Research on Medicine Original Article

The Quarterly journal of School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences 2021 ;Vol.45; No.2

Candidate roles of two miR-383 and miR-380-3p in neural differentiation

Marzieh Moazeny[1], Zohreh Hojati[1]*, Fariba Esmaeili[2], Ali Salari[3,4,5]

1. Department of Cell and Molecular Biology and Microbiology, Faculty of Biological Science and Technology, University of Isfahan, Isfahan, Iran.

2. Department of Plant and Animal Biology, Faculty of Biological Science and Technology, University of Isfahan, Isfahan, Iran.

3. Department of Stem Cells and Developmental Biology, Cell Science Research Center, Royan Institute for Stem Cell Biology and Technology, ACECR, Tehran, Iran.

4. Salari Institute of Cognitive and Behavioral Disorders (SICBD), Karaj, Alborz, Iran.

5. Systems Biology Research Lab, Bioinformatics Group, Systems Biology of the Next Generation Company (SBNGC), Qom, Iran.

(Received: 2020/05/2 Accepted: 2020/09/5)

Abstract

Background and Aims: *MicroRNAs are reported as playing important roles in neural differentiation, but the complex mechanisms of neural differentiation are always a barrier to finding the significance of microRNAs in neural differentiation. Our hypothesis was that high-throughput techniques with systems biology network could be used to solve these complicated mechanisms. To this end, we made an attempt to candidate new microRNAs in neural differentiation mechanisms using high throughput and systems biology network approaches.*

Materials and Methods: *We utilized meta-analysis with five microarrays in both genes and microRNAs expression databases with R programming language. Then, we constructed protein-protein interaction (PPI) network from DEGs using GeneMania plug-in in Cystoscape environment. Also, to find miR that are in interaction with DEGs of neural differentiation, we used two TargetScan and miRTarBase databases. The results of two miR database were compared with the those of DE-miR and we finaly reported some DE-miR that have interaction with DEGs in neural differentiation*

Results*: Our results showed that 443 DEGs and 148 DE-miR in neural differentiation process after meta-analysis of five databases. Next, the 443 DEGs were analyzed using two TargetScan and miRTarBase microRNAs database and the results revealed 252 miR, so 252 miR were compared with 148 DE-miR and the results indicated that only four miR 124, 29a, 383, and miR-380-3p were present in both lists. In addition, PPI network was constructed with 443 DEGs and the results of GO indicated four anterior posterior pattern specification, Neural tube development, Stem cells differentiation, and Forebrain development pathways. PPI network of four pathways are extracted and analyzed using four DE-miR candidates, and then two miR-383 and miR-380-3p were reported as candidate microRNAs to play a role in neural differentiation process.*

Conclusion*: Our results suggest that the two miR-383 and miR-380-3p play a role in neural differentiation process.*

Keywords: *Neural differentiation; Neural microRNAs; Bioinformatics; Microarrays meta-analyze; Systems Biology*

**Corresponding author: Zohreh Hojati*

Email: z.hojati@sci.ui.ac.ir

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2025-12-14]

پژوهش در پزشکی
مقاله پژوهشی
فصلنامه علمی پژوهشی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی
دوره ۴۵، شماره ۲، ۱۴۰۰، صفحات ۸۲ تا ۹۱

گزارش دو miRNA 383 و 380-3p به داشتن نقش در تمایز سلول‌های عصبی

مرضیه موذنی[۱]، زهره حجتی[۱*]، فریبا اسماعیلی[۲]، علی سالاری[۳،۴،۵]

۱. گروه زیست شناسی سلولی مولکولی و میکروبیولوژی دانشکده علوم و فناوری های زیستی، دانشگاه اصفهان. اصفهان. ایران
۲. گروه زیست شناسی گیاهی و جانوری، دانشکده علوم و فناوریهای زیستی، دانشگاه اصفهان، ایران
۳. پژوهشکده سلولهای بنیادی، مرکز تحقیقات علوم سلولی جهاد دانشگاهی، پژوهشگاه رویان، تهران، ایران
۴. موسسه اختلالات رفتاری و شناختی سالاری، کرج، ایران
۵. آزمایشگاه بیوانفورماتیک زیست سامانه نسل جدید، قم، ایران

دریافت: ۱۳۹۹/۲/۱۳ پذیرش: ۱۳۹۹/۶/۱۵

چکیده:

سابقه و هدف: مکانیسم پیچیده تمایز سلول های عصبی همیشه یک چالش بزرگ جهت شناخت جامع همه miRNA های دارای نقش در تمایز سلول های عصبی بوده است. از همین رو miRNA های زیادی در تمایز عصب شناخته‌نشده‌اند. به همین جهت استفاده از داده های حجیم با کمک علوم کامپیوتر راه حل مناسبی جهت بررسی همه جانبه miRNA های احتمالی دارای نقش در مکانیسم تمایز سلولی می‌تواند باشد. مطالعه حاضر با هدف یافتن miRNA های کلیدی در مکانیسم تمایز سلول های عصبی جهت درمان آسیب های عصبی با استفاده از سلول درمانی صورت گرفته است.

مواد و روش ها: جهت متاآنالیز داده های ترانسکریپتوم، ۵ دیتاست ماکرواری، مورد استفاده قرار گرفت. که ۴ دیتاست مربوط به بررسی ژن های افتراقی و ۱ دیتاست مربوط به miRNA های افتراقی بودند. نتایج بدست آمده ژن های افتراقی توسط دیتابیس های miRTarBase و TargetScan مورد بررسی قرار گرفت تا اینکه نتایج miRNA های بدست آمده با نتایج آنالیز miRNA های افتراقی مقایسه شد و ۴ miRNA دارای بیان افتراقی معنادار در مسیر عصبی بدست آمد. سپس توسط ابزارهای *Cytoscape* شبکه های پروتئینی و مسیرهای زیستی (Biological Process) ترسیم شد.

یافته‌ها: نتیجه متاآنالیز ۴ دیتاست ژنی، ۴۴۳ ژن و حاصل آنالیز دیتاست miRNA، ۱۴۸ miRNA، با بیان افتراقی بود. سپس ۸۰۰ miRNA دارای برهمکنش با ۴۴۳ ژن افتراقی از دیتابیس های miRNA بدست آمد که تنها ۴ miRNA دارای اشتراک با ۱۴۸ miRNA آنالیز شده، در تمایز سلول های عصبی گزارش شدند. که از این بین ۲ miRNA در مطالعات گذشته دارای گزارش بوده و تنها دو miRNA *380-3p* و *383* که در مطالعه حاضر که باقی مانده بودند گزارش شدند.

نتیجه‌گیری: به نظر می رسد که دو miRNA 380-3p و 383 در تمایز سلول های عصبی دارای اثر باشند، در نتیجه جهت سلول درمانی و بهینه سازی تمایز سلول های عصبی در این مطالعه برای اولین بار کاندید می شوند.

واژگان کلیدی: تمایز سلول های عصبی، متاآنالیز داده های ماکرواری، بیوانفورماتیک، زیست شناسی سامانه ای. miRNA

مقدمه

درمان بیماران مبتلا به ضایعه نخاعی و رفع ناتوانی این گروه از بیماران و یا بازگرداندن برخی از توانایی‌های آن‌ها بسیار با اهمیت و مورد توجه پژوهشگران بوده است. استفاده از سلول‌درمانی و جایگزینی سلول‌های مرده یا آسیب‌دیده با سلول‌های جدید یکی از راهکارهای نوین درمان برای این بیماران است. از آنجا که سلول‌های بنیادی توانایی خودنوزایی و تبدیل به سلول‌های دیگر را دارند، می‌توان از آن‌ها برای درمان استفاده نمود. با توجه به اینکه کارآیی سلول‌های عصبی متمایزشده پس از پیوند کم است استفاده از روش‌های محرک رشد و بقای سلول‌های پیوندی بایستی مورد بررسی بیشتری قرار گیرد تا سلول درمانی با موفقیت بیشتری انجام شود. میزان بیماری‌های زوال دستگاه عصبی مانند آلزایمر، پارکینسون، هانتینگتون و اماس در بسیاری از کشورهای جهان رو به افزایش است (۱). این بیماری‌ها در اثر تخریب سلول‌های عصبی و ضعف یا از بین رفتن عملکرد آن‌ها و در نتیجه تجمع پروتئین‌های سمی در دستگاه عصبی مرکزی (Central Nervous System) (CNS) ایجاد می‌شوند. اگرچه مطالعه و پژوهش در زمینه درمان این بیماری‌ها نظیر درمان با سلول بنیادی و محافظت از دستگاه عصبی از اهمیت بالایی برخوردار است، اما هنوز این مطالعات در مراحل ابتدایی خود هستند. در حال حاضر درمان‌هایی که برای این بیماری‌ها در دسترس است فاقد کارآیی کافی است و در اکثر موارد فقط می‌توان بخش کوچکی از علایم را به‌طور موقت کاهش داد. دانشمندان به‌طور جدی در حال انجام پژوهش هستند تا بتوانند درمان‌هایی برای انواع گوناگونی از بیماری‌ها به‌ویژه بیماری‌های زوال بافت دستگاه عصبی مانند اماس پیدا کنند. برخی از روش‌های درمان این بیماری‌ها عبارتند از کاهش سطح پروتئین‌های تجمع‌یافته با استفاده

