DOI:10.22092/VJ.2021.355450.1883
شماره ۱۳۶ پاییز ۱۴۰۱
تحقیقات دامپزشکی و فرآورده‌های بیولوژیک

پیش‌بینی میکرو RNAهای موثر بر مسیر گیرنده‌های فعال کننده تکثیر پراکسیزوم (PPARs) در مرغ گوشتی

• **محمدرضا توپا**
گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران
• **هدایت‌اله روشنفکر**
گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران
• **محمود نظری(نویسنده مسئول)**
گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران

تاریخ دریافت: ۱۶-۰۵-۱۴۰۰ تاریخ پذیرش:۰۶-۰۷-۱۴۰۰
Email: m.nazari@Asnrukh.ac.ir

چکیده

کاهش چربی محوطه شکمی از اهداف مهم اصلاح نژاد طیور گوشتی است. مسیر گیرنده‌های فعال کننده تکثیر پراکسیزوم (PPARs) نقش مهمی در تجمع چربی ایفا می‌کند. این مسیر شامل گروهی از پروتئین‌های گیرنده هسته‌ای هستند که نقش اساسی در تکثیر، تمایز سلولی و متابولیسم دارند. بنابراین، شناسایی هر چه بهتر ژن‌های دخیل بر این مسیر اهمیت دارد. این تحقیق به منظور پیش‌بینی میکرو RNA های موثر بر مسیر گیرنده‌های فعال‌کننده تکثیر پراکسیزوم با هدف کاهش تجمع چربی در مرغ گوشتی انجام شد. پس از دریافت فایل ژنوم رفرنس مرغ (GRCg6a) از پایگاه داده Ensemble و وارد نمودن آن در پایگاه اطلاعاتی KEGG، تعداد ۶۸ ژن دخیل در مسیر سیگنالینگ PPAR شناسایی شد. سپس شبکه ژنی با استفاده از پایگاه داده استرینگ ترسیم شد. علاوه بر این، تجزیه و تحلیل شبکه برهمکنش پروتئینی با استفاده از نرم‌افزار سایتواسکیپ انجام گردید. بر اساس شاخص‌های مرکزیت (شامل مرکزیت درجه، بینابینی و نزدیکی) ارائه شده توسط نرم‌فزار سایتواسکیپ ژن‌های *SCD* ، *EHHADH*، *CPT1A*، *FABP3*، *LPL*، *PPARA*، *ACOX1* و *PPARGC1* به عنوان تاثیرگذارترین ژن‌های مسیر سیگنالینگ PPAR انتخاب گردیدند و با استفاده از پایگاه‌های داده miRBase و Targetscan، میکرو RNA های متناظر با این ژنها شناسایی شدند. در نهایت، پیش بینی ژن هدف و رسم شبکه میانکنش پروتئین- میکروRNA توسط پایگاه داده Mirnet انجام شد. نتایج نشان داد میکرو RNA ی gga-mir-1759-3p بر سه ژن *LPL*، *CPT1A* و *PPARGC1A* تاثیرگذار است. شاید با بکارگیری این میکرو *RNA* بتوان میزان تجمع چربی را در طیور گوشتی کاهش داد.

کلمات کلیدی: مسیر PPAR ، چربی، مرغ گوشتی، میکرو RNA

Veterinary Researches & Biological Products No 136 pp: 2-11

Prediction of microRNAs affecting genes involved in Peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) signaling pathway in broilers

By: Topa, M.R., Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural science and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran. Rooshanfekr, H., Department of Animal Science, Faculty of Animal science and Food Technology, Agricultural Science and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran. and Nazari, M., (Corresponding Author) Department of Animal Science, Faculty of Animal science and Food Technology, Agricultural Science and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.

Received: 2021-08-07 **Accepted:** **2021-09-28**

Email: m.nazari@Asnrukh.ac.ir

Chicken is one of the most important sources of meat in human societies. One of the important goals of broiler breeding is to reduce the accumulation of fat in broilers. The pathways of peroxisome proliferative activating receptors (PPARs signal pathway) play an important role in fat accumulation. This pathway includes a group of nuclear receptor proteins that play a key role in proliferation, cell differentiation, and metabolism (carbohydrates, lipids, proteins). Therefore, it is important to identify the genes involved in this pathway. This study was performed to predict the microRNAs affecting the peroxisome proliferator receptors (PPARs) with the aim of reducing fat accumulation in broilers. Analysis of the chicken genome reference file in the KEGG database led to the identification of 68 genes involved in the signaling pathway (PPAR). Then, the gene network is drawn by using a STRING network. In addition, protein interaction network analysis was performed using Cytoscape software. Eight genes *ACOX1, PPARA, LPL, FABP3, CPT1A*, *EHHADH, SCD,* and *PPARGC1* were selected as the most influential genes of the PPAR signaling pathway based on centrality indices (including degree centrality, betweenness centrality, closeness centrality) provided by Cytoscape software. Also, the microRNAs corresponding to these genes was identified using databases: MIRdb and Targetscan. Finally, the MirNet network was utilized for the prediction of target genes and drawing a protein-microRNA interaction network. The results showed that gga-mir-1759-3p affects three genes *CPT1A, LPL*, and *PPARGC1A*. Perhaps using this micro-RNA can reduce the accumulation of fat in broiler.

Key words: *PPAR signaling pathway, Broiler, Fat accumulation, MicroRNA*

مقدمه

افزايش انرژی جيره در تغذيه جوجه‌های گوشتی از طرفی باعث افزايش سرعت رشد و بهبود عملکرد می‌شود و از طرف ديگر دارای اثرات منفی مانند تنش و افزايش چربی محوطه بطنی و لاشه نيز می‌باشد. وجود چربی در لاشه ماکيان به ويژه جوجه‌های گوشتی، به دليل بازارپسندی کمتر و نيز هزينه بيشتر توليد به عنوان يکی از مشکلات و چالش‌های اصلی در صنعت طيور به شمار می‌آيد (۱۶). مهم‌ترين اهداف صنعت طيور افزايش راندمان لاشه، کاهش چربی لاشه و به طور عمده کاهش ذخيره چربی حفره شکمی است. با اين حال جوجه‌های صنعتی تجاری در معرض تجمع بيش از حد چربی در ناحيه بطنی و شکم هستند (۲).

