است در درمان بیماران آلزایمر مؤثر باشد [۳۰].
۱۱	TNFAIP1	miR-137	BNF به عنوان یک نوروتروفین برای جنبه‌های مختلف عصبی از جمله بقا سلولی و انعطاف‌پذیری سیناپسی در سیستم عصبی مرکزی (CNS) ضروری است و باعث افزایش تمایز و پهلو بقای بافت‌های عصبی می‌شود و تعییر در بیان BDNF در زیرگروه‌های عصبی خاص ممکن است به آلزایمر منجر شود [۳۱].
۱۲	BDNF	miR-10a	تریرق A β 42 در رت باعث از دست رفتن حافظه و یادگیری می‌شود؛ اما تریرق Rb1 می‌تواند این فرایند را معکوس کند و موجب پهلوی شود. همچنین Rb1 می‌تواند عملکردهای شناختی و حافظه را با مهار سطوح میانجی‌گرهای پیش‌آبوقتوزی در مغز رت بهلوی بشود [۳۲].
۱۳	Rb1	miR-26b	افزایش بیش از حد آن باعث کاهش عملکردهای سیناپسی و شناختی در موش می‌شود [۳۳].
۱۴	UCHL1	miR-922	در فسفویلاسیون تأثو نقش دارد و مهار آن باعث افزایش هایپر فسفویلاسیون تأثو می‌شود [۳۴].
۱۵	RARA	miR-138	در افزایش مقدار A β 40، A β 42 و ژن‌های دیگر دخیل در بیماری آلزایمر نقش دارد [۳۵].
۱۶	SNX6	miR-98-5p	در هایپر فسفویلاسیون پروتئین تأثو نقش دارد. مهار آن باعث کاهش فسفویلاسیون غیرطبیعی تأثو می‌شود [۳۶].
۱۷	ROCK1	miR-146a	در اختلال سیناپسی نقش دارد. از آنجا که VAMP2 به شدت در همچویی وزیکول سیناپسی نقش دارد، تعییر در سطح بیان آن ممکن است باعث تعییر در انتقال دهنده‌های عصبی شود. میزان VAMP2 در بیماران آلزایمر کاهش می‌اید [۳۷].
۱۸	VAMP2	miR-34C	موجب بهمود شرایط بیماری در موش‌های مدل آلزایمری می‌شود و کاهش آن در نورون‌ها باعث کاهش ترشح SPM و فاگوستیتوز غیرطبیعی مشابه با شرایط بیماری آلزایمر می‌شود [۳۸].
۱۹	SPHK1	miR-125b	بیان بیش از حد آن در بیماران آلزایمری با استرس اکسیدانتیو و از کارافتادگی میتوکندریایی در ارتباط است [۳۹].
۲۰	VAV1	miR-330	در پاکسازی آمیلوئید بتا نقش دارد؛ بنابراین افزایش بیان آن باعث کاهش تجمع آمیلوئید بتا می‌شود [۴۰].
۲۱	ApoE	miR-1908	APP: amyloid precursor protein / BACE1: β -site amyloid precursor protein cleaving enzyme / Fyn: Src family tyrosine kinase / PTPN1: protein tyrosine phosphatase non-receptor type 1 / ITPKB: inositol-trisphosphate 3-kinase B / Sirt1: sirtuin 1 / NSO1: nitric oxide synthase1 / PTEN: phosphatase and tensin homolog / FOXO3: forkhead box O3 / TNFAIP1: TNF alpha induced protein 1 / BDNF: Brain-derived neurotrophic factor / Rb1: RB transcriptional corepressor 1 / UCHL1: ubiquitin C-terminal hydrolase L1 / RARA: retinoic acid receptor alpha / SNX6: sorting nexin 6 / ROCK1: Rho associated coiled-coil containing protein kinase 1 / VAMP2: vesicle associated membrane protein 2 / SPHK1: sphingosine kinase 1 / VAV: vav guanine nucleotide exchange factor 1 / ApoE: apolipoprotein E

وجود خواهد داشت. همچنین در مواردی که یک داده پایگاه و ابزار بیوانفورماتیکی آن قادر به پیش‌بینی جفت شدن میکروRNA و رونوشت ژن موردنظر نبود، نمره صفر به عنوان کمترین عدد ممکن برای اتصال آن میکروRNA به ژن هدف در نظر گرفته شد.

نتایج

عدم پیش‌بینی اتصال تعدادی از میکروRNAها به ژن‌های هدف مرتبط با بیماری آلزایمر توسط نرم‌افزارهای بیوانفورماتیکی

بر اساس بررسی‌های انجام شده، از تعداد ۴۱ میکروRNA مورد بررسی در این تحقیق، اتصال ۱۱ مورد از آن‌ها به ژن‌های هدف گزارش شده در مطالعات آزمایشگاهی توسط هیچ‌کدام از نرم‌افزارهای برخط مورد استفاده شامل Diana-microT، MirTarget و TargetScan تأیید نشد. نوع این میکروRNAها و ژن‌های هدف مربوط به هریک از آن‌ها در جدول ۲ خلاصه شده است.

بررسی اتصال میکروRNAهای موردنظر به ژن‌های هدف با استفاده از سه ابزار بیوانفورماتیکی برخط
پس از تهیه لیستی از ژن‌ها و میکروRNAهای مرتبط با RNA بیماری آلزایمر، در مرحله بعد قابلیت اتصال هر میکروRNA معرفی شده برای هر ژن که در نتایج تحقیقات آزمایشگاهی معرفی شده بود، توسط سه نرم‌افزار برخط پیش‌بینی ژن هدف میکروRNAها شامل داده پایگاهها و نرم‌افزارهای برخط MirTarget که از ابزار بیوانفورماتیکی جدید Diana-microT و TargetScan استفاده می‌کند، ارزیابی و مقایسه قرار گرفت. در هر نرم‌افزار پس از بررسی امکان اتصال هر میکروRNA به هر ژن، نمره‌ای از صفر تا ۱۰۰ توسط الگوریتم نرم‌افزار به اتصال آن میکروRNA به ژن هدف مورد نظر اختصاص داده می‌شود. هر چه این نمره به ۱۰۰ نزدیک‌تر باشد نشان دهنده این است که به احتمال زیاد آن میکروRNA به رونوشت ژن مورد نظر متصل خواهد شد و پیش‌بینی انجام شده به واقعیت نزدیک‌تر است و در نتیجه امکان تنظیم بیان آن ژن به وسیله آن میکروRNA خاص

