Arak Medical University Journal (AMUJ) *Original Article*
2017; 20(125): 61-72

Bioinformatic Prediction and Introducing of Some Targeting MicroRNAs of Sirt1 and Bcl2 Genes in Model of Parkinson's Disease

Mahsa Rostamian Delavar[1], Masoud Baghi[1], Elahe Yadegari[1], Kamran Ghaedi[2*]

1. MSc in Cellular and Molecular Biology, Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran.
2. Professor, Department of Cellular and Molecular Biology, Faculty of Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran.

Received: 15 Jul 2017, Accepted: 11 Oct 2017

Abstract

Background: Oxidative Stress and mitochondrial dysfunction leading to apoptotic death of neurons play key role in the pathogenesis of the Parkinson's disease. On the other hand، misregulation of microRNAs can cause several neurodegenerative diseases. Sirt1 and Bcl2 as two key genes, regulate pathogenic processes in neurodegenerative diseases such as mitochondrial dyfunction, oxidative stress and apoptosis.

Materials and Methods: To investigate the role of microRNAs in model of Parkinson's disease, miRWalk 2.0 and TargetScan (v7) databases were served to predict microRNA-target interactions.

Results: Possible targeting effects of different microRNAs on Bcl2 and Sirt1 genes in Rat organism were analyzed. Merging data from databases has shown that rno-miR-449a, rno-miR-182, rno-miR-211, rno-miR-34b, rno-miR-34c, rno-miR-448, rno-miR-466b and rno-miR-96 with strong possibility can inhibit expression of Bcl2 gene. Also, rno-miR-181, rno-miR-211, rno-miR-27a, rno-miR-449a, rno-miR-34c, rno-miR-30, rno-miR-200a and rno-miR-448can inhibit Sirt1 gene with high possibility.

Conclusion: According to the findings, it can be predicted that regarding to high interaction scores of rno-miR-211, rno-miR-34c and rno-miR-448 and 449awith Bcl2 and Sirt1 genes in above-mentioned databases, these microRNAs probably can have critical role in disease process. Thus, these microRNAs can be introduced as appropriate candidates for investigations in in vitro model of Parkinson's disease.

Keywords: Bcl2, Bioinformatics, MicroRNA, Parkinson's disease, Sirt1

*Corresponding Author:
Address: Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran
Email: karmanghaedi@sci.ui.ac.ir.

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 15:14 +0330 on Saturday January 6th 2018

Archive of SID

www.SID.ir

مقاله پژوهشی

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک
سال ۲۰، شماره ۸ (شماره پیاپی ۱۲۵)، آبان ۱۳۹۶، ۷۲-۶۱

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 15:14 +0330 on Saturday January 6th 2018

پیش‌بینی بیوانفورماتیک و معرفی برخی ازmicroRNAهای هدف گیرنده‌ی ژن‌های Sirt1 و Bcl2 در مدل بیماری پارکینسون

مهسا رستمیان دلاور[۱]، مسعود باقی[۱]، الهه یادگاری[۱]، کامران قائدی[۲*]

۱.کارشناسی ارشد زیست شناسی سلولی و مولکولی، گروه زیست شناسی، دانشکده ی علوم پایه، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران
۲. استاد، گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده ی علوم پایه، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

تاریخ دریافت: ۹۶/۴/۲۴ ، تاریخ پذیرش: ۹۶/۷/۱۹

چکیده

زمینه و هدف: استرس اکسیداتیو و اختلال کارکرد میتوکندری که منجر به مرگ آپوپتوزی در نورون‌ها می‌گردند، نقش مهمی در پاتوژنز پارکینسون ایفا می‌کنند. از طرفی، بر هم خوردن تنظیم microRNAها می‌تواند منجر به بروز بیماری مخرب اعصاب متعددی شود. Sirt1 و Bcl2 به عنوان دو ژن کلیدی، روندهای پاتوژن هم چون اختلال کارکرد میتوکندری، استرس اکسیداتیو و آپوپتوز را در بیماری‌های مخرب اعصاب تنظیم می‌کنند.

مواد و روش‌ها: به منظور بررسی نقش microRNAها در مدل بیماری پارکینسون، از دو پایگاه داده miRWalk 2.0 و TargetScan (v7) به‌منظور پیش‌بینی برهم‌کنش‌های microRNA–هدف استفاده شد.

یافته‌ها: اثرات احتمالی microRNAهای مختلف بر ژن‌های Bcl2 و Sirt1 در رت آنالیز شد. نتایج حاصل از پایگاه‌های داده نشان داد که microRNAهایی چون rno-miR-449a، rno-miR-182، rno-miR-211، rno-miR-34b، rno-miR-34c، rno-miR-448، rno-miR-466b و rno-miR-96 با احتمال بسیار قوی می‌توانند موجب مهار بیان ژن Bcl2 شوند. هم‌چنین microRNAهایی چون rno-miR-181 ، rno-miR-211، rno-miR-27a، rno-miR-449a، rno-miR-34c، rno-miR-30، rno-miR-200a و rno-miR-448 ژن Sirt1 را قویاً مهار می‌کنند.