اگرچه زمان زيادی از شناسايي ميکرو RNA ها نمي‌گذرد، اما به دليل نقش آن‌ها در کنترل بيان ژن و خاموش کردن mRNA و همچنين تاثير آنها در بيماري‌هاي مختلف، دانشمندان بر روي ميکرو RNA ها تمرکز کرده و سعي در شناخت هر چه بيشتر اينRNA هاي غيرکدشونده تنظيمي کوچك دارند. ميکرو RNA ها، RNA های غير کدکننده کوچک با طول حدود ۱۸ تا ۲۳ نوکلئوتيد هستند که به عنوان تنظيم‌کنندگان اصلی بيان ژن محسوب می‌گردند (۴). ميکروRNA ها می‌توانند با اتصال به قسمت ۳` ناحيه ترجمه نشده mRNA (UTR) هدف، موجب تخريب رونوشت يا سرکوب ترجمه ژن هدف گردند و از اين طريق به‌طورمستقيم بر بيان ژن تاثيرگذارند. ميکروRNAها به‌طور کلی توسط RNA پليمراز II، تحت عنوان پری ميکروRNA ها (pri-miRNAs) رونويسی می‌شوند و توسط آنزيم RNAse III پردازش شده و به يک ساختار حلقه‌ای با طول ۷۰ نوکلئوتيدی تبديل می‌شوند که ميکروRNAهای پيش‌ساز (pre-miRNA) ناميده می‌شود. اين پيش سازها توسط آنزيم Exportin-5 (XPO5) از هسته به درون سيتوپلاسم انتقال يافته تا به صورت ميکرو RNA های دو رشته‌ای بالغ پردازش شوند. در سيتوپلاسم، اين پيش‌سازها توسط

آنزیم RNAse III دیگری بنام اندونوکلئاز Dicer پردازش می‌شود تا به میکرو RNA های بالغ با طول ۱۸-۲۳ نوکلئوتید تبدیل شوند (۳). این میکرو RNA های بالغ به یک مجموعه چند پروتئینی بنام RISC (RNA-induced silencing complex متصل می‌شود، این مجموعه پروتئینی به‌طور خاص یک ریبونوکلئوپروتئینی است که دربرگیرنده یک رشته از یک قطعهRNA تک رشته‌ای مانند میکرو RNA یا یک قطعه RNA دو رشته‌ای مانند siRNA است. تک رشته حاصل (که از طریق جایگاه اتصال دایسر شناسایی می‌شود) به کمپلکس پروتئینی RISC متصل گردیده و به دنبال آن RISC با توجه به ماهیت میکرو RNA به ناحیه 3`UTR و یا پروموتر RNA هدف متصل شده و آن را مهار می‌کند (۵).

تحقیقات زیادی نقش میکرو RNA ها را در تنظیم بیان ژن‌ها در طیور نشان دادند. محققین نشان دادند که میکرو RNA شماره ۱۲۲ یک میکرو RNA خاص کبدی در طیور است که با تاثیرگذاری بر ژن‌های مربوط به متابولیسم چربی مانند ALDOB و PKM2 نقش مهمی در متابولیسم چربی در کبد طیور ایفا می‌کند (۲۰). تحقیقات نشان داد که رشد عضله در سینه مرغ به وسیله میکرو RNA شماره ۲۰۶ با نقشی که در مسیر سیگنالینگ یون کلسیم و مسیرهای واکنش استرس اکسیداتیو ایفا می‌کند سبب رشد عضله در سینه مرغ می‌شود (۱۲). همچنین محققین نشان دادند که کنترل فعالیت های ژن Spred1 توسط میکرو RNA-126 باعث تنظیم پروتئین‌های EVH۱ می‌شود که در رگزایی طیور نقش دارند (۱۸). علاوه بر آن، مشخص شد که ژن‌های SCP2، ACAA1 و ACOX1 که در رسوب چربی عضلانی در جوجه‌ها نقش دارند، میزان بیان آن‌ها به وسیله میکرو RNA-a15 کنترل می‌شود (۱۴).

بنظر می‌رسد بتوان با شناسایی میکرو RNA های دخیل در تجمع چربی بتوان از آن‌ها در کاهش تجمع چربی استفاده کرد. از جمله ژن‌های مهم دخیل در تجمع چربی می‌توان گیرنده‌های فعال‌کننده تکثیر پراکسیزوم (PPARs)، گیرنده x کبدی (LXR)، پروتئین متصل شونده به عنصر تنظیم‌کننده استرول (SRRBP)، لیپوپروتئین لیپاز (LPL) و پرلیپین (PLIN) را نام برد (۱۵). گیرنده‌های فعال‌کننده تکثیر پراکسیزوم جز گیرنده‌های هورمونی هسته‌ای هستند. این گیرنده‌ها زیر خانواده‌ای از فاکتورهای رونویسی هستند که به DNA متصل می‌شوند و بیان ژن‌های پایین دست را تنظیم می‌کنند. این گیرنده‌ها توسط اسیدهای چرب غیراشباع بلندزنجیر با چند پیوند دوگانه، ایکوزانوئیدها و عوامل کاهنده چربی خون مانند فیبرات‌ها، فعال می‌شوند. سه ایزو فرم این گیرنده‌ها شامل PPARβ، PPARα و PPARγ در طیور شناسایی شده‌اند (۹). در میان فاکتورهای رونویسی متعددی که در آدیپوژنز دخالت دارند فاکتورهای رونویسی SREBP ، CCAT و PPARs ایفاگر نقش‌های مهمی در القا، آغاز و تداوم وضعیت تمایزیافته سلول‌های چربی می‌باشند. گیرنده‌های فعال‌کننده تکثیر پراکسیزوم گاما در بافت چربی بیان می‌شوند و فعال‌سازی آنها تمایز و بلوغ سلول‌های چربی را در پرندگان در حال رشد افزایش می‌دهد (۷). لذا با توجه به نقش مهم مسیر گیرنده‌های فعال‌کننده تکثیر پراکسیزوم در تنظیم تجمع چربی شکمی، هدف از این مطالعه پیش‌بینی میکرو RNA هایی است که بر این مسیر موثر هستند و می‌توان با بکارگیری آن‌ها تجمع چربی را کاهش داد.