نویسنده مسئول: زهره حجتی
پست الکترونیک: z.hojati@sci.ui.ac.ir

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2025-12-14]

از روش‌های محدودسازی نفوذپذیری سد خونی- مغزی، استفاده از فاکتورهای رشد به منظور حمایت از سلول‌های عصبی آسیب دیده، دارو درمانی و سلول‌درمانی (۲, ۳). استفاده از سلول‌های بنیادی امیدهای تازه‌ای را برای ترمیم بافت‌های عصبی آسیب دیده فراهم آورده است. مطالعات آزمایشگاهی نشان داده است که سلول‌های بنیادی می‌توانند به انواع بافت‌های دیگر تمایز یابند. سلول‌های تمایزیافته قادرند از طریق جریان خون به‌سمت مغز حرکت نموده و توسط قسمت‌های آسیب‌دیده جذب شوند. امروزه شاهد پیشرفت‌های چشم‌گیری در عرصه‌ی سلول‌های بنیادی هستیم که راه‌های نوینی را برای درمان تعدادی از بیماری‌ها از جمله بیماری‌های زوال عصبی پیش رو گذاشته است (۴, ۵). سلول‌های حاصل از تمایز سلول‌های بنیادی مستقیما به درون CNS پیوند زده می‌شوند و یا به عروق خونی به صورت درون‌وریدی (Intravenous) یا درون‌شریانی (Intra-arterial) تزریق می‌شوند(۶). در سال‌های اخیر، روش‌های آزمایشگاهی زیادی توسعه یافته‌اند که امکان تولید سلول عصبی از سلول‌های پرتوان را در فرآیند کشت سلول فراهم می‌کنند(۷-۹). رده P19 نوعی سلول بنیادی کارسینومای جنینی پرتوان است که در صورت تیمار با اسیدرتینوئیک به انواع سلول‌های ناشی از نورواکتودرم متمایز می‌شود این سلول ها قابلیت تمایز سریع دارند و بدون نیاز به القای مواد سمی می توانند به سلول های عصبی متمایز شوند. همچنین سلول های p19 از نظر ژنتیکی قابلیت دستکاری دارند و از این رو پتانسیل استفاده در سلول درمانی را دارا خواهند بود.(۱۰-۱۲) .

تمایز سلول‌های بنیادی به سلول‌های عصبی نیاز به تحقیق و پژوهش فراوان دارد چرا که مکانیسم مولکولی آن دارای پیچیدگی های زیادی است که نیاز استفاده هرچه بیشتر از داده های حجیم زیستی در سطح رونویسی و بیان ژنی را محسوس تر می کند. امروزه ابزارهای بیوانفورماتیک و سیستم بیولوژی نقش بسزایی در بررسی فرآیندهای پیچیده زیستی ایفا می کنند از این رو مطالعات زیادی برروی تمایز سلول ها با استفاده از داده های حجیم و رسم و تحلیل شبکه های پروتئینی با ابزارهای بیوانفورماتیکی و سیستم بیولوژی صورت می پذیرد(۱۳, ۱۴). مطالعه حاضر جهت درک بهتر عملکرد miRNA های دخیل در مسیر تمایز عصبی جهت استفاده در سلول درمانی صورت پذیرفته است.

مواد و روش ها

متا آنالیز بیان ژن ها:

داده های ماکروارای از دیتابیس Gene Expression Omnibus (GEO) از پایگاه NCBI به آدرس http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo استخراج شدند.

چهار دیتاست بیان ژن با شماره های دسترسی GSE27334, GSE21724, GSE68290, GSE11523 از GEO انتخاب شده و دریافت شدند که بطور کلی دارای ۱۷ نمونه بودند که از بین آن ها ۹ نمونه به عنوان کنترل و ۸ نمونه به عنوان تیمار در نظر گرفته شد. مجموع ژن های مشترک ۴ نمونه ۱۵۶۶۰ ژن بدست آمد. نمونه های ماکروارای توسط پکیج *limma* در محیط R آنالیز شدند(۱۵). سپس هر ۴ نمونه(جدول۱) یکدیگر مقایسه شدند که ۱۵۶۶۰ ژن مشترک گزارش شدند. حذف نویز های صورت گرفته در متاآنالیز داده های ماکروارای به جهت استفاده از دیتاست های با پلتفرم های مختلف بوسیله روش Batch effect و توسط پکیج های *ComBat* و *SVA* در محیط R صورت گرفته است(۱۶). گراف های تولید شده توسط پکیج *ggplot2* در R انجام شده است(۱۷) همچنین دیتای ریز آر ان ای (microRNA) GSE12600 توسط ابزار GEO2R (۱۸) به تنهایی آنالیز شد و ریزآر ان ای های افتراقی بدست آمدند (شکل A-۴ و جدول ۱)(۱۹). آنالیز ریز آر ان ای های مرتبط با ژن های افتراقی حاصل از متاآنالیز توسط پایگاه داده *miRTarBase* که شامل دیتاهای تایید شده در آزمایشگاه است وهمچنین پایگاه داده TargetScan که شامل دیتاهای پیش بینی شده در پایگاه *EnrichR* است صورت پذیرفت (۲۰) و نتایج آن با پروفایل بیان miRNA چک شد و miRهایی که دارای بیان افتراقی بودند استخراج شدند (شکل B-۴).

جدول ۱ : نشان‌دادن دیتا های مورد استفاده ژن ها و miRNA های افتراقی که در دو گروه سلول های بنیادی و سلول های عصبی مورد بررسی قرار گرفتند.

نام محقق	سال انتشار	نام دیتاست	نمونه کنترل	نمونه تیمار	ژن ها
Aurelien Serandour	2011	GSE27334	3	3	42586
Andrea bozzato	2010	GSE21724	4	4	35556
Marco Antonio Mendoza-Parra	2015	GSE68290	-	1	35556
Minoru S.H. Ko	2008	GSE11523	2	-	25164
مجموع	-	-	9	8	15660
نام محقق	**سال انتشار**	**نام دیتاست**	**نمونه کنترل**	**نمونه تیمار**	**miRNA**
Huang bing	2008	GSE12600	3	2	1296

سپس توسط نرم افزار Cytoscape و پلاگین GeneMania شبکه پروتئینی ژن های افتراقی ترسیم شد(۲۱, ۲۲). همچنین برروی شبکه آنالیزهای GeneOntology صورت گرفت و مسیرهای زیستی (Biological Process) در شبکه بررسی شد و نتایج مسیرهایی که در شبکه فعال هستند توسط GeneMania استخراج شد(۲۳) (شکل شکل C,D,E-۴). سپس miRNA های مشترک بدست آمده (شکل F-۴) جهت بررسی اهداف ژنی آن ها به ترتیب مورد بررسی قرار گرفتند (شکل G-۴) و نهایتا با ادغام ژن های مورد هدف miRNA ها (شکل G-۴) با شبکه برهمکنشی هریک از مسیرهای زیستی (شکل E-۴) شبکه ادغامی برهمکنش miRNA های در هریک از مسیرهای زیستی ترسیم و مورد بررسی قرار گرفت (شکل H-۴). شبکه مذکور جهت بررسی های Centrality و یافتن ژن هاب شبکه توسط پلاگین CentiScaPe قرار گرفت(۲۴) (شکل J-۴).

یافته ها

متاآنالیز داده‌های ماکروارای:

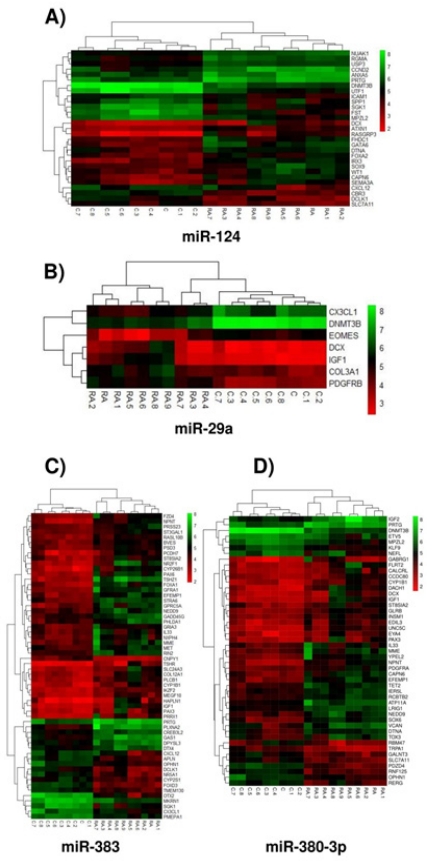
نتایج بررسی داده های بیانی ژن ۲۹۷ ژن افزایش بیان یافته ($FDR \leq 0.05$, $LogFC \geq 1$) و ۱۴۶ ژن کاهش بیان یافته ($FDR \leq 0.05$, $LogFC \leq -1$) را در پی داشت که مجموعا تعداد ۴۴۳ ژن افتراقی در مسیر تمایز عصبی بدست آمد (جدول مکمل ۱). همچنین نتیجه بررسی داده ماکروارای ریزآر ان ای ($FDR \leq 0.05$, $LogFC \geq 1$, $logFC \leq -1$) شامل ۶۸۲ miR افتراقی از سه ارگانیسم (has, mmu, rno) بود که پس از فیلتر دیگر ارگانیسم ها miRNA موشی (mmu) شامل ۱۴۸ miR افتراقی بود که ۶۸ miRNA افزایش بیان یافته در تمایز عصبی و ۸۰ miRNA کاهش بیان یافته در تمایز عصبی گزارش شد(جدول مکمل ۱).