جدول ۲: میکروRNAهای با عدم پیش‌بینی اتصال به رونوشت ژن‌های هدف مرتبط با بیماری آلزایمر توسط نرم‌افزارهای بیوانفورماتیکی

MirTarget	نمره	TargetScan	نمره	Diana-microT	نمره	ژن هدف	نوع میکروRNA	ردیف
.	APP	miR-200-b	۱
.	BACE1	miR-186	۲
.	Tau	miR-132	۳
.	ITPKB	miR-132	۴
.	NSO1	miR-132	۵
.	PTEN	miR-132	۶
.	PTEN	miR-212	۷
.	TNFAIP1	miR-137	۸
.	ROCK1	miR-146a	۹
.	SPHK1	miR-125b	۱۰
.	VAV1	miR-330	۱۱

میکروRNA را به رونوشت ژن‌های هدف پیش‌بینی نمود که دو نرم‌افزار دیگر قادر به پیش‌بینی آن‌ها نبودند. نرم‌افزار TargetScan اتصال دو میکروRNA را به ژن‌های هدف گزارش شده، پیش‌بینی نمود که دو نرم‌افزار دیگر توانستند آن‌ها را پیش‌بینی کنند. اما نرم‌افزار Diana-microT نتوانست اتصال هیچ میکروRNAی را از میان ۴۱ مورد بررسی شده پیش‌بینی نماید که توسط دو نرم‌افزار دیگر پیش‌بینی نشده باشند.

میکروRNAهای با قابلیت پیش‌بینی اتصال به ژن‌های هدف مرتبط با بیماری آلزایمر توسط یکی از نرم‌افزارهای بیوانفورماتیکی
نتایج اتصال ۴۱ میکروRNA گزارش شده برای ۲۱ ژن مرتبط با بیماری آلزایمر که فقط توسط یکی از سه ابزار بیوانفورماتیکی شامل TargetScan، MirTarget و Diana-microT پیش‌بینی شد، در جدول ۳ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که ابزار MirTarget اتصال چهار

جدول ۳: میکروRNAهای با پیش‌بینی اتصال به رونوشت ژن‌های هدف مرتبه با بیماری آلزایمر توسط یکی از نرم‌افزارهای بیوانفورماتیکی

MirTarget	نمره	Target-Scan	نمره	Diana-microT	نمره	ژن هدف	نوع میکروRNA	ردیف
.	۹۰	<i>ApoE</i>	miR-1908	۱
.	۸۸	<i>Fyn</i>	miR-106b	۲
۷۶	<i>BACE1</i>	miR-298	۳
۷۶	<i>BACE1</i>	miR-328	۴
۶۰	<i>BACE1</i>	miR-107	۵
۵۰	<i>SNX6</i>	miR-98-5p	۶

میکروRNAهای با قابلیت پیش‌بینی اتصال به ژن‌های هدف مرتبه با بیماری آلزایمر، حداقل توسط دو نرم‌افزار Diana-microT و TargetScan به نمره بالای تأیید شد. همچنین قابلیت اتصال miR-132 به ژن Sirt1 به طور مشترک توسط نرم‌افزارهای Diana-microT و TargetScan با نمره تقریباً بالای قابل پیش‌بینی بود؛ اما نرم‌افزارهای MirTarget و TargetScan MirTarget توانستند به طور مشترک اتصال ۱۳ مورد از ۴۱ میکروRNA مورد بررسی را به ژن‌های هدف پیش‌بینی نمایند (جدول ۴). لازم به ذکر است که میانگین نمره‌دهی TargetScan در پیش‌بینی اتصال این ۱۳ میکروRNA حدود ۸۹ بود؛ اما میانگین نمره‌دهی MirTarget حدود ۷۹ به دست آمد.

میکروRNAهای با قابلیت پیش‌بینی اتصال به ژن‌های هدف مرتبه با بیماری آلزایمر، حداقل توسط دو نرم‌افزار بیوانفورماتیکی

از میان ۴۱ میکروRNA گزارش شده برای ۲۱ ژن مرتبه با بیماری آلزایمر، ژن هدف تعدادی از آن‌ها حداقل توسط دو تا از TargetScan، MirTarget و Diana-microT قابل پیش‌بینی و نمره‌دهی بود که در جدول ۴ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که قابلیت اتصال BDNF miR-10a که بر اساس گزارش‌های موجود به ژن BDNF متصل می‌شود، توسط هر دوی نرم‌افزارهای

جدول ۴: میکروRNAهای با پیش‌بینی اتصال به رونوشت ژن‌های هدف مرتبه با بیماری آلزایمر توسط حداقل دو نرم‌افزار بیوانفورماتیکی

MirTarget	نمره	Target-Scan	نمره	Diana-microT	نمره	ژن هدف	نوع میکروRNA	ردیف
.	۹۹	.	۹۹	.	.	<i>BDNF</i>	miR-10a	۱
۸۹	.	.	۹۹	.	.	<i>Sirt1</i>	miR-132	۲
۹۴	۸۲	<i>VaMp2</i>	miR-34C	۳
۹۲	۹۸	<i>APP</i>	miR-153	۴
۹۱	۷۳	<i>Rb1</i>	miR-26b	۵
۸۹	۹۷	<i>APP</i>	miR-106a	۶
۸۹	۹۷	<i>APP</i>	miR-17-5p	۷
۸۵	۹۵	<i>APP</i>	miR-520c	۸
۷۶	۹۳	<i>BACE1</i>	miR-135b	۹
۷۶	۹۲	<i>BACE1</i>	miR-135a	۱۰
۶۹	۹۵	<i>APP</i>	miR-16	۱۱
۶۸	۸۹	<i>BACE1</i>	miR-29a/b	۱۲
۶۸	۷۷	<i>BACE1</i>	miR-29c	۱۳
۶۵	۹۰	<i>BACE1</i>	miR-195	۱۴
۶۰	۸۳	<i>BACE1</i>	miR-124	۱۵

هر سه نرم‌افزار برخط شامل TargetScan، MirTarget و Diana-microT قابل پیش‌بینی و نمره‌دهی بودند که مشخصات آن‌ها و میزان نمره‌دهی هر یک از ابزارها به اتصال‌های مورد نظر در جدول ۵ نشان داده شده است. البته لازم به ذکر است که در مورد پیش‌بینی اتصال این ۹ میکروRNA، دامنه نمره‌دهی Diana-miroT از ۹۱ تا ۹۹ با

میکروRNAهای با قابلیت پیش‌بینی اتصال به ژن‌های هدف مرتبه با بیماری آلزایمر توسط سه نرم‌افزار بیوانفورماتیکی

نتایج پیش‌بینی اتصال میکروRNA به رونوشت ژن هدف از میان ۴۱ میکروRNA گزارش شده برای ۲۱ ژن مرتبه با بیماری آلزایمر نشان داد که ۹ عدد از میکروRNAها توسط

میانگین ۸۹/۴۴ بود.