مواد و روش

در این پژوهش فایل ژنوم رفرنس مربوط به مرغ (GRCg۶a) به شماره دسترسی GCA_۰۰۰۰۰۲۳۱۵,۵_ از آرشیو سایت Ensemble genome browser دریافت شد (http://asia.ensembl.org/info/data/ftp/index.html).

سپس جهت بررسی فرآیندهای بیولوژیکی خاص و رتبه‌بندی آن‌ها از پایگاه داده KEGG mapper به آدرس www.genome.jp/kegg/tool/html.map_pathway۱ استفاده گردید. در این پایگاه، ژن‌های تاثیرگذار بر مسیر سیگنالینگ PPAR مشخص شدند. سپس به‌منظور بررسی برهمکنش و ارتباط بین ژن‌های درگیر در مسیر سیگنالینگ PPAR و همپنین رسم شبکه برهمکنش پروتئین - پروتئین، لیست ژن‌های تاثیرگذار به پایگاه داده STRING ۱۰ به آدرس https://string-db.org/cgi/input.pl، عرضه شد.

جهت تجزیه و تحلیل شبکه و مجسم‌سازی اطلاعات از نرم‌افزار سایتواسکیپ نسخه ۳,۸,۲ استفاده شد (۱۷). در این نرم‌افزار از افزونه CytoNCA جهت تجزیه و تحلیل شبکه برهمنکش سه شاخص مرکزیت بینیت یا بینابینی (Betweenness)، نزدیکی (Closeness) و درجه (Degree) استفاده شد. شاخص درجه (DC) بیانگر تعداد اتصالاتي است كه بر روي يك گره اتفاق مي‌افتد. درجه نشان‌دهنده میزان فعالیت یا ارتباطات يك گره با سایر گره‌هاي موجود در شبکه است. شاخص بینیت یا بینابینی (BC)، بیانگر تعداد بارهایي است كه یک گره در کوتاه‌ترین مسیر میان هر دو گره دیگر در شبکه قرار مي‌گیرد. گره‌هاي داراي بینیت بالا نقش مهمي در اتصال شبکه ایفاء کرده و از جایگاهي مرکزي در شبکه برخوردار هستند. شاخص نزدیکي (CC)، میزان نزدیکي يك گره به سایر گره‌هاي موجود در شبکه را نشان مي‌دهد. هرچه يك گره به سایر گره‌هاي موجود در شبکه نزدیك‌تر باشد، از اهمیت بیشتر و جایگاه مرکزي‌تري برخوردار خواهد بود. به عبارت دیگر این شاخص نشان‌دهنده این مطلب است که يك فضا در شبکه چقدر سریع و آسان مي‌تواند به سایر فضاهاي موجود در شبکه اتصال یابد (۱۳).

پس از آنالیز با سایتواسکیپ پروتین‌هایی که بیشترین اهمیت را دارند مشخص شده و پس از آن از سایت‌های مختلف miRNA متناظر آنها پیش‌بینی می‌گردد. از پایگاه‌های داده miRBase و Targetscan برای شناسایی میکرو RNA های متناظر استفاده شد. تمام سوابق موجود در پایگاه‌های داده در مجموعه‌ای از میکرو RNA های پیش‌بینی شده حفظ و ادغام خواهند شد. در نهایت شبکه برهمکنش mRNA-miRNA با استفاده از نرم‌افزار miRNet به آدرس (https://www.mirnet.ca) ترسیم شد.