آنالیز دیتابیس های miRNA:

برای این منظور ۴۴۳ ژن افتراقی حاصل متاآنالیز در دو دیتابیسی که نتایج آنها از مطالعات آزمایشگاهی و پیش بینی بدست آمده است وارد و آنالیز شد که نتایج بدست آمده از داده های آزمایشگاهی (دیتابیس *miRTarBase*) ۲ miRNA موشی miR-29a و miR-124 است که در جدول ۲ گزارش شده است. همچنین نتایج بدست آمده از miRNA های پیش بینی شده از دیتابیس *TargetScan* شامل ۲۵۲ miRNA موشی بود که پس از تطبیق و اشتراک گذاری با ۱۴۸ miRNA بدست آمده دارای بیان افتراقی (جدول مکمل ۲) دو miRNA $380\text{-}3_p$, 380 گزارش شدند که به ترتیب افزایش و کاهش بیان یافته اند و دارای ارتباط و برهمکنش با ۴۴۳ ژن افتراقی نیز می باشند (جدول ۲).

جهت بررسی بیشتر اهداف miRNA های مشترک (جدول۱) ژن های هدف آن ها مورد بررسی بیشتر بوسیله نمودار هیت مپ (Heatmap) قرار گرفت (شکل ۱).

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2025-12-14]



شکل ۱: به ترتیب هر پلات نشان دهنده اثر یکی از miRNA های جدول ۲ است که بروی ژن های افتراقی اثرشان بررسی شده است و بصورت Heatmap پلات بیان ژن ها را مشخص کردندکه در تمایز عصب از خود نشان داده اند ستون های این پلات Heatmap شامل هر نمونه ماکرواری است که آنالیز شده است که شامل ۱۰ نمونه پروفایل بیان تیمار سلول های عصبی القا شده با رتینوئیک اسید(RA) و ۹ نمونه پروفایل بیان کنترل (C) سلول های بنیادی است. به همین صورت از نمونه a) شامل تغییر بیان ژن های متاثر از miR-124 می باشد همچنین B) ژن های متغییر متاثر از miR-29a می باشد که این دو کاندید نتایج آزمایشگاهی دیتابیس miRTarBase می باشند. C) نشان دهنده تغییر بیان ژن های متاثر از miR-380-3p می باشد. D) نشان دهنده تغییر بیان ژن های متاثر از miR-383 می باشد

ترسیم شبکه پروتئینی:

جهت ترسیم شبکه برهمکنش پروتئینی نتایج بدست آمده از ژن های افتراقی (۴۴۳ ژن افتراقی) سلول های تمایز یافته عصبی از ابزار *GeneMania* در محیط Cytoscape استفاده شد که همزمان عملکرد شبکه را با آنالیز مسیرهای زیستی (Biological process) نیز انجام می دهد. نتایج شبکه پروتئینی شامل ۴۵۹ گره و ۳۰۹۸۰ یال می باشد که نزدیک به ۱۶ گره حدواسط در شبکه دارای نقش هستند (شکل D-۴). شبکه پروتئینی بدست آمده مورد آنالیز مسیرهای زیستی قرار گرفت و چهار مسیر anterior/posterior pattern specification, stem cell differentiation, forebrain development, neural tube development در مورد تمایز سلول های عصبی از ۸۰۰ مسیر یافت شده مورد توجه قرار گرفت(جدول ۳).

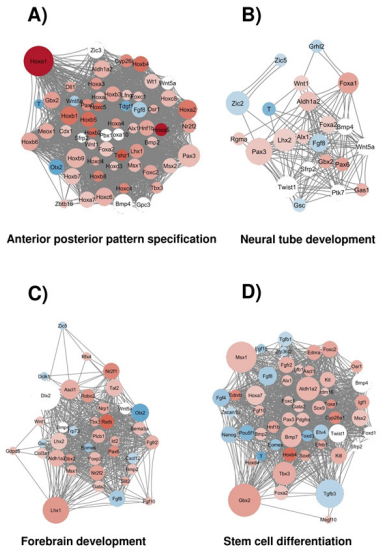
در ادامه بررسی مسیرهای زیستی بدست آمده از شبکه اصلی استخراج زیرشبکه برهمکنشی هر مسیر مورد بررسی قرار گرفت و نتیجتا شبکه برهمکنشی چهار مسیر زیستی بدست آمده استخراج گردید و مورد بررسی قرار گرفت بطوریکه به نسبت افزایش و کاهش ژن های افتراقی به رنگ های قرمز و آبی نمایش داده

جدول ۲: miRNA های بدست آمده از دو دیتابیس نتایج آزمایشگاهی (miRTarBase) و پیش بینی (TargetScan) که دارای برهمکنش با ژن های تغییربیان یافته بودند و همچنین تغییر بیان معنادار نیز از آن ها گزارش شده بود.

Database	miRNA_ID_LIST	adj.P.Val	P.Value	logFC
miRTarBase	mmu-miR-124	1.15E-27	8.89E-31	4.94191
	mmu-miR-29a	2.28E-03	4.88E-04	-1.48268
TargetScan	mmu-miR-380-3p	0.00261	0.000584	1.46191
	mmu-miR-383	0.00245	0.000538	-1.47147

جدول ۳: ستون اول شامل نام مسیر زیستی می باشد ستون دوم شامل کیفیت آنالیز می باشد که کمتر یا مساوی ۰٫۰۵ فیلتر شده است تعداد ژن های فعال در شبکه را نشان می دهد و ستون آخر تعداد ژن های فعال در ژنوم را در هر مسیر زیستی نشان می دهد.

Description	q-value	Occurrences in Sample	Occurrences in Genome
anterior/posterior pattern specification	1.55E-45	59	204
stem cell differentiation	1.72E-28	52	297
forebrain development	1.33E-16	38	282
neural tube development	2.67E-10	22	147



شکل ۲: شبکه پروتئینی چهار مسیر زیستی است که سه مسیر آن در تمایز عصبی حائز اهمیت می باشند بطوریکه شکل A) شامل ژن های مسیر anterior/posterior pattern specification می باشند که شامل ۵۲ ژن افتراقی معنا دار و ۷ ژن افتراقی غیر معنا دار با رنگ سفید مشخص شده اند و ژن های افزایش بیان یافته با رنگ قرمز و کاهش بیان یافته ها با رنگ آبی نمایش داده شدند ژن هاب شبکه *HOXA1* گزارش شده است. B) مسیر *Neural tube development* شامل ۲۲ ژن و ۱۷۳ برهمکنش گزارش شده است که ۵ ژن با بیان غیرمعنادار (رنگ سفید) و ۶ ژن کاهش بیان یافته (رنگ آبی) و ۱۱ ژن افزایش بیان یافته می باشد که ژن هاب شبکه ژن افزایش بیان یافته PAX3 گزارش شده است. C) مسیر forebrain development شامل ۳۸ ژن و ۵۹۷ برهمکنش گزارش شده است که ۳ ژن با بیان غیرمعنادار (رنگ سفید) و ۸ ژن کاهش بیان یافته (رنگ آبی) و ۲۷ ژن افزایش بیان یافته می باشد که ژن هاب شبکه ژن افزایش بیان یافته LHX1 گزارش شده است. D) مسیر *stem cell differenctiation* شامل ۵۲ ژن و ۱۱۹۶ برهمکنش گزارش شده است که ۴ ژن با بیان غیرمعنادار (رنگ سفید) و ۱۳ ژن کاهش بیان یافته (رنگ آبی) که در بین آنها ژن های پرتوانی هم چون *NANOG, POU5f1* کاهش بیان یافته بودند و ۳۵ ژن افزایش بیان یافته می باشد که ژن هاب شبکه ژن افزایش بیان یافته *GBX2* گزارش شده است.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2025-12-14]

شدند همینطور برای هر شبکه آنالیز Centrality جهت نمایاندن ژن هاب شبکه انجام شد و اندازه هر گره را متناسب با امتیاز بدست آمده از معیار Betweenness که معیار Centrality هر گره می باشد تنظیم شد. لذا در شبکه مسیرزیستی anterior posterior ژن HOXA1 با افزایش بیان نزدیک به ۴ فولدچنج خود و دارا بودن بزرگترین اندازه گره ای با توجه به بیشترین امتیاز Betweenness که به خود ثبت کرده است به عنوان ژن هاب شبکه مشخص شد همچنین PAX3 به عنوان رقیب نزدیک به او با کمی اختلاف در رده دوم قرار گرفت(شکل ۲-A). به همین نسبت برای مسیر زیستی Neural tube ژن هاب شبکه به PAX۳ تعلق گرفت (شکل ۲-B) همچنین در شبکه پروتئینی مسیر Forbrain development ژن افزایش بیان یافته LHX1 خود را با بیشترین امتیاز بعد از DLX2 به عنوان هاب گزارش کرد به این جهت که DLX2 از جمله ژن های حدواسط و بدون بیان افتراقی است لذا به عنوان ژن هاب گزارش نشد و در عوض LHX1 افزایش بیان یافته را هاب ژن زیرشبکه مسیرزیستی forbrain development در نظر گرفته شد (شکل ۲-C) و در آخر مسیر سلول های بنیادی ژن افزایش بیان یافته GBX2 به عنوان ژن هاب شبکه مسیرزیستی سلول های بنیادی در نظر گرفته شد درحالیکه ژن های NANOG و POU5F1 به عنوان یکی از مارکرهای پرتوانی سلول های بنیادی کاهش بیان مشخصی را در شبکه نمایان کرده اند (شکل ۲-D).