میانگین ۹۸/۷۸، دامنه نمره‌دهی TargetScan از ۸۸ تا ۹۹ با

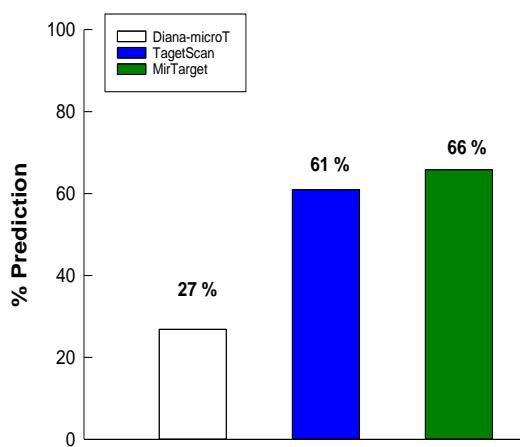
میانگین ۹۵/۳۳ و دامنه نمره‌دهی MirTarget از ۷۶ تا ۹۷ با

جدول ۵: میکروRNAهای با پیش‌بینی اتصال به ژن‌های هدف مرتبط با بیماری آلزایمر توسط سه ابزار بیوانفورماتیکی

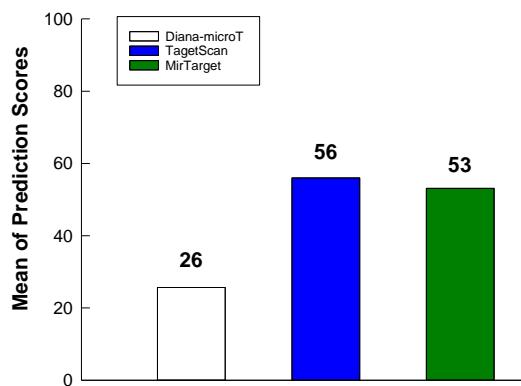
MirTarget	نمره	Target-Scan	نمره	Diana-microT	نمره	ژن هدف	نوع میکروRNA	ردیف
۹۷		۹۹		۹۰		RARA	miR-138	۱
۹۷		۹۷		۹۷		BACE1	miR-339-5p	۲
۹۵		۹۹		۹۸		APP	miR-101	۳
۹۴		۹۹		۹۲		UCHL1	miR-922	۴
۸۹		۹۶		۹۴		APP	miR-20a	۵
۸۹		۹۶		۹۱		APP	miR-106b	۶
۸۴		۹۰		۹۹		FOXO3	miR-132	۷
۸۴		۸۸		۹۹		FOXO3	miR-212	۸
۷۶		۹۴		۹۳		PTPN1	miR-124	۹

درصد) و ۲۷ اتصال ۶۶ میکروRNA (درصد) از ۴۱ میکروRNA بررسی شده را به رونوشت ژن‌های هدف گزارش شده، پیش‌بینی نمودند (نمودار ۱). میانگین نمره‌های تعلق گرفته به پیش‌بینی‌های انجام شده برای هر نرم‌افزار نیز محاسبه گردید و مشخص شد که میانگین نمره‌های پیش‌بینی در نرم‌افزار Diana-microT برابر با ۲۶، در TargetScan برابر با ۵۶ و در MirTarget برابر با ۵۳ از ۱۰۰ برای ۴۱ میکروRNA بررسی شده بود (نمودار ۲).

مقایسه درصد پیش‌بینی و میانگین کل نمره‌دهی پیش‌بینی اتصال میکروRNAهای بررسی شده به رونوشت ژن‌های دخیل در بیماری آلزایمر توسط سه نرم‌افزار بیوانفورماتیکی در ادامه بررسی‌ها تعداد میکروRNAهایی که ژن هدف آن‌ها توسط هر نرم‌افزار پیش‌بینی شد، شمارش گردید و مشخص شد که نرم‌افزار Diana-microT در کل اتصال ۱۱ میکروRNA میکرو ۲۵ TargetScan اتصال ۲۷ میکروRNA (۶۱ درصد)،



نمودار ۱: مقایسه درصد پیش‌بینی اتصال ۴۱ میکروRNAی بررسی شده به ژن‌های دخیل در بیماری آلزایمر توسط سه ابزار بیوانفورماتیکی



نمودار ۲: مقایسه میانگین نمره‌دهی پیش‌بینی اتصال ۴۱ میکروRNA به ژن‌های دخیل در بیماری آلزایمر توسط سه نرم‌افزار بیوانفورماتیکی

[۱۹]. با توجه به محدودیت‌های موجود در مطالعه میکروRNAهای پیش‌بینی ژن‌های هدف آن‌ها به کمک روش‌های محاسباتی و بیوانفورماتیکی می‌تواند به پیشرفت تحقیقات در این زمینه کمک شایانی نماید. از سال ۲۰۰۲، ابزارهای بیوانفورماتیکی به منظور تحقیق در مورد میکروRNAها همراه با توسعه روش‌های آزمایشگاهی گسترش یافته‌اند. با وجود پیشرفت‌های فراوان در زمینه برنامه‌های پیش‌بینی ژن‌های هدف میکروRNAها، الگوریتم‌ها و ابزارهای بیوانفورماتیکی که در دسترس هستند هنوز کارایی کاملی ندارند و در پیش‌بینی ژن‌های هدف اشتباها مکرر دارند و این امر در انجام کارهای آزمایشگاهی مشکلاتی را برای محققین به وجود می‌آورد که گاهی از نظر زمانی و اقتصادی بسیار هزینه‌بر است [۴۱، ۴۲]; بنابراین شناسایی نقاط ضعف و قوت این ابزارها و پیشرفت‌های بیشتر در پیش‌بینی ژن‌های هدف میکروRNAها به کمک ابزارهای بیوانفورماتیکی از چالش‌های مهم تحقیقات حال و آینده است [۴۳، ۴۴].