نتایج

شناسایی ژن‌های دخیل بر مسیر PPAR از پایگاه داده KEGG

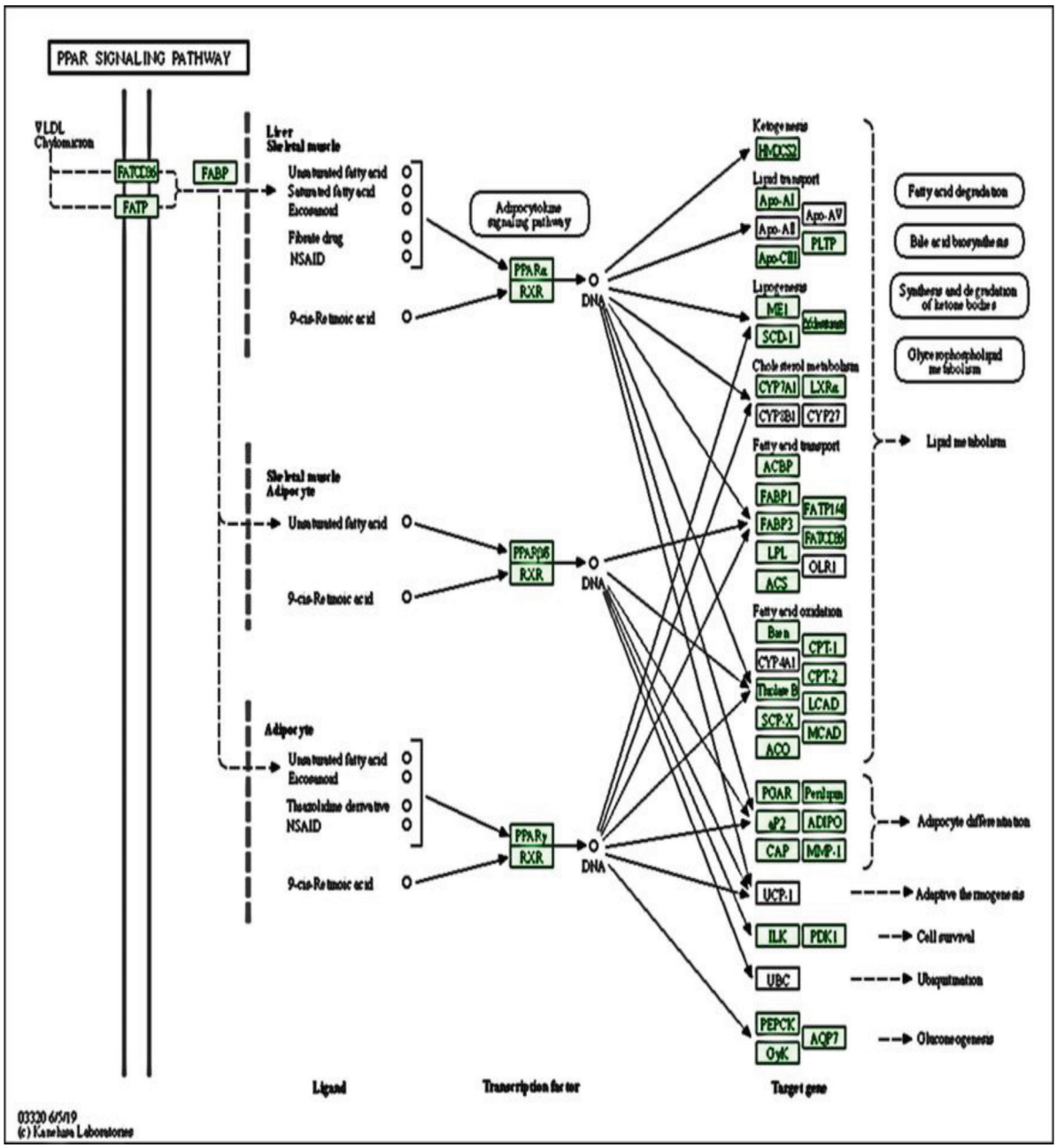
در این پایگاه داده بعد از آپلود فایل CDS و انتخاب گزینه‌های مربوطه، ژن‌های دخیل بر مسیر سیگنالینگ (PPAR) شناسایی شدند که نتایج بدست آمده نشان داد که ۶۸ ژن در مسیر مذکور دخالت دارند. هر کدام از این ژن‌ها بر فعالیت یکی از ایزوفرم‌های مسیر سیگنالینگ (PPAR) یعنی سه ایزوفرم PPARβ، PPARα و PPARγ تاثیر داشتند (شکل ۱).

شبکه بر همکنش ژن‌های دخیل در مسیر سیگنالینگ PPAR

بعد از مشخص شدن ژن‌های تاثیرگذار در مسیر PPAR ، شبکه برهمنکش ژن‌ها ترسیم شد. برای ترسیم این شبکه از پایگاه داده استرینگ نسخه ۱۰ استفاده شد. این شبکه در شکل ۲ نمایش داده شده است.

تجزیه و تحلیل شبکه برهمنکش ژن‌ها

به منظور تجزیه و تحلیل شبکه برهمکنش ژن‌ها از نظر شاخص‌های مرکزیت (Centerality) و تعیین کلاسترهای شبکه برهمکنش، از نرم‌افزار سایتواسکیپ نسخه ۳,۸,۲ استفاده شد. ابتدا با استفاده از افزونه CytoNca