نتیجه‌گیری: بر اساس یافته‌ها می‌توان چنین پیش‌بینی نمود که با توجه به امتیاز بالای microRNAهای rno-miR-211، rno-miR-34c، rno-miR-448 و rno-miR-449a دربر همکنش با ژن‌های Bcl2 و Sirt1 در پایگاه داده‌های مزبور، این microRNAها احتمالاً می‌توانند نقش مؤثری درروند بیماری ایفا نمایند. بنابراین این microRNAها می‌توانند به عنوان کاندیدهای مناسب جهت بررسی در مدل in vitro بیماری پارکینسون معرفی شوند.

واژگان کلیدی: Bcl2، بیوانفورماتیک، microRNA، بیماری پارکینسون، Sirt1

***نویسنده مسئول:** ایران، اصفهان، دانشگاه اصفهان، دانشکده‌ی علوم پایه، گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی
Email: kamranghaedi@sci.ui.ac.ir.

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 15:14 +0330 on Saturday January 6th 2018

مقدمه

بیماری‌های مخرب اعصاب، خانواده‌ای از بیماری‌ها با شاخصه‌ی تحلیل ساختار و عملکرد نورونی می‌باشند که از رایج‌ترین آن‌ها می‌توان به پارکینسون (PD) اشاره نمود(۱). پارکینسون، دومین ناهنجاری مخرب اعصاب ازنظر فراوانی بعد از آلزایمر به شمار می‌رود(۲). مهم‌ترین عوامل دخیل در بیماری پارکینسون را می‌توان جهش‌های ژنتیکی، اختلال در کنترل تجمع پروتئین‌ها، استرس اکسیداتیو، اختلال کارکرد میتوکندری و التهاب برشمرد(۳).

Sirt1 یک داستیلاز مهم در روندهای مختلفی هم چون حفظ پایداری ژنوم، حفظ هوموستازی پروتئین‌ها، تقویت پلاستیسیتی نورونی، بهبود عملکرد میتوکندری و به‌طورکلی حفاظت علیه تخریب عصبی به شمار می‌رود(۴). Sirt1 با القای بیان PGC-1α و آنتی‌اکسیدان‌ها موجب بهبود عملکرد میتوکندری و مهار استرس اکسیداتیو می‌گردد(۵). خانواده‌ی Bcl2، در مطالعات عصبی موردتوجه قرارگرفته‌اند چراکه هم در مسیرهای مرگ سلولی وابسته به کاسپازها و هم مسیرهای مستقل از آن‌ها نقش داشته و از این طریق شدیداً بقای نورونی را تحت اثر خود قرار می‌دهند(۶). Bcl2، یک پروتئین ضد آپوپتوزی است که با فاکتورهای فعال‌کننده‌ی آپوپتوز تشکیل کمپلکس Bcl2-Apaf-1 می‌دهد و از این طریق مانع از فعال شدن کاسپاز-۳ و ۹ می‌گردد و آپوپتوز میتوکندریایی را مهار می‌کند(۷).