در این مطالعه نظری، ۴۱ میکروRNA متعلق‌شونده به ۲۱ ژن مرتبط با بیماری آلزایمر بر اساس نتایج کارهای آزمایشگاهی و تجربی بر روی مدل‌های حیوانی و یا در بیماران آلزایمری انتخاب شدند و پیش‌بینی اتصال این میکروRNAها به ژن‌های مربوطه به وسیله سه ابزار بیوانفورماتیکی و نرم‌افزار Diana-microT، TargetScan، MirTarget و برخط شامل

بحث و نتیجه‌گیری

از زمان کشف اولین میکروRNAها و ژن‌های هدف آن‌ها در سال ۱۹۹۳، شناسایی و معرفی میکروRNAها رشد چشمگیری داشته است. شناسایی ژن‌های هدف میکروRNAها نیز یکی از عوامل مهم در مشخص شدن عملکرد آن‌ها به شمار می‌آید. با توجه به این که هر میکروRNA می‌تواند بیان ژن‌های مختلف را کنترل کند و هر ژن به وسیله میکروRNAهای زیادی تحت تأثیر قرار می‌گیرد؛ بنابراین بررسی تغییرات بیان ژن در اثر میکروRNAها بسیار پرهزینه و زمان‌بر است. در سال‌های اخیر روش‌های تشخیص و آنالیز میکروRNAها به سرعت توسعه یافته است. با این وجود آنالیز میکروRNAها با توجه به ویژگی‌های منحصر به فرد آن‌ها مانند کوچک بودن توالی، فراوانی کم و شباهت در توالی بین اعضای یک خانواده نیازمند شرایط ویژه‌ای است. اندازه کوچک میکروRNAها بسیاری از روش‌های سنجش آن‌ها که بر پایه PCR و یا هیبریداسیون است را پیچیده کرده است؛ زیرا پرایمرهای استفاده شده در بسیاری از PCRهای معمولی از نظر طول به میکروRNAها شبیه‌اند و پرایمرهای کوتاه‌تر از پرایمرهای معمول برای سنجش آن‌ها نیاز است که این عامل بر روی بازده PCR تأثیرگذار خواهد بود. همچنین در روش‌های تشخیصی بر پایه هیبریداسیون، نشان‌دار کردن پروب کوتاه برای شناسایی میکروRNA دشوار است. در ضمن دمای ذوب پروب دو رشته‌ای و توالی هدف آن نیز پایین است که به شدت باعث کاهش میزان هیبریداسیون و افزایش تلالقی هیبریداسیون می‌شود؛ بنابراین افزایش استراتژی‌های جدید در جهت افزایش اختصاصیت اندازه‌گیری پروفایل میکروRNAها، ضروری است

مورد استفاده در این تحقیق قدرت پیش‌بینی بیشتری دارد. نتایج همچنین مشخص نمود که میانگین نمره اهداف پیش‌بینی شده توسط نرم‌افزار MirTarget کمتر از میانگین TargetScan نمره اهداف پیش‌بینی شده توسط نرم‌افزار است که ممکن است به دلیل حساسیت بالای الگوریتم به کار گرفته شده و ارتقاء یافته در ابزار MirTarget در نمره‌دهی به اتصال‌های مورد نظر باشد؛ زیرا این ابزار علاوه بر بررسی امکان اتصال میکروRNA به ژن هدف، داده‌های مربوط به کاهش بیان ژن هدف را نیز مدنظر قرار می‌دهد [۴۵]. بر اساس این پیشنهاد ارائه شده می‌توان نتیجه گرفت که اگر اهداف پیش‌بینی شده توسط ابزار MirTarget نمره بالایی داشته باشند، به احتمال زیاد در بررسی آزمایشگاهی نیز از صحت و دقیقت بیشتری برخوردار خواهند بود؛ بنابراین می‌توان به محققین پیشنهاد نمود که برای پیش‌بینی ژن هدف میکروRNAها یکی از گزینه‌های بسیار مناسب که نتایج عملکردی یعنی امکان کاهش بیان ژن هدف را نیز بررسی می‌کند، ابزار MirTarget است.

این احتمال وجود دارد که اگر حداقل دو ابزار از ابزارهای بیوانفورماتیکی اتصال میکروRNAها به ژن‌های هدف را پیش‌بینی نمایند، نتیجه می‌تواند از اعتبار بیشتری برخوردار باشد. بر اساس نتایجی که در این مطالعه به دست آمد، ژن‌های هدف ۱۵ مورد از ۴۱ میکروRNAی بررسی شده در این تحقیق حداقل توسط دو ابزار بیوانفورماتیکی مورد استفاده قابل پیش‌بینی بود. نتایج جدول ۴ نشان داد که اتصال miR-10a به ژن *BDNF* به طور مشترک توسط Diana-microT و TargetScan، اتصال miR-132 به ژن *Sirt1* به طور مشترک Diana-microT و MirTarget و Diana-microT شامل اتصال miR-34C به ژن *Rb1* miR-106a به ژن *APP* miR-153 به ژن *miR-26b* miR-16 به ژن *miR-520c* miR-17-5p به ژن *miR-29a/b* miR-135a به ژن *miR-135b* miR-124 به ژن *BACE1* miR-195 به ژن *miR-29c* مشترک توسط TargetScan و MirTarget قابل پیش‌بینی و نمره‌دهی بودند. بر اساس نتایج این بخش، دو ابزار بیوانفورماتیکی TargetScan و MirTarget در مجموع برتری نسبی بر Diana-microT نشان دادند.