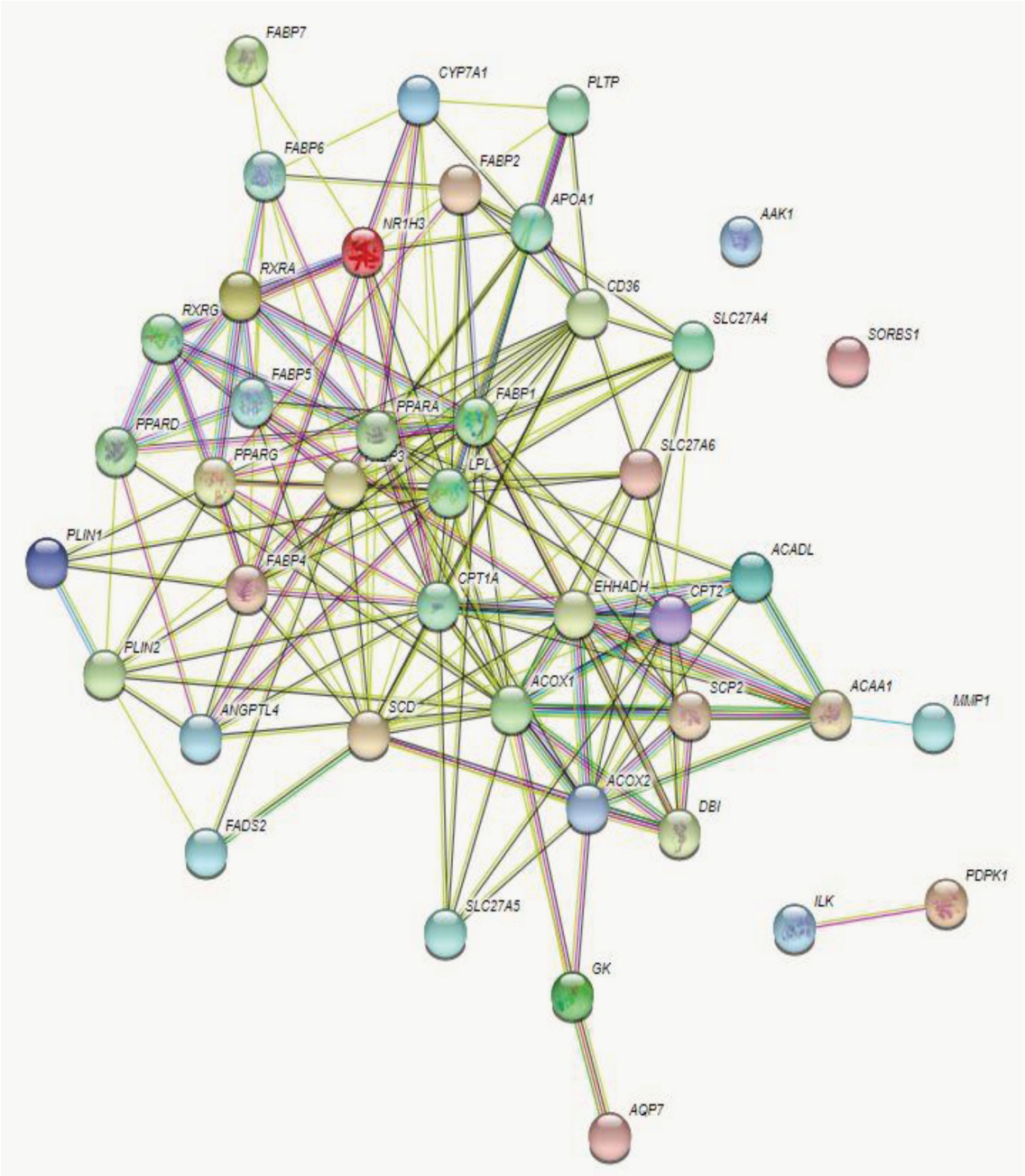


شکل ۱- ژن‌های دخیل بر مسیر PPAR جوجه گوشتی بر اساس پایگاه داده KEGG.

موجود در نرم‌افزار، شبکه از نظر سه شاخص مرکزیت بینیت یا بینابینی (Betweenness)، نزدیکی (Closeness) و درجه (Degree) تجزیه و تحلیل شد که نتایج آن در جدول ۱ آمده است.

میکرو RNA های متناظر با تاثیرگذارترین ژن‌ها

بعد از تجزیه و تحلیل شبکه برهمکنش ژن‌ها در نرم‌افراز سایتواسکیپ نسخه ۳,۸,۲ و رتبه‌بندی آن‌ها بر اساس شاخص‌های مرکزیت، ژن‌هایی با



شکل ۲: شبکه بر همکنش ژن‌های دخیل در مسیر سیگنالینگ PPAR مرغ گوشتی.

درجه بین ۱۹-۱۳ بعنوان ژن‌های موثر انتخاب شدند و به منظور مشخص شدن میکرو RNA های متناظر با آن‌ها، برای هر کدام از ژن‌ها در پایگاه داده میکرو RNA جستجو انجام شد. میکرو RNA های متناظر با ژن‌های تاثیرگذار در جدول ۲ ذکر شده است.

ترسیم شبکه برهمکنش mRNA-miRNA

به منظور مجسم‌سازی نتایج و مشخص شدن میزان تاثیر میکرو RNA ها بر هر ژن، داده‌های بدست آمده وارد پایگاه داده Mirnet، گردید. ابتدا برای تمام میکرو RNA های تاثیرگذار بر ژن‌های دخیل در مسیر PPAR، شبکه برهمکنش رسم شد (شکل ۳). میکرو RNA های متناظر با این ژن‌ها مشخص شدند که در این بین برخی از میکرو RNA ها روی بیان دو تا سه ژن اثرگذار بوده‌اند. در جدول ۳ میکرو RNA ها با تاثیر بر بیشترین تعداد ژن مشخص شده است. همان‌طور که در جدول ۳ ارائه شده است میکرو RNA gga-mir-1759-3p بر بیان سه ژن LPL، CPT1A و PPARGC1A، میکرو RNA gga-mir-1796 بر بیان دو ژن ACOX1 و LPL، و میکرو RNA gga-mir-7455-5p بر بیان دو ژن CPT1A و FABP3، gga-mir-1648-3p بر بیان دو ژن EHHADH و PPARGC1A و میکرو RNA gga-mir-2127 بر بیان دو ژن SCD و PPARGC1A تاثیرگذار هستند.

بحث

محققین معتقدند که برخی از میکرو RNA های شناسایی شده در تنظیم مسیرهای متابولیک نقشی اساسی دارند (۸). میکرو RNA ها نقش کنترلی مهمی در مسیرهای تجمع چربی و متابولیسم چربی دارند (۱۰). از جمله ژن‌های مهم دخیل در تجمع چربی می‌توان گیرنده‌های فعال‌کننده تکثیر پراکسیزوم (PPARs) را می‌توان نام برد. گیرنده‌های فعال‌کننده تکثیر پراکسیزوم (PPARs) جز گیرنده‌های هورمونی هسته‌ای هستند. این گیرنده‌ها زیرخانواده‌ای از فاکتورهای رونویسی هستند که به DNA متصل می‌شوند و بیان ژن‌های پایین دست را تنظیم می‌کنند. سه ایزو فرم این گیرنده‌ها شامل PPARβ، PPARα و PPARγ در طیور شناسایی شده‌اند (۹). گیرنده‌های فعال‌کننده تکثیر پراکسیزوم (PPAR) گاما در بافت چربی بیان می‌شوند و فعال‌سازی آن‌ها تمایز و بلوغ سلول‌های چربی را در پرندگان در حال رشد افزایش می‌دهد (۷). این ایزوفرم ذخیره‌سازی اسیدهای چرب و متابولیسم گلوکز را تنظیم می‌کند. ژن‌های فعال‌شده توسط این ایزوفرم باعث تحریک جذب چربی و آدیپوژنز (تشکیل سلول‌های چربی بالغ از سلول‌های پیش‌ساز خود) توسط سلول‌های چربی می‌شوند. اختلال در عملکرد این ایزوفرم منجر به حذف بافت چربی در موش شده است و این ایزوفرم را به عنوان تنظیم‌کننده اصلی تمایز سلول‌های چربی معرفی می‌کنند (۱). با توجه

جدول ۱- شاخص‌های مرکزیت مهم ترین ژن‌های درگیر در مسیر PPAR مرغ گوشتی.