پس از آنکه شبکه برهمکنشی پروتئین های مسیرهای زیستی ترسیم شد(شکل۲) و بررسی های لازم جهت یافتن ژن های مهم شبکه صورت پذیرفت جهت بررسی نقش miRNA های مورد مطالعه (جدول ۲) در هریک از مسیرهای زیستی، به طور همزمان نقش miRNA ها در شبکه ها مورد بررسی قرار گرفت(شکل ۳).

اثر miRNA ها بروی مسیر زیستی anterior/posterior pattern specification بصورتی است که در این فرآیند ۶۱ گره و ۱۲۴۸برهمکنش نشان داده شده است که miRNA 380-3p با اتصال به PAX3 و miR-124a با اتصال به دو ژن FOXA2, FOXC2 و miR-383 با اتصال به ۴ ژن PAX3, PAX6, TSHZ, OTX2 گزارش شده است همچنین PAX3 به عنوان هاب شبکه گزارش شده است (شکل ۳-A).

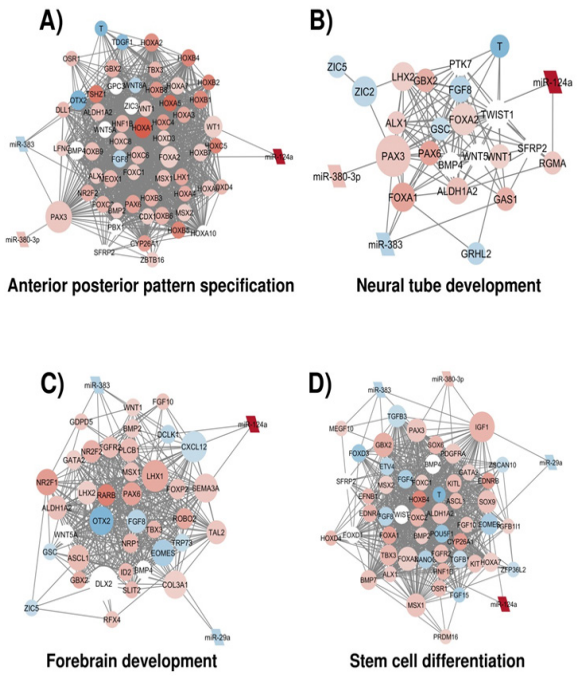
همینطور در ادامه مسیر neural tube development که مسیر تکوین شیار عصبی می باشد دارای ۲۴ گره و ۱۱۴ برهمکنش می باشد که هاب شبکه PAX3 گزارش شده است و miR-380-3p با اتصال به PAX3 و miR-124a با اتصال به دو ژن FOXA2 و RGMA و miR-383 با اتصال به چهار ژن PAX3, PAX6, FOXA1 و GAS1 گزارش شده است (شکل ۳-B).

مسیر زیستی forebrain development که شامل ۴۰ گره و ۴۲۶ برهمکنش است نشان دهنده miR-29a با اتصال به دو ژن EOMES و COL3A1 و همچنین miR-124a با اتصال به سه ژن DCLK1, CXCL12 و SEMA3A و miR-383 با اتصال به ۶ ژن PAX6, OTX2, CXCL, DCLK1, NR2F1 و PLCB1 می باشد که دارای ارتباط موثر در شبکه هستند همینطور هاب شبکه LHX۱ گزارش شده است(شکل ۳-C).

شبکه برهمکنشی مسیرزیستی تمایز سلول های بنیادی که با ۵۵ گره و ۸۱۵ برهمکنش و چهارmiRNA 380-3p, 383, 124a, 29a نمایش داده شده است که هاب شبکه شامل IGF1 می باشد و miR-124a با اتصال به دو ژن FOXA2 و SOX9 و همینطور miR-29a با ۲ اتصال به EOMES و IGF1 و miR-380-3p با ۴ اتصال به PAX3, IGF1, SOX6, PDGFRA گزارش شده است همینطور miR-۳۸۳ با ۵ برهمکنش با ژن های PAX3, IGF1, FOXA1, FOXD3, MEGF10 نشان داده شده است (شکل ۳-D).

بحث

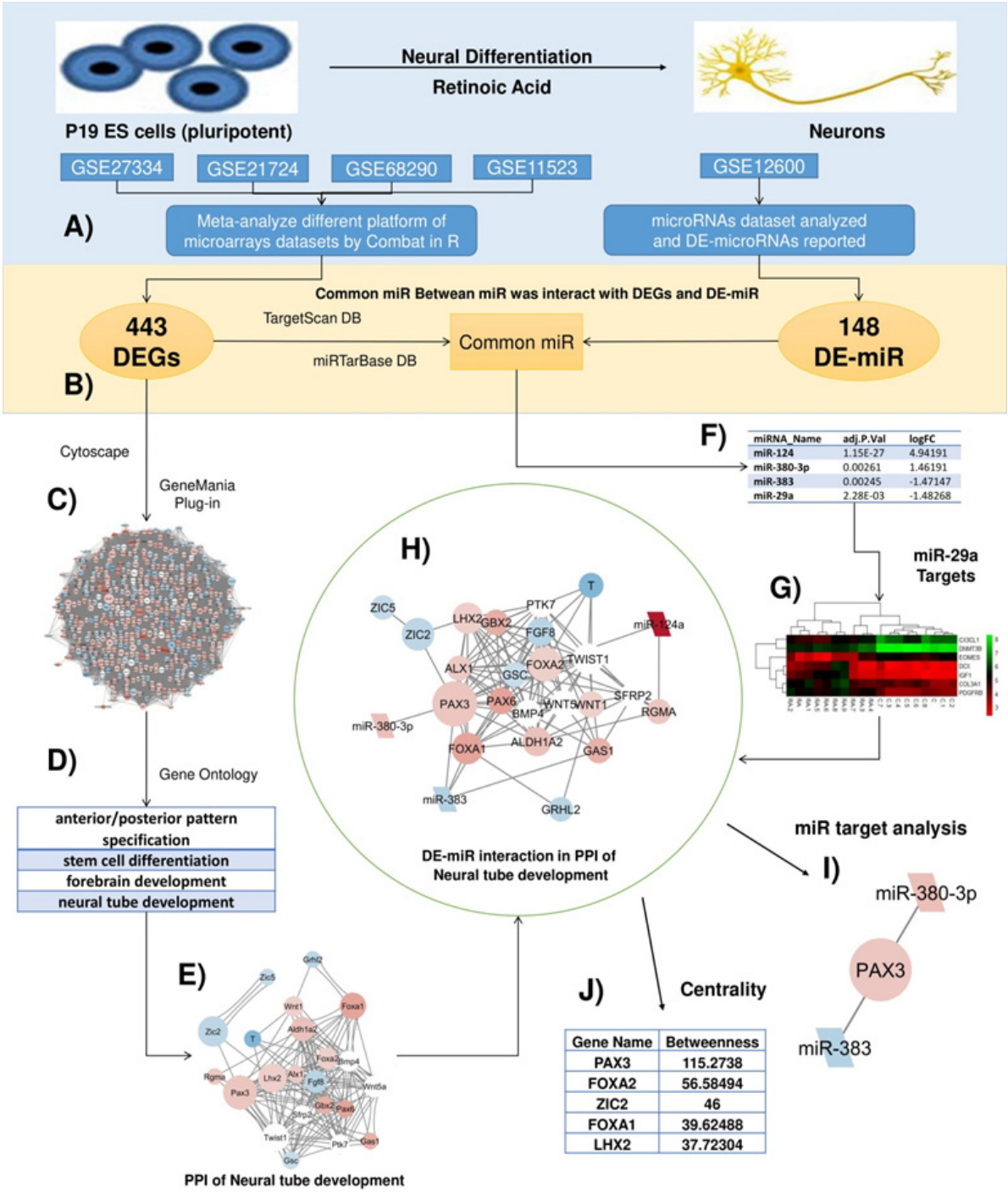
در مطالعه حاضر تعداد ۵ دیتاست مورد بررسی قرار گرفت که چهار دیتاست مربوط به بررسی پروفایل بیانی ژن های افتراقی مسیر تمایز سلول های عصبی از سلول های بنیادی است که بصورت متاآنالیز مورد بررسی قرار گرفتند و همینطور یک دیتاست مربوط به miRNA های افتراقی تمایز