در ادامه بررسی‌ها، امکان پیش‌بینی اتصال میکروRNAها به ژن‌های هدف به طور مشترک توسط هر سه ابزار بیوانفورماتیکی نیز بررسی شد و نتایج نشان داد که ژن‌های

Tau miR-186 APP miR-132 *BACE1* miR-132 miR-*NOS1* miR-132 *JTPKB* miR-132 و miR-137 miR-212 miR-125b *ROCK1* miR-146a *TNFAIP1* miR-330 *SPHK1* و VAV1 miR-330 توسط هیچ‌کدام از سه ابزار مورد استفاده قابل پیش‌بینی نبود. در تفسیر این نتایج می‌توان پیشنهاد نمود در مطالعاتی که ارتباط بین این میکروRNAها و ژن‌های مورد نظر را گزارش کرده‌اند و تغییراتی در بیان این ژن‌های هدف مشاهده شده است، احتمالاً این میکروRNAها به طور مستقیم بر بیان این ژن‌ها تأثیر نگذاشته باشند و به رونوشت این ژن‌ها نچسبیده باشند بلکه ممکن است به طور غیرمستقیم و از طریق تأثیر بر بیان عوامل دیگری مانند سایر میکروRNAها و یا ژن‌های دیگر، موجب تغییر در بیان ژن‌های گزارش شده برای این نوع از میکروRNAها شده باشند [۴۵]. البته می‌توان در حالت بدینانه‌تری نیز پیشنهاد نمود که گزارش‌های موجود در مورد اتصال این میکروRNAها به ژن‌های گزارش شده برای آن‌ها از صحت کافی برخوردار نبوده و ادعای ارتباط آن‌ها با بیماری آلزایمر نیازمند آزمایش‌های بیشتری است.

برای پی بردن به توانایی اختصاصی هر یک از سه نرم‌افزار، سعی بر آن بود احتمال اتصال میکروRNAهای مورد نظر که به طور انحصاری توسط یک نرم‌افزار قابل پیش‌بینی باشد، مورد بررسی قرار گیرد. نتایج به دست آمده نشان داد که در این مورد Diana-microT ضعیفترین عملکرد را دارد و هیچ میکروRNAی نبود که این نرم‌افزار بتواند اتصال آن را به ژن هدف پیش‌بینی نماید در حالی که برای دو نرم‌افزار دیگر قابل پیش‌بینی نبوده باشد. نتایج همچنین نشان داد RNAهای TargetScan قادر به پیش‌بینی اتصال دو میکروRNA به ژن *Fyn* miR-106b به *ApoE* miR-1908 به *miR-106b* در حالی که دو ابزار دیگر یعنی Diana- و MirTarget microT برای این موارد قادر به پیش‌بینی ژن هدف نبودند. نتایج همچنین نشان داد که در چهار مورد از میکروRNAهای بررسی شده، ابزار بیوانفورماتیکی Diana-microT قادر به توانست اتصال *BACE1* به ژن *miR-107* miR-328 به ژن *miR-298* miR-298 به ژن *SNX6* را پیش‌بینی و در حد بالای نمره‌دهی کند و این در حالی بود که TargetScan و Diana-microT قادر به پیش‌بینی هیچ‌کدام از این موارد نبودند. با توجه به نتایجی که در این بخش حاصل شد می‌توان پیشنهاد نمود که ابزار MirTarget نسبت به سایر ابزارهای

ویژگی‌های حساسیت و اختصاصیت هستند؛ اما می‌توانند به محققینی که اهداف جدید میکروRNAها را بررسی می‌کنند، کمک‌های ارزشمندی ارائه دهند [۴۳]. در این مطالعه نتایج منتشر شده در مورد تأثیر تعدادی میکروRNA در کنترل بیان ژن‌های دخیل در بیماری آلزایمر توسط سه ابزار بیوانفورماتیکی مورد بررسی مجدد قرار گرفت. با توجه به تنوع ابزارهای بیوانفورماتیکی، نتایج چنین تحقیقات نظری نیز می‌تواند با تعیین میزان دقت و کارایی ابزارهای موجود برای انجام پیش‌بینی‌های دقیق‌تر در این زمینه مؤثر باشد و به نظر می‌رسد که با ادغام چنین رویکردهای محاسباتی با نتایج حاصل از مطالعات تجربی برای ژن‌ها و بیماری‌های مختلف، تحقیقات در مورد ژن‌های هدف میکروRNAها موفق‌تر از گذشته خواهد بود. از آنجایی که الگوریتم‌های موجود برای پیش‌بینی اهداف میکروRNAها بر فرضیات مختلفی متکی هستند و از الگوهای جفت‌شوندگی مختلفی بین میکروRNA و رونوشت ژن هدف استفاده می‌کنند، به نظر می‌رسد ترکیب نتایج حاصل از ابزارهای مختلف یک رویه مناسب باشد و اغلب در کاهش مثبت‌های کاذب و نتایج منفی یا عدم درستی در پیش‌بینی اتصال میکروRNA به ژن هدف تا حد امکان مؤثر باشد. بر این اساس، با بررسی توانایی ابزارهای بیوانفورماتیکی جدید مشاهده می‌شود که الگوریتم‌های موجود به تدریج دقیق‌تر شوند و با بهره‌گیری از دانش جدید به طور مداوم بهبود می‌یابند [۴۴، ۴۸].

داده پایگاه miRDB یک پایگاه اطلاعاتی برخط برای پیش‌بینی اهداف و تفسیر عملکردی اتصال میکروRNAها به رونوشت ژن‌های هدف است [۴۹]. همه ژن‌های هدف میکروRNAها در miRDB به وسیله یک ابزار بیوانفورماتیکی به نام MirTarget به وسیله آنالیز هزاران برهمنکش میکروRNA با ژن‌های هدف که از آزمایش‌های توالی‌یابی با توان بالا به دست آمده‌اند، پیش‌بینی می‌شوند. نسخه جدید ابزار بیوانفورماتیکی جدید MirTarget در داده‌پایگاه miRDB در سال ۲۰۱۹ به عنوان جدیدترین و بهترین مدل در شناسایی عملکردی ژن‌های هدف میکروRNAها معرفی شده است [۴۵]. همچنین در داده پایگاه miRDB با ترکیب آنالیزهای عملکردی و استخراج داده‌های مقالات، میکروRNAهای فعال و عملکردی در موش و انسان که موجب تغییراتی واقعی در بیان ژن با عواقب عملکردی در سلول و تغییر در عملکردهای فیزیولوژیک شده‌اند، شناسایی و معرفی شده‌اند [۴۵]. به طور کلی با توجه به سخت‌گیری

هدف ۹ میکروRNA از ۴۱ مورد بررسی شده توسط هر سه ابزار قابل پیش‌بینی بود. بر اساس نتایج این بخش، اتصال *BACE1* miR-339-5p به *RARA*, *APP* miR-138 miR-106b و miR-20a miR-101 miR-212 miR-132, *UCHL1* miR-922 و miR-124 به *PTPN1* miR-124 و *FOXO3* به *microT* پیش‌بینی گردید. شاید بتوان ادعا نمود که گزارش‌های موجود در مورد این میکروRNAها و اتصال آن‌ها به ژن‌های هدف گزارش شده از صحت کافی برخوردار باشند و می‌توانند در تحقیقات آزمایشگاهی با اطمینان بیشتری مورد استناد قرار گیرند.