امروزه بیماری‌های مخرب اعصاب به چالش بزرگی در زیست‌شناسی اعصاب بدل شده‌اند. به همین سبب، مطالعات زیادی در حال بررسی مکانیسم‌های مولکولی مرتبط با درمان این بیماری‌ها می‌باشند. بر اساس یافته‌های اخیر، برهم خوردن تنظیم miRNA (microRNA)ها یک عامل مهم درروند تخریب عصبی است چراکه بیشتر مکانیسم‌های دخیل در تخریب عصبی را تحت تأثیر قرار می‌دهد(۱). miRNAها مولکول‌های کوچک RNA، کوتاه و غیر کد شونده هستند که ژن‌های کد کننده‌ی آن‌ها معمولاً توسط RNA پلی مرازΠ رونویسی می‌شوند(۸). پس از طی مراحل بلوغ، یک رشته از miRNA بالغ وارد کمپلکس RISC می‌شود و به UTR ′۳ (ناحیه‌ی غیرترجمه‌شونده در انتهای ′۳) درون mRNA هدف متصل می‌شود. انتهای ′۵ در miRNA می‌تواند یک عامل تعیین‌کننده در سرکوب هدف باشد(۹). این ناحیه seed نامیده می‌شود که میان نوکلئوتیدهای ۲ تا ۸ در انتهای ′۵ به ′۳ در miRNA است که رابطه‌ی مکملی واتسون- کریک با UTR ′۳ در mRNA دارد. seed یک بخش به‌شدت حفاظت‌شده است که طبقه‌بندی miRNAها را درون خانواده‌ها و گونه‌های گوناگون ممکن می‌سازد(۱۰). اتصال miRNA به هدف، موجب کاهش سطح هدف از طریق مکانیسم‌های متعددی می‌شود: مهار مرحله‌ی آغاز ترجمه، مهار مرحله‌ی طویل‌سازی در ترجمه، القای دآدنیلاسیون در mRNA که موجب کاهش پایداری mRNA و افزایش میزان تجزیه‌ی آن می‌گردد(۱۱). شواهد نشان می‌دهد که یک miRNA به‌تنهایی می‌تواند چندین هدف ژنی را تحت تأثیر قرار دهد و بنابراین یک miRNA می‌تواند تماماً فنوتیپ یک بیماری را تغییر دهد و همین امر این مولکول‌ها را از منظر درمانی، بسیار جالب‌توجه نموده است. به‌علاوه، تشخیص miRNAهایی که دچار ناتنظیمی شده‌اند در بیمارانی که تحت تأثیر تخریب عصبی قرارگرفته‌اند ممکن است در جهت تشخیص زودهنگام یا درک روند پیشرفت بیماری مؤثر باشد(۱، ۱۲). در دهه‌ی اخیر، اختلال کارکرد miRNAها با پیشرفت بسیاری از بیماری‌ها در ارتباط بوده‌اند. در حال حاضر محققان به روش‌هایی روی آورده‌اند که اهداف miRNAها را پیش از انجام آزمایش‌های تجربی و صرف زمان و هزینه‌ی گزاف به‌دقت تعیین کنند. چراکه این روش‌ها می‌توانند موجب درک هر چه‌بهتر عملکرد miRNAها در روندهای زیستی و درنتیجه پیش‌بینی اثرات آن‌ها گردند. بر همین اساس ابزارهای پیش‌بینی متعددی ایجادشده است تا محقق در ابتدا برهمکنش احتمالی ژن‌ها و miRNAها را با این ابزارها پیش‌بینی و

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 15:14 +0330 on Saturday January 6th 2018

سپس به تائید سازی تجربی این برهمکنش‌ها و اثبات آن‌ها بپردازد(۱۰). در این بررسی نیز با استفاده از این ابزارها، miRNAهای مؤثر بر ژن‌های Sirt1 و Bcl2 انتخاب شدند. برای انجام این پژوهش رده‌ی سلولی فئوکروموسیتومای PC12 که دارای منشأ رتی است انتخاب گردید(۱۳). این سلول‌ها تحت اثر القایی فاکتور رشد عصبی(NGF) ، نه‌تنها انشعابات نورونی ایجاد می‌کنند بلکه یک فنوتیپ عصبی-شیمیایی دوپامینرژیک نشان می‌دهند(۱۴). +MPP به‌طور وسیع به‌عنوان توکسین اختصاصی نورون‌های دوپامینرژیک به کار می‌رود و با ایجاد اختلال کارکرد میتوکندری و استرس اکسیداتیو می‌تواند اکثر ویژگی‌های سلول عصبی مبتلابه پارکینسون را شبیه‌سازی کند(۱۲, ۱۴). به همین سبب سلول‌های تمایزیافته‌ی PC12 تحت تیمار +MPP که به‌طور وسیع به‌عنوان مدل دارویی in vitro برای بیماری پارکینسون مورداستفاده قرار می‌گیرند، برای انجام این بررسی انتخاب شدند(۱۴). از طرفی با توجه به اهمیت ویژه‌ی ژن‌های Sirt1 و Bcl2 درروند بیماری‌های مخرب اعصاب و تغییرات بیان قابل‌توجهشان در مدل‌های بیماری پارکینسون(۱۵, ۱۶)، بررسی تغییرات بیان ژن‌ها و miRNAهای منتخب و ارتباط میان آن‌ها، هدف این بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

به‌طورکلی پژوهش انجام‌گرفته از نوع تئوری-بیوانفورماتیک می‌باشد. در طول ۱۵ سال اخیر، بر اساس معیارهای زیستی مشخصی بسیاری از ابزارهای بیوانفورماتیک برای پیش‌بینی برهمکنش miRNA:mRNA ایجاد شدند. این ابزارها به‌منظور تشخیص سریع و صحیح هدف‌های miRNAها با نقش‌های مهم سلولی ایجاد شدند و این امر را ممکن ساختند که عملکرد این اهداف شناخته‌شده و در مدل‌های زیستی مورد تأیید قرار گیرد.

در مجموع، ابزارهای بیوانفورماتیک به سه دسته تقسیم می‌شوند:

خدمات بر مبنای شبکه (Web-based services): بیش از سایرین محیط کاربری دوستانه داشته و استفاده از آن‌ها آسان‌تر است.