شکل ۳: اثر miRNA ها بروی هر یک از مسیرهای زیستی مربوط به تمایز عصب را نشان می دهد شکل A) نشان دهنده اثر miRNA ها بروی مسیر زیستی *anterior/posterior pattern specification* در این فرآیند ۶۱ گره و ۱۲۴۸برهمکنش نشان داده شده است که miRNA 380-3p با اتصال به PAX3 و miR-124a با اتصال به دو ژن FOXA2, FOXC2 و miR-383 با اتصال به ۴ ژن PAX3, PAX6, TSHZ, OTX2 گزارش شده است همچنین PAX3 به عنوان هاب شبکه معرفی شده است. همینطور شکل B) نشان دهنده مسیر neural tube development می باشد این شبکه دارای ۲۴ گره و ۱۱۴ برهمکنش می باشد که هاب شبکه PAX3 گزارش شده است همینطور miR-380-3p با اتصال به PAX3 و miR-124a با اتصال به دو ژن FOXA2 و RGMA و miR-383 با اتصال به چهار ژن PAX3, PAX6, FOXA1 و GAS1 نمایان شده است همینطورشکل C) مسیر زیستی forebrain development می باشد که شامل ۴۰ گره و ۴۲۶ برهمکنش ثبت شده است که miR-29a با اتصال به دو ژن EOMES و COL3A1 و همچنین miR-124a با اتصال به سه ژن DCLK1, CXCL12 و SEMA3A و miR-383 با اتصال به ۶ ژن PAX6, OTX2, CXCL, DCLK1, NR2F1 و PLCB1 دارای ارتباط موثر در شبکه می باشند همینطور هاب شبکه LHX1 گزارش شده است . اما شکل D) نشان دهنده شبکه برهمکنشی مسیرزیستی تمایز سلول های بنیادی است که با ۵۵ گره و ۸۱۵ برهمکنش و چهار miRNA 29a, 380-3p, 383, 124a نمایش داده شده است که هاب شبکه شامل IGF1 می باشد و miR-124a با اتصال به دو ژن FOXA2 و SOX9 و همینطور miR-29a با ۲ اتصال به EOMES و IGF1 و miR-380-3p با ۴ اتصال به PAX3, IGF1, SOX6, PDGFRA گزارش شده است همینطور miR-383 به ۵ ژن PAX3, IGF1, FOXA1, FOXD3, MEGF10 نشان داده شده است.

سلول های عصبی از سلول های بنیادی است که مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۱) و برای هرکدام به ترتیب ۴۴۳ و ۱۴۸ ژن و miRNA دارای بیان افتراقی گزارش شدند(جدول مکمل ۱ و ۲). از بین ۱۴۸ miRNA دارای بیان افتراقی ۴ miRNA به عنوان miRNA مشترک دارای برهمکنش با ژن های افتراقی (۴۴۳) حاصل متاآنالیز گزارش شدند (جدول ۲). جهت بررسی بیشتر ژن های افتراقی (۴۴۳) شبکه برهمکنشی آن ها ترسیم شد(شکل ۴-C) و با آنالیز عملکردی شبکه ترسیم شده مسیرهای زیستی مهم در تمایز سلول های عصبی نظیر تمایز سلول های بنیادی (Stem cell differentiation)، anterior posterior pattern specification، تکوین مغز جلویی (forebrain development) و البته تکوین شیار عصبی (Neural tube development) بدست آمد(جدول ۳ و شکل ۴-D) در

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2025-12-14]



miRNA_Name	adj.P.Val	logFC
miR-124	1.15E-27	4.94191
miR-380-3p	0.00261	1.46191
miR-383	0.00245	-1.47147
miR-29a	2.28E-03	-1.48268

Gene Name	Betweenness
PAX3	115.2738
FOXA2	56.58494
ZIC2	46
FOXA1	39.62488
LHX2	37.72304

شکل ۴: به شکل کشاندن نحوه تشکیل شبکه برهمکنش miRNA ها و ژن های افتراقی است. به صورتی که A) چهاردیتاست ماکرواری سلول های عصبی و سلول های بنیادی به صورت متاآنالیز بررسی شدند و ۴۴۳ ژن افتراقی بدست آمد همینطور یک دیتاست miRNA سلول های عصبی و بنیادی نیز مورد بررسی قرار گرفت که ۱۴۸ miRNA با بیان افتراقی گزارش شدند. B) ژن های افتراقی شامل ۴۴۳ ژن جهت یافتن miRNA هایی که قابلیت اتصال را بروی آن ها دارند را توسط دو دیتابیس TargetScan, miRTarBase انجام شد و نتایج miRهای بدست آمده با miRهای افتراقی مورد بررسی قرار گرفت و miRهای مشترک آن ها را جداسازی شد. C) همچنین جهت بررسی شبکه برهمکنشی پروتئینی ژن های افتراقی بدست آمده (۴۴۳ ژن) توسط پلاگین GeneMania از دیتابیس های PPI نتایج بدست آمد و شبکه ای با ۴۵۹ گره و ۳۰۹۸۰ یال ترسیم شده است. D) شبکه برهمکنشی را مورد آنالیز Gene Ontology قرار داده و مسیرهای مهم مربوط به تمایز سلول های عصبی را پس از استخراج گزارش شد. E) شبکه برهمکنش هریک از مسیرهای زیستی بدست آمده را از شبکه PPI جداسازی نموده. F) miRNA های مشترک مابین miRNA های تغییر بیان داده شده و همینطور miRNA های دارای اتصال با ۴۴۳ ژن افتراقی بدست آمد که شامل چها miRNA 124, 29a, 383,380-3p می شد. که 124 و 380-3p افزایش بیان و 29a و 383 کاهش بیان را از خود نشان دادند. G) جهت بررسی اهداف هریک از miRNA های مشترک بدست آمده هیت مپ آن ترسیم شد و جهت بررسی تاثیر آن در هریک از مسیرهای زیستی به شبکه برهمکنش هرکدام از مسیرها جهت بررسی بیشتر اضافه شد. H) ادغام برهمکنش miRNA های مشترک به همراه اهداف ژنی آن ها با شبکه برهمکنش هریک از مسیرهای زیستی به صورت جداگانه جهت بررسی تاثیر miRNA های 124, 29a, 383, 380-3p بروی شبکه های زیستی مهم تمایز سلول های عصبی بررسی شد. J) اهداف miRNA ها در شبکه های اغذامی بدست آمده جهت مطالعه استخراج و بررسی شد. J) آنالیز Centrality جهت بررسی ژن های هاب هر یک از شبکه های اغذامی صورت گرفت که بروی شبکه Neural tube development به ترتیب PAX3 و FOXA2 بالاترین امتیاز Betweenness را بدست آورده است که هاب شبکه به این ترتیب ژن PAX3 گزارش شده است.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2025-12-14]

ادامه جهت بررسی برهمکنش های هریکی از مسیرهای بدست آمده شبکه پروتئینی هرکدام استخراج و مورد مطالعه قرار گرفت(شکل E-۴). جهت بررسی تاثیر miRNA های مشترک(جدول ۲) بروی هریک از مسیرهای زیستی مهم در تمایز سلول های عصبی(جدول۳) هریک از miRNA ها به همراه اهداف ژنی آن ها مورد بررسی قرار گرفت (شکل G-۴) و سپس با شبکه پروتئینی هریک از مسیرهای زیستی (شکل E-۴) ادغام شد (شکل H-۴). در نهایت پس از بررسی ژن هاب هر شبکه ادغام شده (شکل J-۴) و هریک از ژن های مورد هدف miRNA های در شبکه جهت بررسی تاثیر هریک از miRها مورد مطالعه قرار گرفت (شکل I-۴). در نتیجه پس از بررسی و مطالعه ۴ miRNA بدست آمده (جدول۲) miRNA a124 و 29a که قبلا در تمایز سلول های عصبی نقش آن ها گزارش شده بود (۲۹, ۳۰) مورد توجه بیشتری جهت الگوگیری رفتاری برای بررسی miRNA های 383 ,380-3p که نقش آن ها در تمایز سلول های عصبی همچنان گزارش نشده است قرار گرفت.

بررسی برهمکنش ها در مسیر anterior posterior pattern specification نشان می دهد که miRNA 124a با دو ژن افزایش بیان یافته FOXA2 و WT1 دارای برهمکنش می باشد که FOXA2 در تمایز سلول های عصبی دارای نقش می باشد(۳۱) همچنین عملکرد ژن افزایش بیان یافته WT۱ جهت تکوین طبیعی سلول های شبکیه چشم ضروری می باشد (۳۲) و همینطور در پیشرفت فرآیند تمایز و فعالسازی بازبرنامه ریزی (Reprogramming) سلول های عصبی دارای عملکرد می باشد(۳۳). به همین صورت miRNA 383 با اتصال به PAX3 به عنوان هاب و همینطور یکی از ژن های موثر در تشکیل مغز میانی MidBrain (۳۴, ۳۵) و همینطور با داشتن برهمکنش با ژن PAX6 که در تکوین شبکیه چشم نقش تعیین کننده ای دارد(۳۶) و البته در تمایز سلول های عصبی بازی کرده است(۳۷-۳۹) فاکتور رونویسی PAX6 که از خانواده ژن های تنظیمی و از ژن های کلیدی کنترل کننده بیان ژن ها است که اهمیت آن تاجایی است که کاهش بیان آن با کوچک شدن اندازه مغزرابطه مستقیمی دارد بطوریکه مغز می تواند در معرض خطر بیماری هایی نظیر اوتیسم قرار بگیرد(۴۰) لذا PAX6 فاکتور رونویسی بسیار مهمی است که miRNA 383 برای آن دارای برهمکنش گزارش شده است(شکل A-۳). ضمن اینکه با بررسی سومین برهمکنش miRNA 383 یعنی فاکتور رونویسی OTX2 که با القا چرخه سلولی و مهار تمایز سلولی دارای نقش مهمی است که مطالعات نشان داده است که به هنگام مهار OTX2 تمایز سلول های عصبی دیده شده است(۴۱) می توان به عنوان miRNA مهمی جهت تنظیم شبکه پروتئینی anterior posterior pattern specification در نظر گرفت(شکل A-۳). همینطور miRNA 380-3p نیز که دارای افزایش بیان نیز می باشد با نشان دادن برهمکنش با PAX3 که ژن هاب شبکه anterior posterior pattern specification می باشد و نقش آن در تمایز سلول های بنیادی (۴۲) و همینطور تکوین مغز میانی گزارش شده است(۳۴, ۳۵) نیز می تواند خود را به عنوان miRNA مهمی در تمایز سلول های عصبی و مسیر anterior posterior pattern specification کاندید کند(شکل A-۳).