نام ژن	شاخص مرکزیت		
	درجه	بینیت یا بینابینی	نزدیکی
FABP1	۱۹	۱۶۴,۷۷۹۱۹	۰,۲۸۴۶۷۱۵۵
ACOX1	۱۹	۱۴۳,۴۳۶۹۵	۰,۲۸۸۸۸۸۹
LPL	۱۸	۱۳۸,۳۴۴۴۵	۰,۲۸۲۶۰۸۷
CPT1A	۱۸	۱۱۰,۰۳۳۲۶۴	۰,۲۸۴۶۷۱۵۵
SCD	۱۶	۷۹,۰۳۲۳۱	۰,۲۷۶۵۹۵۷۴
PPARA	۱۶	۸۱,۴۰۲۹۱	۰,۲۷۸۵۷۱۴۳
FABP4	۱۴	۵۱,۲۳۸۱۹	۰,۲۷۴۶۴۷۹
FABP3	۱۳	۵۶,۰۸۳۵۰۴	۰,۲۷۲۷۲۷۲۸
CD36	۱۳	۲۹,۵۱۹۲۵۳	۰,۲۷۲۷۲۷۲۸
ACOX2	۱۳	۴۵,۲۹۴۵۵	۰,۲۷۰۸۳۳۳۴
EHHADH	۱۳	۴۱,۸۳۵۹۳۸	۰,۲۷۲۷۲۷۲۸
PPARG	۱۳	۳۹,۷۹۴۰۹۴	۰,۲۷۲۷۲۷۲۸

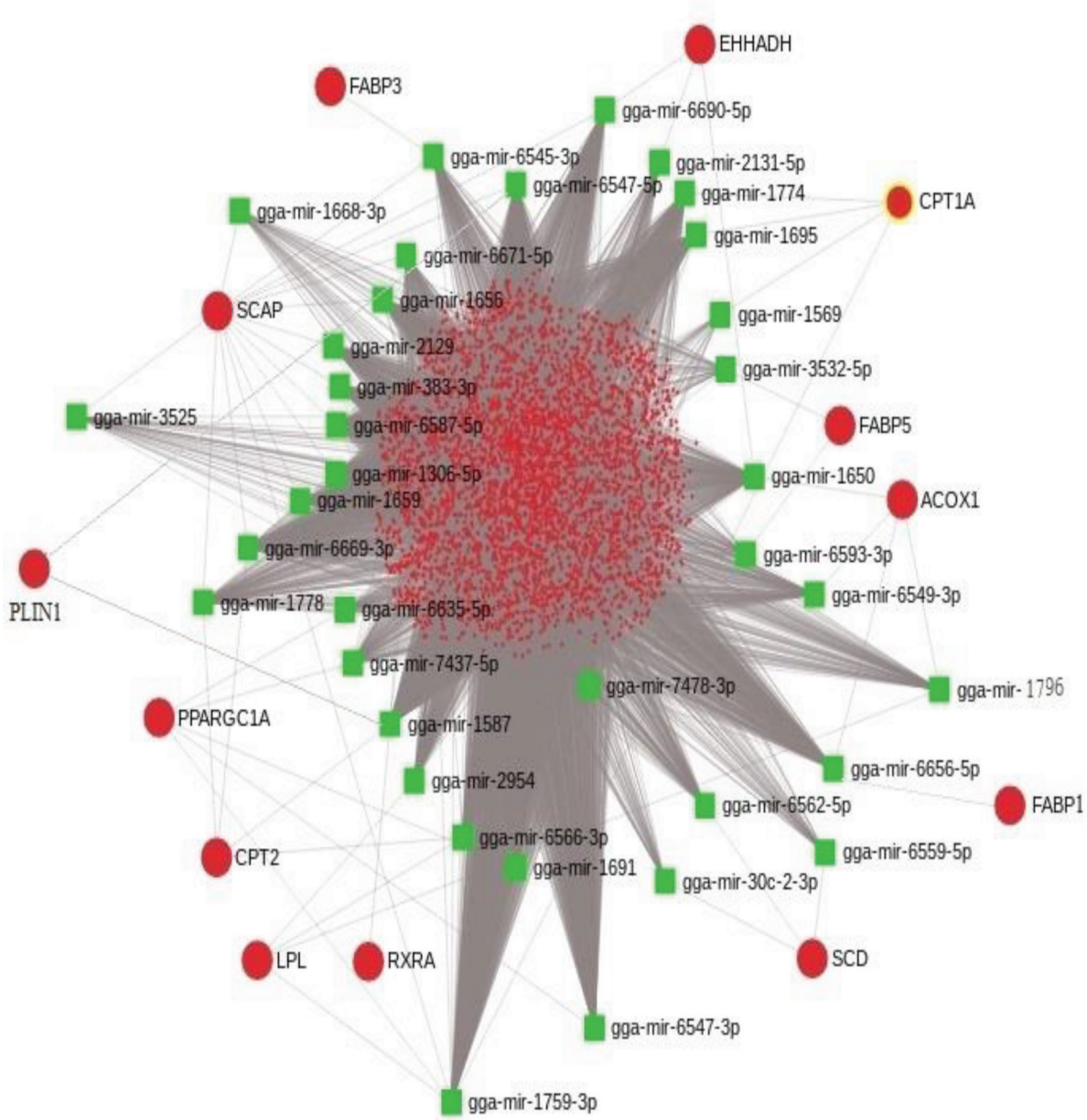
به تاثیرگذاری مسیر گیرنده‌های فعال کننده تکثیر پراکسیزوم در تنظیم تجمع چربی شکمی، هدف از این مطالعه پیش بینی میکرو RNA هایی بود که بر این مسیر موثر هستند و می‌توان با بکارگیری آن‌ها تجمع چربی را کاهش داد.