با توجه به این که هر یک از ابزارهای TargetScan و MirTarget حدود ۹۱ درصد (۱۰ میکروRNA از ۱۱ مورد) از اهداف میکروRNAهای قابل پیش‌بینی توسط Diana-microT را پیش‌بینی نمودند، می‌توان این گونه پیشنهاد نمود که در پیش‌بینی میکروRNAهای با قابلیت اتصال به ژن‌های هدف دخیل در بیماری آلزایمر، نیاز خاصی به استفاده از Diana-microT وجود ندارد. همچنین اگرچه ابزار TargetScan در مقایسه با MirTarget ترتیب ۶۶ درصد و ۶۱ درصد) از اتصال میکروRNAهای مورد بررسی به رونوشت ژن‌های هدف نظر را پیش‌بینی نمود؛ اما میزان همپوشانی نتایج این دو در حدود ۸۱/۵ درصد است که می‌تواند نشان‌دهنده توانایی بالای هر دوی این ابزارها در پیش‌بینی میکروRNAهای کنترل کننده ژن‌های دخیل در بیماری آلزایمر باشد. با این وجود میانگین نمره‌دهی به اتصال میکروRNAها به ژن‌های هدف در ابزار MirTarget کمتر از TargetScan بود (به ترتیب ۵۳ و ۵۶ درصد)؛ بنابراین، اگرچه نرم‌افزار برخط TargetScan نسبت به سایر نرم‌افزارها و ابزارهای موجود به طور وسیع‌تری در پیش‌بینی اتصال میکروRNAها به رونوشت ژن‌های هدف استفاده می‌شود؛ اما بر اساس نتایج حاصل از بررسی‌های به عمل آمده در این مطالعه نظری، استفاده از ابزار بیوانفورماتیکی جدید MirTarget در داده پایگاه miRDB برای دستیابی به نتایج عملکردی یا به عبارت دیگر منجر شونده به تغییر در بیان ژن هدف توصیه می‌شود.

با توجه به فقدان داده‌های با کیفیت بالا از مطالعات تجربی، تلاش‌ها برای توسعه الگوریتم‌های ابزارهای بیوانفورماتیکی در زمینه پیش‌بینی ژن هدف میکروRNAها با محدودیت‌هایی نیز مواجه است [۴۶، ۴۷]. اگرچه این الگوریتم‌ها هنوز قادر

آزمایشگاهی در مورد نتایج عملکردی تغییرات بیان ژن در اثر تغییر در میزان میکروRNAها، استفاده ترکیبی از هر دو ابزار MirTarget و TargetScan می‌تواند در پیش‌بینی دقیق‌تر ژن‌های هدف میکروRNA‌های دخیل در بیماری‌ها به ویژه بیماری آلزایمر مؤثرتر باشد و در راستای صرفه‌جویی در وقت و هزینه‌های اقتصادی برای بررسی‌های آزمایشگاهی برای محققین این حوزه بسیار کاربرد خواهد داشت.

تعارض منافع

نویسنده‌گان این مقاله هیچ‌گونه تضاد منافعی ندارند.

References

1. Khaledi S, Ahmadi S. Cellular and molecular mechanisms of vitamin D deficiency in aging and Alzheimer's disease. *Shefaye Khatam* 2020; 8(3):97-110. [In Persian] doi:10.29252/shefa.8.3.97
2. Khaledi S, Ahmadi S. Amyloid Beta and Tau: from Physiology to Pathology in Alzheimer's disease. *Shefaye Khatam* 2016; 4(4):67-88. [In Persian] doi: 10.18869/acadpub.shefa.4.4.67
3. Nisbet RM, Polanco JC, Ittner LM, Götz J. Tau aggregation and its interplay with amyloid-beta. *Acta Neuropathol* 2015;129(2):207-20. doi: 10.1007/s00401-014-1371-2
4. Thal DR, Walter J, Saido TC, Fandrich M. Neuropathology and biochemistry of Abeta and its aggregates in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol* 2015;129(2):167-82. doi: 10.1007/s00401-014-1375-y
5. Kamenetz F, Tomita T, Hsieh H, Seabrook G, Borchelt D, Iwatsubo T, et al. APP processing and synaptic function. *Neuron* 2003;37(6):925-37. doi: 10.1016/s0896-6273(03)00124-7
6. O'Brien RJ, Wong PC. Amyloid precursor protein processing and Alzheimer's disease. *Annu Rev Neurosci* 2011;34:185-204. doi: 10.1146/annurev-neuro-061010-113613
7. Han P, Shi J. A Theoretical Analysis of the Synergy of Amyloid and Tau in Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis* 2016;52(4):1461-70. doi: 10.3233/JAD-151206
8. Ahmadi S, Zobeiri M, Bradburn S. Molecular mechanisms underlying actions of certain long noncoding RNAs in Alzheimer's disease. *Metab Brain Dis* 2020;35(5):681-93. doi: 10.1007/s11011-020-00564-9
9. Delay C, Mandemakers W, Hebert SS. MicroRNAs in Alzheimer's disease. *Neurobiol Dis* 2012;46(2):285-90. doi: 10.1016/j.nbd.2012.01.003
10. Hebert SS, Horre K, Nicolai L, Bergmans B, Papadopoulou AS, Delacourte A, et al. MicroRNA regulation of Alzheimer's Amyloid precursor protein expression. *Neurobiol Dis* 2009;33(3):422-8. doi: 10.1016/j.nbd.2008.11.009
11. Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis,
- MirTarget در نمره‌دهی به میزان جفت‌شدگی میکروRNA و رونوشت ژن هدف و نیز لحاظ نمودن داده‌های مربوط به کاهش بیان قابل تشخیص در ژن مورد نظر و کاهش در پروتئین حاصل از آن، می‌توان نتایج حاصل از پیش‌بینی ژن‌های هدف میکروRNA‌ها توسط ابزار MirTarget را به واقعیت نزدیک‌تر دانست [45]. با این وجود با توجه به محدودیت‌های موجود در جهت کامل شدن الگوریتم ابزارهای بیوانفورماتیکی برای پیش‌بینی دقیق ژن‌های هدف میکروRNA‌ها، عدم کامل بودن میکروRNA‌های شناسایی شده و ثبت شده در داده پایگاه‌ها و نیز کامل نبودن داده‌های
- mechanism, and function. *Cell* 2004;116(2):281-97. doi: 10.1016/s0092-8674(04)00045-5
12. Li LC, Okino ST, Zhao H, Pookot D, Place RF, Urakami S, et al. Small dsRNAs induce transcriptional activation in human cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006;103(46):17337-42. doi: 10.1073/pnas.0607015103
13. Ambros V. The functions of animal microRNAs. *Nature* 2004;431(7006):350-5. doi: 10.1038/nature02871
14. Parvini N, Ahmadi S. Role of MicroRNAs in Development of Immune Cells and Nervous System and their Relation to Multiple Sclerosis. *The Neuroscience Journal of Shefaye Khatam* 2015; 3:131-44. [In Persian] doi:10.18869/acadpub.shefa.3.1.131
15. Juzwik CA, S SD, Zhang Y, Paradis-Isler N, Sylvester A, Amar-Zifkin A, et al. microRNA dysregulation in neurodegenerative diseases: A systematic review. *Prog Neurobiol* 2019;182:101664. doi: 10.1016/j.pneurobio.2019.101664
16. Quinlan S, Kenny A, Medina M, Engel T, Jimenez-Mateos EM. MicroRNAs in Neurodegenerative Diseases. *Int Rev Cell Mol Biol* 2017; 334:309-43. doi: 10.1016/bs.ircmb.2017.04.002
17. Wang M, Qin L, Tang B. MicroRNAs in Alzheimer's Disease. *Front Genet* 2019;10:153. doi: 10.3389/fgene.2019.00153
18. Kozomara A, Griffiths-Jones S. miRBase: integrating microRNA annotation and deep-sequencing data. *Nucleic Acids Res* 2011;39(Database issue):D152-7. doi: 10.1093/nar/gkq1027
19. Riffó-Campos AL, Riquelme I, Brebi-Mieville P. Tools for Sequence-Based miRNA Target Prediction: What to Choose? *Int J Mol Sci* 2016;17(12):1987. doi: 10.3390/ijms17121987
20. Femminella GD, Ferrara N, Rengo G. The emerging role of microRNAs in Alzheimer's disease. *Front Physiol* 2015;6:40. doi: 10.3389/fphys.2015.00040
21. Patel N, Hoang D, Miller N, Ansaloni S, Huang Q, Rogers JT, et al. MicroRNAs can regulate human APP levels. *Mol Neurodegener* 2008;3:10. doi: 10.1186/1750-1326-3-10