بررسی های miRNA ها در مسیر Neural tube development نشان داد که miRNA 124a با دو برهمکنش با ژن FOXA2 که در تمایز سلول های عصبی دارای نقش می باشد (۳۱) و همینطور ژن افزایش بیان یافته RGMA که در مسیر تمایز سلول های عصبی نقش های مختلفی از آن گزارش شده است(۴۳) دارای اهمیت می باشد. همینطور برای miRNA 380-3p محدود به اتصال به PAX3 است اما برای miRNA 383 محدود به PAX3, PAX6 نمی شود و اتصال آن با ژن افزایش بیان یافته GAS1 که نقش آن در تمایز سلول های عصبی گزارش شده است(۴۴) و همینطور ژن افزایش بیان یافته FOXA1 که با افزایش بیان خود باعث تحریک تمایز عصبی در سلول های بنیادی P19 می شود(۴۵) و همینطور نقش تنظیم گری آن در تکوین نورون های مغز میانی در مطالعات دیگر گزارش شده است(۴۶) می توانند به اهمیت نقش miRNA 383 در تمایز سلول های عصبی بیافزاید(شکل B-۳).

نتایج بررسی های برهمکنش های miRNA ها در مسیر تکوین مغز جلویی Forebrain development نشان داد که miRNA 124a دارای سه برهمکنش می باشد که دو برهمکنش آن با ژن های کاهش بیان یافته DCLK1 و CXCL12 که هر دو در مهاجرت سلولی دارای نقش می باشند(۴۷, ۴۸) است و برهمکنش سوم با ژن افزایش بیان یافته SE-MA3A می باشد که miR-124a جهت کنترل رشد شکل مخروطی سلول های شبکیه از طریق ژن SEMA3A عمل می کند(۴۹). همچنین miRNA 29a دارای دو برهمکنش با ژن افزایش بیان یافته COL3A1 که در سلول های فیبروبلاست جهت تولید کلاژن دارای اهمیت است(۵۰) همچنان نقشی در سلول های عصبی از آن شناخته نشده است و برهمکنش دوم 29a با فاکتور رونویسی کاهش بیان یافته EOMES می باشد که تنظیم کننده رشد و تکوین سلول های عصبی است(۵۱) و همچنین بیان شدن آن در هنگام تمایز سلول های عصبی گزارش شده است(۵۲) است. همینطور miRNA دیگری که دارای برهمکنش در شبکه پروتئینی مسیر تکوین مغز جلویی (forebrain development) دارای برهمکنش دیده می شود miRNA کاهش بیان یافته 383 می باشد که با مجموعا ۶ پروتئین دارای برهمکنش گزارش شده است(شکل D-۳) بجز پروتئین PAX6, OTX2 که به تفصیل درباره اهمیت آنها صحبت شد پروتئین CXCL12 در بلوغ سیستم اعصاب مرکزی (CNS) با میانجی گری در مهاجرت و تکثیر سلولی دارای اهمیت بسزایی است(۴۷). همینطور برای پروتئین کیناز کاهش بیان یافته DCLK1 مهاجرت سلول های عصبی(نورونی) به مانند CXCL12 گزارش شده است(۴۸). اهمیت NR2F1 افزایش بیان یافته در سلول های عصبی در حدی است که جهش آن باعث بیماری ناتوانی ذهنی می شود(۵۳) همینطورعملکرد بسیار مهمی در مهاجرت و تمایز تعیین سرنوشت سلولی ایفا می کند(۵۴) با این همه بیشترین بیان را به ترتیب در سلول های عصب چشمی و تالاموس و پالیوم(کورتکس آینده) از خود در طول تکوین عصبی از خود نشان داده است(۵۵-۵۷). همچنین PLCB1 افزایش بیان یافته در زنده مانی، تمایز و تکوین سلول های عصبی گزارش شده است(۵۸). لذا اهمیت miRNA 383 در شبکه برهمکنش ژن های مسیر زیستی تکوین مغزجلویی (forebrain development) نیز حائز اهمیت بسزایی است و می تواند کاندید دارای نقش موثری در تمایز و تکوین سلول های عصبی باشد(شکل C-۳).

همینطور جهت بررسی شبکه برهمکنش مسیر تمایز سلول های بنیادی (Stem cell differentiation) برهمکنش چهار miRNA 29a, 383, 380-3p, 124a مورد بررسی قرار گرفت و هرکدام به ترتیب دارای ۲ ,۵ ,۴ ,۲ برهمکنش در شبکه می باشند که miR-29a نشان دهنده دو اتصال به EOMES که نقش آن در تمایز سلول های عصبی توضیح داده شد و همینطور IGF1 که نقش تنظیم گری آن در تمایز سلول های عصبی گزارش شده است(۵۹, ۶۰). miRNA دیگری که در مسیر تمایز سلول های بنیادی (Stem cell differentiation) دارای برهمکنش گزارش شده است miR-124a می باشد که با برهمکنش با ژن افزایش بیان یافته FOXA2 که در مسیرتمایز و تکوین سلول های عصبی دارای نقش است(۳۱) همچنین هدف دیگر miRNA 124a ژن افزایش بیان یافته SOX9 است که بیان آن در تمایز سلول های شبکیه لازم می باشد(۶۱) همینطور جهت القا و حفظ سلول های بنیادی نورونی دارای اهمیت می باشد(۶۲). همچنین miRNA 383 دارای ۵ ارتباط می باشد که اهمیت ژن های FOXA1, IGF1, PAX3, در تمایز سلول های عصبی عنوان شد. همچنین ژن کاهش بیان یافته FOXD3 که باعث پیشرفت مسیر نورال کرست (Neural crest) و تنظیم مهار تمایز سلول عصبی می شود (۶۳) یکی دیگر از اهداف miRNA 383 می باشد به علاوه که افزایش بیان FOXD3 جهت حفظ سلول های پروژنیتور نورال کرست نیز الزامی است(۶۴). هدف دیگر miR-383 ژن افزایش بیان یافته MEGF10 می باشد که رسپتور آپوپتوز سلول های آستروسیت است(۶۵) همچنین جهت فاصله موزائیکی بین سلول های شبکیه نیز دارای اهمیت می

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2025-12-14]

باشد(۶۶) و البته در سلول های نوروبلاستوما نیز عملکرد مهارگری تومور را از خود نشان داده است(۶۷). همچنین miRNA 380-3p نیز دارای ۴ برهمکنش در شبکه پروتئینی مسیر تمایز سلول های بنیادی است که شامل ژن های افزایش بیان یافته IGF1, PAX3, PDGFR, SOX6 است که در رابطه با دو ژن PAX3 و IGF1 توضیحات داده شد ولی اهمیت فاکتور رونویسی SOX6 در تمایز سلول های عصبی بصورتی است که بدون القائات رتینوئیک اسید (RA) جهت تمایز با القای STAT3 قادر به راه اندازی مسیر تمایز سلول های عصبی است(۶۸، ۶۹) به همین صورت مهار SOX6 باعث توقف تمایز سلول های عصبی و راه اندازی مسیر آپوپتوز در سلول می شود(۷۰). لذا اهمیت miR-380-3p با داشتن اتصال به SOX6 در موضوع تمایز سلول های عصبی بسیار افزایش پیدا می کند همچنین هدف دیگر این miRNA ژن افزایش بیان یافته PDGFR است که در متاستاز سلول های مادری سرطان و همچنین عملکرد رگزایی سلول های سرطانی نقش ایفا می کند(۷۱، ۷۲) همچنین نقش آن در تمایز سلول های عصبی نامشخص می باشد(شکل D-۳).

miRNA 383 با داشتن نقش موثری در هر چهار مسیر مهم تمایز سلول های بنیادی و تکوین شیارعصبی و البته anterior posterior pattern specification و همچنین داشتن برهمکنش با ۱۳ ژن مهم و حیاتی PAX3, PAX6, OTX2, DCLK1, CXCL12, PLCB1, NR2F1, FOXA1, FOXD3, IGF1, MEGF10, GAS1, TSHZ که در مسیر تمایز سلول های عصبی از سلول های بنیادی، عملکرد هرکدام توضیح داده شده است می تواند دارای نقش موثری در تمایز سلول های عصبی باشد از این رو در مطالعه حاضر نقش miRNA 383 در تمایز سلول های عصبی قویا کاندید می شود.همچنین دیگر miRNA 380-3p ضمن افزایش بیان در تمایز سلول های عصبی دارای افزایش بیان معنی داری درون ناحیه هیپوکمپ مغز نیز می باشد (۷۳) از اینرو و با توجه به داشتن برهمکنش های موثری با ۴ ژن PAX3, IGF1, SOX6, PDGFRA که عملکرد آن ها به تفصیل در تمایز سلول های عصبی پیش تر گفته شد و همچنین داشتن نقش در سه مسیر مهم تمایز سلول های بنیادی و تکوین شیارعصبی و نهایتا anterior posterior pattern specification می تواند به عنوان miRNA کاندید در تمایز سلول های عصبی در مطالعه حاضر کاندید شود.