نتایج جدول ۳ نشان داد که از میان میکرو RNA های بدست آمده بنظر می‌رسد میکرو gga-mir-1759-3p از بقیه میکرو RNA ها جهت بکارگیری کاهش تجمع چربی مناسب‌تر باشد چرا که سه ژن مهم تاثیرگذار در تجمع چربی یعنی LPL، *CPT1A* و *PPARGC1A* را تحت تاثیر قرار می‌دهد. اما باید مد نظر داشت میکرو RNA ها مسیرهای زیادی را تحت تاثیر قرار می‌دهند. میکرو gga-mir-1759-3p نیز علاوه بر سه ژن

جدول ۲- میکرو RNA های متناظر با تاثیرگذارترین ژن‌های مسیر PPAR مرغ گوشتی.

MicroRNA	Gene symbol	MicroRNA	Gene symbol
gga-mir-6567-5p	*PPARA*	gga-mir-1650 gga-mir-1796 gga-mir-6549-3p gga-mir-6656-5p	*ACOX1*
gga-mir-1607 gga-mir-6545-3p gga-mir-6609-3p gga-mir-6615-3p gga-mir-7455-5p	*FABP3*	gga-mir-1796 gga-mir-2954 gga-mir-6566-3p gga-mir-1759-3p	*LPL*
gga-mir-1648-3p gga-mir-1650 gga-mir-1696 gga-mir-1783 gga-mir-1807 gga-mir-2131-5p gga-mir-6587-3p gga-mir-6608-3p gga-mir-1558 gga-mir-6690-5p	*EHHADH*	gga-mir-1774 gga-mir-6556-3p gga-mir-1569 gga-mir-1759-3p gga-mir-7455-5p	*CPT1A*
gga-mir-1648-3p gga-mir-1691 gga-mir-2127 gga-mir-6547-3p gga-mir-6593-5p gga-mir-6635-5p gga-mir-1759-3p gga-mir-7437-5p	*PPARGC1A*	gga-mir-2127 gga-mir-6559-5p gga-mir-6562-5p gga-mir-30c-2-3p	*SCD*

CPT1A، LPL و PPARGC1A مسیرهای دیگری را نیز تحت تاثیر قرار می‌دهد. از همین رو بایستی بررسی گردد که تاکنون در چه گزارشاتی اثرات میکرو gga-mir-1759-3p RNA مورد بررسی قرار گرفته است. در چندین تحقیق اثرات میکرو gga-mir-1759-3p مورد بررسی قرار گرفته است. در تحقیقی مشخص شد که میکرو RNA ها نقش مهمی در فعل و انفعالات پیچیده‌ای که بین ویروس آنفلوانزا و سلول‌های دندرتیک مرغ رخ می‌دهد، ایفا می‌کنند. عفونت ویروس آنفلوانزا H9N2 با تنظیم بیان میکرو RNA ها، پاسخ سلول‌های دندرتیک در موش و مرغ را فعال می‌کند. ۶۶ میکرو RNA به دنبال عفونت زیاد ویروس آنفلوانزا H9N2 و ۴۲ میکرو RNA به دنبال عفونت کم ویروس آنفلوانزا H9N2 شناخته شده است. بیان gga-mir-1759-3p به مقدار ۲/۷ برابر کاهش پیدا کرده است که نشان می‌دهد این میکرو RNA به همراه بقیه میکرو NA هایی که بیانشان کم شده است، نقشی در محافظت سلول در برابر عفونت ویروس آنفلوانزا ندارد (۱۹).



شکل ۳- شبکه بر همکنش mRNA-miRNA.

در آزمایش دیگر مشخص شد که در مجموعه کتابخانه ژنی تخمدان مرغ بالغ و نابالغ، میکرو RNA های شناخته‌شده دارای طیف گسترده‌ای از سطح بیان بودند. برخی میکرو RNA ها مانند miR-10a، ۲۱ و ۱۰۱ دارای بیش از صدها هزار خواندن توالی بودند، در حالی که برخی میکرو RNA ها مانند miR-124a، ۳۵۴۰ و ۱۷۵۹ کمتر از ۲۰ خوانش داشتند که این نشان می‌دهد که بیان به طور قابل توجهی در خانواده‌های مختلف میکرو RNA متفاوت است. نتایج نشان داد که gga-mir-1759-3p نقشی بر رشد و گسترش تخمدان و در تولید مثل ندارد (۱۱) .

همچنین در تحقیقی که بر روی صفت رشد پر انجام شد نشان داده شد که میکرو gga-mir-1759-5p RNA در جوجه‌هایی که پر در می‌آورند، جزو آن دسته از میکرو RNA هایی بوده است که بیان آن کم شده است که این نشان‌دهنده این است که این میکرو RNA در پرآوردن جوجه تاثیری ندارد (۶). نتایج بررسی‌ها نشان می‌دهد که میکرو RNA gga-mir-1759-3p تاثیر چندانی بر مسیرهای دیگر ندارد و این سناریو را تقویت میکند که شاید بتوان از این میکرو RNA جهت کاهش تجمع چربی استفاده کرد.

نتیجه‌گیری کلی

در این تحقیق، پیش بینی میکرو RNA های موثر بر مسیر گیرنده‌های فعال‌کننده تکثیر پراکسیزوم (PPARs) با هدف کاهش تجمع چربی در مرغ گوشتی انجام شد. بعد از انجام آنالیزهای مربوطه، ژن‌های دخیل در مسیر سیگنالینگ PPAR شناسایی شد، سپس میکرو RNA های متناظر با این ژن‌ها بدست آمد. از بین ۶۸ ژن دخیل در مسیر مذکور، هشت ژن SCD، EHHADH، FABP3، PPARA، CPT1A، LPL، ACOX1 و PPARGC1A از نظر شاخص‌های مرکزیت به علت داشتن درجه بین ۱۹-۱۳ به عنوان تاثیرگذارترن ژن‌های دخیل در مسیر سیگنالینگ PPAR انتخاب شدند. میکرو RNA های متناظر با این هشت ژن مورد بررسی بیشتر قرار گرفتند. به نظر می‌رسد تاثیرگذارترین میکرو RNA، gga-mir-1759-3p باشد که بر سه ژن *CPT1A*، *LPL* و *PPARGC1A* تاثیرگذار است. نتایج تحقیقات گذشته نشان داد که این میکرو RNA تاثیرات چندانی در مسیرهای دیگر بیولوژیک ندارد. شاید با بکارگیری این میکرو RNA بتوان میزان تجمع چربی را در طیور گوشتی کاهش داد. پیشنهاد می‌شود اثر این میکرو RNA بر بیان ترانسکریپتوم سلول‌های مرغ کشت داده شده در شرایط آزمایشگاه مورد بررسی قرار گیرد تا اثرات این میکرو RNA بر مسیرهای بیولوژیک در شرایط آزمایشگاهی روشن‌تر شود.