- 22.** Lei X, Lei L, Zhang Z, Zhang Z, Cheng Y. Downregulated miR-29c correlates with increased BACE1 expression in sporadic Alzheimer's disease. *Int J Clin Exp Pathol* 2015;8(2):1565-74.
- 23.** Derisbourg M, Leghay C, Chiappetta G, Fernandez-Gomez FJ, Laurent C, Demeyer D, et al. Role of the Tau N-terminal region in microtubule stabilization revealed by new endogenous truncated forms. *Sci Rep* 2015; 5:9659. doi: 10.1038/srep09659
- 24.** Liu W, Zhao J, Lu G. miR-106b inhibits tau phosphorylation at Tyr18 by targeting Fyn in a model of Alzheimer's disease. *Biochem Biophys Res Commun* 2016;478(2):852-7. doi: 10.1016/j.bbrc.2016.08.037
- 25.** Wang X, Liu D, Huang HZ, Wang ZH, Hou TY, Yang X, et al. A Novel MicroRNA-124/PTPN1 Signal Pathway Mediates Synaptic and Memory Deficits in Alzheimer's Disease. *Biol Psychiatry* 2018;83(5):395-405. doi: 10.1016/j.biopsych.2017.07.023
- 26.** Salta E, Siersma A, Vanden Eynden E, De Strooper B. miR-132 loss de-represses ITPKB and aggravates amyloid and TAU pathology in Alzheimer's brain. *EMBO Mol Med* 2016;8(9):1005-18. doi: 10.1525/emmm.201606520
- 27.** Donmez G. The Effects of SIRT1 on Alzheimer's Disease Models. *Int J Alzheimers Dis* 2012; 2012:509529. doi: 10.1155/2012/509529
- 28.** Wang Y, Veremeyko T, Wong AH, El Fatimy R, Wei Z, Cai W, et al. Downregulation of miR-132/212 impairs S-nitrosylation balance and induces tau phosphorylation in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2017;51:156-66. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2016.12.015
- 29.** Zhao Y, Zhao R, Wu J, Wang Q, Pang K, Shi Q, et al. Melatonin protects against Abeta-induced neurotoxicity in primary neurons via miR-132/PTEN/AKT/FOXO3a pathway. *Biofactors* 2018;44(6):609-18. doi: 10.1002/biof.1411
- 30.** He D, Tan J, Zhang J. miR-137 attenuates Abeta-induced neurotoxicity through inactivation of NF-kappaB pathway by targeting TNFAIP1 in Neuro2a cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2017;490(3):941-7. doi: 10.1016/j.bbrc.2017.06.144
- 31.** Wu BW, Wu MS, Guo JD. Effects of microRNA-10a on synapse remodeling in hippocampal neurons and neuronal cell proliferation and apoptosis through the BDNF-TrkB signaling pathway in a rat model of Alzheimer's disease. *J Cell Physiol* 2018;233(7):5281-92. doi: 10.1002/jcp.26328
- 32.** Wang Y, Li Y, Yang W, Gao S, Lin J, Wang T, et al. Ginsenoside Rb1 inhibit apoptosis in rat model of Alzheimer's disease induced by Abeta1-40. *Am J Transl Res* 2018; 10(3): 796–805.
- 33.** Ohrfelt A, Johansson P, Wallin A, Andreasson U, Zetterberg H, Blennow K, et al. Increased Cerebrospinal Fluid Levels of Ubiquitin Carboxyl-Terminal Hydrolase L1 in Patients with Alzheimer's Disease. *Dement Geriatr Cogn Dis Extra* 2016;6(2):283-94. doi: 10.1159/000447239
- 34.** Wang X, Tan L, Lu Y, Peng J, Zhu Y, Zhang Y, et al. MicroRNA-138 promotes tau phosphorylation by targeting retinoic acid receptor alpha. *FEBS Lett.* 2015;589(6):726-9. doi: 10.1016/j.febslet.2015.02.001
- 35.** Li Q, Li X, Wang L, Zhang Y, Chen L. miR-98-5p Acts as a Target for Alzheimer's Disease by Regulating Abeta Production Through Modulating SNX6 Expression. *J Mol Neurosci* 2016;60(4):413-20. doi: 10.1007/s12031-016-0815-7
- 36.** Wang G, Huang Y, Wang LL, Zhang YF, Xu J, Zhou Y, et al. MicroRNA-146a suppresses ROCK1 allowing hyperphosphorylation of tau in Alzheimer's disease. *Sci Rep* 2016;6:26697. doi: 10.1038/srep26697
- 37.** Hu S, Wang H, Chen K, Cheng P, Gao S, Liu J, et al. MicroRNA-34c Downregulation Ameliorates Amyloid-beta-Induced Synaptic Failure and Memory Deficits by Targeting VAMP2. *J Alzheimers Dis* 2015;48(3):673-86. doi: 10.3233/JAD-150432
- 38.** Jin Y, Tu Q, Liu M. MicroRNA125b regulates Alzheimer's disease through SphK1 regulation. *Mol Med Rep* 2018;18(2):2373-80. doi: 10.3892/mmr.2018.9156
- 39.** Zhou Y, Wang ZF, Li W, Hong H, Chen J, Tian Y, et al. Protective effects of microRNA-330 on amyloid beta-protein production, oxidative stress, and mitochondrial dysfunction in Alzheimer's disease by targeting VAV1 via the MAPK signaling pathway. *J Cell Biochem* 2018;119(7):5437-48. doi: 10.1002/jcb.26700
- 40.** Wang Z, Qin W, Wei CB, Tang Y, Zhao LN, Jin HM, et al. The microRNA-1908 up-regulation in the peripheral blood cells impairs amyloid clearance by targeting ApoE. *Int J Geriatr Psychiatry* 2018;33(7):980-6. doi: 10.1002/gps.4881
- 41.** Rehmsmeier M, Steffen P, Hochsmann M, Giegerich R. Fast and effective prediction of microRNA/target duplexes. *RNA* 2004;10(10):1507-17. doi: 10.1261/rna.5248604
- 42.** Betel D, Koppal A, Agius P, Sander C, Leslie C. Comprehensive modeling of microRNA targets predicts functional non-conserved and non-canonical sites. *Genome Biol* 2010;11(8):R90. doi: 10.1186/gb-2010-11-8-r90
- 43.** Min H, Yoon S. Got target? Computational methods for microRNA target prediction and their extension. *Exp Mol Med* 2010;42(4):233-44. doi: 10.3858/imm.2010.42.4.032
- 44.** Chen L, Heikkinen L, Wang C, Yang Y, Sun H, Wong G. Trends in the development of miRNA bioinformatics tools. *Brief Bioinform* 2019;20(5):1836-52. doi: 10.1093/bib/bby054
- 45.** Liu W, Wang X. Prediction of functional microRNA targets by integrative modeling of microRNA binding and target expression data. *Genome Biol* 2019;20(1):18. doi: 10.1186/s13059-019-1629-z
- 46.** Reczko M, Maragakis M, Alexiou P, Grosse I, Hatzigeorgiou AG. Functional microRNA targets in protein coding sequences. *Bioinformatics* 2012;28(6):771-6. doi: 10.1093/bioinformatics/bts043
- 47.** Liu C, Mallick B, Long D, Rennie WA, Wolenc A, Carmack CS, et al. CLIP-based prediction of