نتیجه‌گیری

مطالعه ی حاضر تلاشی است در جهت یافتن miRNA های تاثیر گذار در مسیر تمایز سلول های عصبی با استفاده از داده های حاصل از بیان ژن های افتراقی سلول های عصبی تمایز یافته از سلول های بنیادی به همراه برهمکنش های پروتئینی آن ها که نتیجتا در تحقیق حاضر با بررسی و تلفیق دو نوع داده بیان ژن و miRNA، ۲ نوع miRNA 383 و 380-3p دارای رفتار تاثیر گذار بوسیله شبکه های پروتئینی ترسیم شده پیش بینی شدند و جهت استفاده در بهینه سازی مسیر تمایز سلول های عصبی و همینطور استفاده در سلول درمانی در این مطالعه کاندید شدند.

منابع:

1.Elmann A, Telerman A, Mordechay S, Erlank H, Ofir R. Antioxidant and astroprotective effects of a Pulicaria incisa infusion. Oxidative medicine and cellular longevity. 2012;2012:157598.

2.Goldman SA, Windrem MS. Cell replacement therapy in neurological disease. Philosophical transactions of the Royal Society of London Series B, Biological sciences. 2006;361(1473):1463-75.

3.Low CB, Liou YC, Tang BL. Neural differentiation and potential use of stem cells from the human umbilical cord for central nervous system transplantation therapy. Journal of neuroscience research. 2008;86(8):1670-9.

4.Heile AM, Wallrapp C, Klinge PM, Samii A, Kassem M, Silverberg G, et al. Cerebral transplantation of encapsulated mesenchymal stem cells improves cellular pathology after experimental traumatic brain injury. Neuroscience letters. 2009;463(3):176-81.

5.Shi Kam NW, Jessop TC, Wender PA, Dai H. Nanotube molecular transporters: internalization of carbon nanotube-protein conjugates into Mammalian cells. Journal of the American Chemical Society. 2004;126(22):6850-1.

6.6.Hess DC, Borlongan CV. Stem cells and neurological diseases. Cell proliferation. 2008;41 Suppl 1:94-114.

7.Esmaeili F, Tiraihi T, Movahedin M, Mowla SJ. Selegiline induces neuronal phenotype and neurotrophins expression in embryonic stem cells. Rejuvenation research. 2006;9(4):475-84.

8.Dohrmann U, Edgar D, Thoenen H. Distinct neurotrophic factors from skeletal muscle and the central nervous system interact synergistically to support the survival of cultured embryonic spinal motor neurons. Developmental biology. 1987;124(1):145-52.

9.Bakhshalizadeh S, Esmaeili F, Houshmand F, Shirzad H, Saedi M. Effects of selegiline, a monoamine oxidase B inhibitor, on differentiation of P19 embryonal carcinoma stem cells, into neuron-like cells. In vitro cellular & developmental biology Animal. 2011;47(8):550-7.

10.Bain G, Ray WJ, Yao M, Gottlieb DI. From embryonal carcinoma cells to neurons: the P19 pathway. BioEssays : news and reviews in molecular, cellular and developmental biology. 1994;16(5):343-8.

11.Forouzanfar M, Rabiee F, Ghaedi K, Beheshti S, Tanhaei S, Shoaraye Nejati A, et al. Fndc5 overexpression facilitated neural differentiation of mouse embryonic stem cells. Cell biology international. 2015;39(5):629-37.

12.Shirzad H, Esmaeili F, Bakhshalizadeh S, Ebrahimie M, Ebrahimie E. Production of stable GFP-expressing neural cells from P19 embryonal carcinoma stem cells. Molecular and cellular probes. 2017;32:46-54.

13.Talkhabi M, Razavi SM, Salari A. Global transcriptomic analysis of induced cardiomyocytes predicts novel regulators for direct cardiac reprogramming. Journal of cell communication and signaling. 2017;11(2):193-204.

14.Yousefi M, Marashi SA, Sharifi-Zarchi A, Taleahmad S. The metabolic network model of primed/naive human embryonic stem cells underlines the importance of oxidation-reduction potential and tryptophan metabolism in primed pluripotency. Cell & bioscience. 2019;9:71.

15.Ritchie ME, Phipson B, Wu D, Hu Y, Law CW, Shi W, et al. limma powers differential expression analyses for RNA-sequencing and microarray studies. Nucleic acids research. 2015;43(7):e47.

16.Leek JT, Johnson WE, Parker HS, Jaffe AE, Storey JD. The sva package for removing batch effects and other unwanted variation in high-throughput experiments. Bioinformatics. 2012;28(6):882-3.

17.Wickham H. ggplot2: elegant graphics for data analysis: Springer; 2016.

18.Barrett T, Wilhite SE, Ledoux P, Evangelista C, Kim IF, Tomashevsky M, et al. NCBI GEO: archive for functional genomics data sets--update. Nucleic acids research. 2013;41(Database issue):D991-5.

19.Huang B, Li W, Zhao B, Xia C, Liang R, Ruan K, et al. MicroRNA expression profiling during neural differentiation of

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2025-12-14]