تقدیر و تشکر

از مسئولین پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان که هزینه این تحقیق را تامین نمودند تشکر بعمل می‌آید.

منابع مورد استفاده

1.Ahmadian, M., J.M. Suh, N. Hah, C. Liddle, A.R. Atkins, M. Downes and R.M. Evans. 2013. PPARγ signaling and metabolism: the good, the bad and the future. *Nature Medicine* 19 (5): 557–66.

2.Alao, S.J. and O. Balnave. 1985. Nutritional significance of different fat sources for growing broilers. *Poultry Science* 64: 1602-1604.

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

4.Bartel, D. 2004. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. Cell Journal 116 (2): 281-297.

5.Bartel, D. 2009. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *Cell Journal* 136 (2): 215-233.

6.Fang, G., X. Jia, H. Li, S. Tan, Q. Nie, H. Yu, Y. Yang. 2018. Characterization of microRNA and mRNA expression profiles in skin tissue between early-feathering and late-feathering chickens. *BMC Genomics* 19(1): 399.

7.Ferguson, L. R. 2009. Nutrigenomics approaches to functional foods. *Journal of the American dietetic association* 109(3): 452-

جدول ۳- میکرو RNA ها با تاثیر بر بیشترین تعداد ژن.

میکرو RNA	ژن
gga-mir-1759-3p	*CPT1A-LPL - PPARGC1A*
gga-mir-1796	*ACOX1- LPL*
gga-mir-7455-5p	*CPT1A - FABP3*
gga-mir-1648-3p	*EHHADH- PPARGC1A*
gga-mir-2127	*SCD- PPARGC1A*

458.

8.Hicks, J., N. Trakooljul and H. Liu. 2010. Discovery of chicken microRNAs associated with lipogenesis and cell proliferation. *Physiological Genomics* 41 (2): 185-193.

9.Houseknecht, K. L., B.M. Cole and P.J. Steele. 2002. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARγ) and its ligands: a review. *Domestic animal endocrinology* 22(1): 1-23.

10.Huang, Y., R. Liu G. Zhao, Q. Li, M. Zheng, J. Zhang, S. Li, Z. Liang and J. Wen. 2015. Integrated analysis of microRNA and mRNA expression profiles in abdominal adipose tissues in chickens. *Scientific Reports* 5: 1-14.

11.Kang, L., X. Cui, Y. Zhang, C. Yang and Y. Jiang. 2013. Identification of miRNAs associated with sexual maturity in chicken ovary by Illumina small RNA deep sequencing. *BMC Genomics* 14: 352-363.

12.Khatri, B., S. Seo, S. Shouse, J. Hoon Pan, N. Hudson, J. Kim, W. Bottje and B. Kong. 2018. MicroRNA profiling associated with muscle growth in modern broilers compared to an unselected chicken breed. *BMC Genomics* 19 (1): 683-693.

13.Kosourukoff, A. 2011. Social Network Analysis: Theory and Applications, Pediapress. Available online at: http://www.asecib.ase.ro/mps/SocNet_TheoryApp.pdf. Accessed 03 Jan 2011.

14.Li, G., S.H. Fu, Y. Chen, W. Jin, B. Zhai, Y. Li, G. Sun, R. Han, Y. Wang, Y. Tian, H. Li and X. Kang. 2019. MicroRNA-15a Regulates the Differentiation of Intramuscular Preadipocytes by Targeting ACAA1, ACOX1 and SCP2 in Chickens. *International Journal of Molecular Sciences Journal* 20 (16): 4063-4076.

15.Michalik, L., B.A. Desvergne and W. Wahli. 2003. Peroxisome proliferator-activated receptors b/d: emerging roles for a previously neglected third family member. *Current Opinion in Lipidology* 14 (2): 129-135.

16.Saleh, E.A., S.E. Watkins, A.L. Waldroup and P.W. Waldroup. 2004. Effects of dietary nutrient density on performance and carcass quality of male broilers grown for further processing. *International Journal of Poultry Science* 3(1): 1-10.

17.Shannon, P., A. Andrew Markiel, O. Ozier, N. Baliga, J. Wang, D. Ramage, N. Amin, B. Schwikowski and T. Ideker. 2003. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. *Genome research* 13: 2498-2504.

18.Wang, X., F. Shao, H. Wang, L. Yang, J. Yu, J. Gong and J. Gu. 2013. MicroRNA-126 expression is decreased in cultured primary chicken hepatocytes and targets the sprouty-related EVH1 domain containing 1 mRNA. *Poultry Science* 92 (7): 1888-1896.

19.Yang, J., X. Huang, Y. Liu, D. Zhao, K. Han, L. Zhang, Y. Li and Q. Liu. 2020. Analysis of the microRNA expression profiles of chicken dendritic cells in response to H9N2 avian influenza virus infection. *Veterinary Research* 51 (1):132.

20.Zhang, J., Q. Wang, X. Zhao, L. Wang, Wang, J. Wang, B. Dong and D. Gong. 2018. MicroRNA-122 targets genes related to goose fatty liver. *Poultry Science* 97 (2): 643-649.