mammalian microRNA binding sites. *Nucleic Acids Res* 2013;41(14):e138. doi: 10.1093/nar/gkt435

48. Dweep H, Sticht C, Gretz N. In-Silico Algorithms for the Screening of Possible microRNA Binding Sites and Their Interactions. *Curr Genomics* 2013;14(2):127-36. doi: 10.2174/1389202911314020005

49. Wong N, Wang X. miRDB: an online resource for microRNA target prediction and functional annotations. *Nucleic Acids Res* 2015;43(Database issue):D146-52. doi: 10.1093/nar/gku1104

Comparing MicroRNA Target Gene Predictions Related to Alzheimer's Disease Using Online Bioinformatics Tools

Koraei Maryam¹, Ahmadi Shamseddin^{2*}

• Received: 16 May 2020

• Accepted: 10 Aug 2020

Introduction: The prediction of microRNAs related to target genes using bioinformatics tools saves time and costs of the experimental analyses. In the present study, the prediction of microRNA target genes relevant to Alzheimer's Diseases (AD) were compared with the experimentally reported data using different bioinformatics tools.

Method: A total of 41 microRNAs associated with 21 essential genes involved in AD were selected based on experimental results reported in previously published literature. Then, the prediction of the target gene for each microRNA was done using three bioinformatics tools, including MirTarget, TargetScan, and Diana-microT. The results of the predictions for all three tools considering the reported target genes were compared with each other.

Results: The results showed that MirTarget, TargetScan, and Diana-microT correctly predicted 66%, 61%, and 27% of microRNAs' attachment to the previously reported target genes involved in AD, respectively. However, none of the tools could predict the attachment of 22% of the microRNAs to the target genes reported in the literature.

Conclusion: It can be concluded that MirTarget and TargetScan can better predict the target gene for microRNAs involved in AD compared with Diana-microT. Considering the algorithm used in MirTarget, this bioinformatics tool provides more functional and accurate results in predicting the target genes for microRNAs and it is recommended for predicting the target genes of microRNAs. It can also be concluded that the reported target genes for microRNAs involved in AD need further investigations in some cases.

Keywords: MicroRNA, Bioinformatics, Target Gene Prediction, Alzheimer Disease

• **Citation:** Koraei M, Ahmadi S. Comparing MicroRNA Target Gene Predictions Related to Alzheimer's Disease Using Online Bioinformatics Tools. Journal of Health and Biomedical Informatics 2021; 7(4): 376-89. [In Persian]

1. M.Sc. Student in Cellular and Molecular Biology, Biological Science Dept., Faculty of Science, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran

2. Associate Professor in Physiology, Biological Science Dept., Faculty of Science, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran

*Corresponding Author: Shamseddin Ahmadi

Address: Biological Sciences Dept., Faculty of Science, University of Kurdistan, Pasdaran Blvd., Sanandaj, Iran

• Tel: +98-87-33660075

• Email: sh.ahmadi@uok.ac.ir