mouse embryonic carcinoma P19 cells. Acta biochimica et biophysica Sinica. 2009;41(3):231-6.
20.Chen EY, Tan CM, Kou Y, Duan Q, Wang Z, Meirelles GV, et al. Enrichr: interactive and collaborative HTML5 gene list enrichment analysis tool. BMC bioinformatics. 2013;14:128.
21.Cline MS, Smoot M, Cerami E, Kuchinsky A, Landys N, Workman C, et al. Integration of biological networks and gene expression data using Cytoscape. Nature protocols. 2007;2(10):2366.
22.Su G, Morris JH, Demchak B, Bader GD. Biological network exploration with Cytoscape 3. Current protocols in bioinformatics. 2014;47(1):8.13. 1-8.. 24.
23.Warde-Farley D, Donaldson SL, Comes O, Zuberi K, Badrawi R, Chao P, et al. The GeneMANIA prediction server: biological network integration for gene prioritization and predicting gene function. Nucleic acids research. 2010;38(suppl_2):W214-W20.
24.Scardoni G, Petterlini M, Laudanna C. Analyzing biological network parameters with CentiScaPe. Bioinformatics. 2009;25(21):2857-9.
25.Brandt R. Cytoskeletal mechanisms of neuronal degeneration. Cell and tissue research. 2001;305(2):255-65.
26.Skovronsky DM, Lee VM, Trojanowski JQ. Neurodegenerative diseases: new concepts of pathogenesis and their therapeutic implications. Annual review of pathology. 2006;1:151-70.
27.Vickers JC, King AE, Woodhouse A, Kirkcaldie MT, Staal JA, McCormack GH, et al. Axonopathy and cytoskeletal disruption in degenerative diseases of the central nervous system. Brain research bulletin. 2009;80(4-5):217-23.
28.Mansergh FC, Wride MA, Rancourt DE. Neurons from stem cells: implications for understanding nervous system development and repair. Biochemistry and cell biology = Biochimie et biologie cellulaire. 2000;78(5):613-28.
29.Duan P, Sun S, Li B, Huang C, Xu Y, Han X, et al. miR-29a modulates neuronal differentiation through targeting REST in mesenchymal stem cells. PloS one. 2014;9(5).
30.Silber J, Lim DA, Petritsch C, Persson AI, Maunakea AK, Yu M, et al. miR-124 and miR-137 inhibit proliferation of glioblastoma multiforme cells and induce differentiation of brain tumor stem cells. BMC medicine. 2008;6(1):14.
31.Nakatani T, Kumai M, Mizuhara E, Minaki Y, Ono Y. Lmx1a and Lmx1b cooperate with Foxa2 to coordinate the specification of dopaminergic neurons and control of floor plate cell differentiation in the developing mesencephalon. Developmental biology. 2010;339(1):101-13.
32.Wagner KD, Wagner N, Vidal VP, Schley G, Wilhelm D, Schedl A, et al. The Wilms' tumor gene Wt1 is required for normal development of the retina. The EMBO journal. 2002;21(6):1398-405.
33.Kang H-J, Park JH, Chen W, Im Kang S, Moroz K, Ladanyi M, et al. EWS–WT1 oncoprotein activates neuronal reprogramming factor ASCL1 and promotes neural differentiation. Cancer research. 2014;74(16):4526-35.
34.Agarwala S, Ragsdale C. Midbrain patterning. Encyclopedia of Neuroscience: Elsevier Ltd; 2010. p. 879-86.
35.Hasan KB, Agarwala S, Ragsdale CW. PHOX2A regulation of oculomotor complex nucleogenesis. Development. 2010;137(7):1205-13.
36.Kondoh H, Uchikawa M, Ishii Y. Multiple Roles for SOX2 in Eye Development. Sox2: Elsevier; 2016. p. 217-33.
37.Endo M, Antonyak MA, Cerione RA. Cdc42-mTOR signaling pathway controls Hes5 and Pax6 expression in retinoic acid-dependent neural differentiation. Journal of Biological Chemistry. 2009;284(8):5107-18.
38.Gajović S, St-Onge L, Yokota Y, Gruss P. Retinoic acid mediates Pax6 expression during in vitro differentiation of embryonic stem cells. Differentiation. 1998;62(4):187-92.
39.Götz M, Stoykova A, Gruss P. Pax6 controls radial glia differentiation in the cerebral cortex. Neuron. 1998;21(5):1031-44.
40.Davis LK, Meyer KJ, Rudd DS, Librant AL, Epping EA, Sheffield VC, et al. Pax6 3' deletion results in aniridia, autism and mental retardation. Human genetics. 2008;123(4):371-8.
41.Bunt J, Hasselt NE, Zwijnenburg DA, Hamdi M, Koster J, Versteeg R, et al. OTX2 directly activates cell cycle genes and inhibits differentiation in medulloblastoma cells. International journal of cancer. 2012;131(2):E21-E32.
42.Lang D, Lu MM, Huang L, Engleka KA, Zhang M, Chu EY, et al. Pax3 functions at a nodal point in melanocyte stem cell differentiation. Nature. 2005;433(7028):884-7.
43.Matsunaga E, Nakamura H, Chédotal A. Repulsive guidance molecule plays multiple roles in neuronal differentiation and axon guidance. Journal of Neuroscience. 2006;26(22):6082-8.
44.Bautista E, Zarco N, Aguirre-Pineda N, Lara-Lozano M, Vergara P, González-Barrios JA, et al. Expression of Gas1 in Mouse Brain: Release and Role in Neuronal Differentiation. Cellular and molecular neurobiology. 2018;38(4):841-59.
45.45Tan Y, Xie Z, Ding M, Wang Z, Yu Q, Meng L, et al. Increased levels of FoxA1 transcription factor in pluripotent P19 embryonal carcinoma cells stimulate neural differentiation. Stem cells and development. 2010;19(9):1365-74.
46.46Ferri AL, Lin W, Mavromatakis YE, Wang JC, Sasaki H, Whitsett JA, et al. Foxa1 and Foxa2 regulate multiple phases of midbrain dopaminergic neuron development in a dosage-dependent manner. Development. 2007;134(15):2761-9.
47.Peng H, Kolb R, Kennedy J, Zheng J. Differential expression of CXCL12 and CXCR4 during human fetal neural progenitor cell differentiation. Journal of neuroimmune pharmacology. 2007;2(3):251-8.
48.Ikezono Y, Koga H, Abe M, Akiba J, Kawahara A, Yoshida T, et al. High expression of the putative cancer stem cell marker, DCLK1, in rectal neuroendocrine tumors. Oncology letters. 2015;10(4).
49.Baudet M-L, Zivraj KH, Abreu-Goodger C, Muldal A, Armisen J, Blenkiron C, et al. miR-124 acts through CoREST to control onset of Sema3A sensitivity in navigating retinal growth cones. Nature neuroscience. 2012;15(1):29.
50.Zoppi N, Gardella R, De Paepe A, Barlati S, Colombi M. Human fibroblasts with mutations in COL5A1 and COL3A1 genes do not organize collagens and fibronectin in the extracellular matrix, down-regulate α2β1 integrin, and recruit αvβ3 instead of α5β1 integrin. Journal of Biological Chemistry. 2004;279(18):18157-68.
51.Arnold SJ, Huang G-J, Cheung AF, Era T, Nishikawa S-I, Bikoff EK, et al. The T-box transcription factor Eomes/Tbr2 regulates neurogenesis in the cortical subventricular zone. Genes & development. 2008;22(18):2479-84.
52.Ryan K, Butler K, Bellefroid E, Gurdon J. Xenopus eomesodermin is expressed in neural differentiation. Mechanisms of development. 1998;75(1-2):155-8.
53.Bosch DG, Boonstra FN, Gonzaga-Jauregui C, Xu M, De Ligt J, Jhangiani S, et al. NR2F1 mutations cause optic atrophy with intellectual disability. The American Journal of Human Genetics.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2025-12-14]

2014;94(2):303-9.
54.Lin F-J, Qin J, Tang K, Tsai SY, Tsai M-J. Coup d'Etat: an orphan takes control. Endocrine reviews. 2011;32(3):404-21.
55.Qiu Y, Pereira FA, DeMayo FJ, Lydon JP, Tsai SY, Tsai M-J. Null mutation of mCOUP-TFI results in defects in morphogenesis of the glossopharyngeal ganglion, axonal projection, and arborization. Genes & development. 1997;11(15):1925-37.
56.Yamaguchi H, Zhou C, Lin S-C, Durand B, Tsai SY, Tsai M-J. The nuclear orphan receptor COUP-TFI is important for differentiation of oligodendrocytes. Developmental biology. 2004;266(2):238-51.
57.Qiu Y, Cooney AJ, Kuratani S, DeMayo FJ, Tsai SY, Tsai M-J. Spatiotemporal expression patterns of chicken ovalbumin upstream promoter-transcription factors in the developing mouse central nervous system: evidence for a role in segmental patterning of the diencephalon. Proceedings of the National Academy of Sciences. 1994;91(10):4451-5.
58.Cabana-Domínguez J, Roncero C, Pineda-Cirera L, Palma-Álvarez RF, Ros-Cucurull E, Grau-López L, et al. Association of the PLCB1 gene with drug dependence. Scientific reports. 2017;7(1):1-8.
59.Zhao L, Feng Y, Chen X, Yuan J, Liu X, Chen Y, et al. Effects of IGF-1 on neural differentiation of human umbilical cord derived mesenchymal stem cells. Life sciences. 2016;151:93-101.
60.Brooker GJ, Kalloniatis M, Russo VC, Murphy M, Werther GA, Bartlett PF. Endogenous IGF-1 regulates the neuronal differentiation of adult stem cells. Journal of neuroscience research. 2000;59(3):332-41.
61.Yokoi H, Yan Y-L, Miller MR, BreMiller RA, Catchen JM, Johnson EA, et al. Expression profiling of zebrafish sox9 mutants reveals that Sox9 is required for retinal differentiation. Developmental biology. 2009;329(1):1-15.
62.Scott CE, Wynn SL, Sesay A, Cruz C, Cheung M, Gaviro M-VG, et al. SOX9 induces and maintains neural stem cells. Nature neuroscience. 2010;13(10):1181.
63.Dottori M, Gross MK, Labosky P, Goulding M. The winged-helix transcription factor Foxd3 suppresses interneuron differentiation and promotes neural crest cell fate. Development. 2001;128(21):4127-38.
64.Teng L, Mundell NA, Frist AY, Wang Q, Labosky PA. Requirement for Foxd3 in the maintenance of neural crest progenitors. Development. 2008;135(9):1615-24.
65.Iram T, Ramirez-Ortiz Z, Byrne MH, Coleman UA, Kingery ND, Means TK, et al. Megf10 is a receptor for C1Q that mediates clearance of apoptotic cells by astrocytes. Journal of Neuroscience. 2016;36(19):5185-92.
66.Kay JN, Chu MW, Sanes JR. MEGF10 and MEGF11 mediate homotypic interactions required for mosaic spacing of retinal neurons. Nature. 2012;483(7390):465-9.
67.Charlet J, Tomari A, Dallosso AR, Szemes M, Kaselova M, Curry TJ, et al. Genome-wide DNA methylation analysis identifies MEGF10 as a novel epigenetically repressed candidate tumor suppressor gene in neuroblastoma. Molecular carcinogenesis. 2017;56(4):1290-301.
68.Hamada-Kanazawa M, Ishikawa K, Nomoto K, Uozumi T, Kawai Y, Narahara M, et al. Sox6 overexpression causes cellular aggregation and the neuronal differentiation of P19 embryonic carcinoma cells in the absence of retinoic acid. FEBS letters. 2004;560(1-3):192-8.
69.Snyder M, Huang X-Y, Zhang JJ. Stat3 is essential for neuronal differentiation through direct transcriptional regulation of the Sox6 gene. FEBS letters. 2011;585(1):148-52.
70.Hamada-Kanazawa M, Ishikawa K, Ogawa D, Kanai M, Kawai Y, Narahara M, et al. Suppression of Sox6 in P19 cells leads to failure of neuronal differentiation by retinoic acid and induces retinoic acid-dependent apoptosis. FEBS letters. 2004;577(1-2):60-6.
71.Jechlinger M, Sommer A, Moriggl R, Seither P, Kraut N, Capodiecci P, et al. Autocrine PDGFR signaling promotes mammary cancer metastasis. The Journal of clinical investigation. 2006;116(6):1561-70.
72.Zhang J, Cao R, Zhang Y, Jia T, Cao Y, Wahlberg E. Differential roles of PDGFR-α and PDGFR-β in angiogenesis and vessel stability. The FASEB Journal. 2009;23(1):153-63.
73.Roncon P, Soukupova M, Binaschi A, Falcicchia C, Zucchini S, Ferracin M, et al. MicroRNA profiles in hippocampal granule cells and plasma of rats with pilocarpine-induced epilepsy--comparison with human epileptic samples. Scientific reports. 2015;5:14143.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2025-12-14]