نرم‌افزارهای دانلود شده-(Downloaded software):ازنظر سهولت محیط کاربری پس از دسته‌ی اول قرار می‌گیرد.

پکیج (Package): برای کاربر استفاده از آسان نبوده و نیاز به اطلاعات بیوانفورماتیک دارند(۱۰).

الف-پایگاه داده TargetScan:

TargetScan یکی از ابزارهای بیوانفورماتیک مهم است که در دسته‌ی اول قرار می‌گیرد. در سال ۲۰۰۳، بارتل و همکاران این ابزار را ابداع نمودند که به‌عنوان اولین الگوریتم استفاده‌شده برای پیش‌بینی اهداف miRNA در مهره‌داران تبدیل شد و رفته‌رفته الگوریتم‌های بیش‌تری به‌منظور افزایش صحت عملکرد به آن اضافه شدند(۱۷). در این ابزار ، دو امکان برای جست‌وجو وجود دارد: علامت ژن و/یا نام اختصاصی گونه‌ی miRNA. برای هر رونوشت ژنی مکان‌هایی با احتمال اتصال بالاتر و پایین‌تر برای اتصال با miRNA نمایش داده می‌شود. از طرفی جست‌وجو کردن نام miRNA نتایجی حاصل می‌کند که نشان می‌دهد که کدام رونوشت از کدام ژن می‌تواند هدف miRNA مزبور قرار گیرد(۱۰).

در نسخه‌ی اولیه‌ی TragetScan یک data set ۳' UTR برای ژن‌های پستانداران و مهره‌داران به وجود آمد تا برهمکنش‌های miRNA و هدف تشخیص داده شوند. این برهمکنش‌ها به‌صورت بخش‌های هفت نوکلئوتیدی با جفت شوندگی واتسون-کریک با seed بیان می‌شدند. این ناحیه با جفت‌شوندگی کامل با بازهای miRNA، به نام Seed match نام‌گذاری شد(۱۷). در سال ۲۰۰۹، الگوریتمی به نام PCT طراحی شد که درواقع یک متد

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 15:14 +0330 on Saturday January 6th 2018

تقویت‌شده برای بررسی کمّی میزان حفاظت‌شدگی سایت بوده و میزان آن برای هر یک از انواع Seed match ها محاسبه‌شده و عددی بین ۰ و ۱ است. درواقع PCT با میزان ناپایداری mRNA در ارتباط است و یک معیار مناسب در جهت ارزیابی فراوانی زیستی برهمکنش‌های پیش‌بینی‌شده به شمار می‌رود(۱۸). در نسخه‌ی نهایی 14 ویژگی مهم اساس بررسی‌ها قرار گرفت و تحت عنوان " مدل Context ++ از میزان هدف‌گیری miRNA" نامیده شد که مقادیری بین ۱ و ۱- دارد(۱۹).

TargetScan مرتباً به‌روزرسانی می‌شود و از مهم‌ترین دلایل ارجحیت آن بر سایر ابزارها این است که در مورد جایگاه‌های برهمکنش‌ها سخت‌تر عمل می‌کند چراکه تنها ناحیه‌ی seed وUTR '3 را بررسی کرده و mismatch ها را پشتیبانی نمی‌کند. به‌علاوه قویاً میزان حفاظت‌شدگی برهمکنش‌ها را در اولویت قرار می‌دهد هم‌چنین برهمکنش‌هایی که در UTR '5 و ORF اتفاق می‌افتند را به‌عنوان برهمکنش‌های ناکارآمد در القای سرکوب لحاظ می‌کند. این ویژگی‌ها در Context ++ Score و PCT که مکمل یکدیگر هستند منعکس‌شده است. بر همین اساس در TargetScan معیار انتخاب محتمل‌ترین برهمکنش معمولاً مقادیر Context ++ Score و PCT است و در مواردی که میزان برابری از هرکدام از این الگوریتم‌ها برای یک برهمکنش گزارش الگوریتم دیگر باید ملاک انتخاب قرار گیرد(۱۰).

ب-پایگاه داده miRWalk:

miRWalk ابزار بیوانفورماتیک از دسته‌ی اول و یک آرشیو کامل است که وسیع‌ترین مجموعه از برهمکنش‌های پیش‌بینی‌شده و تأییدشده میان miRNA و هدف (۹۴۹ میلیون برهم‌کنش) را نمایش می‌دهد. اطلاعات این پایگاه تمامی ژن‌های شناسایی‌شده‌ی انسان، موش و رت را پوشش می‌دهد و شامل یک الگوریتم جدید به نام miRWalk و ۱۲ برنامه‌ی از قبل طراحی‌شده می‌باشد. در این پایگاه با واردکردن نام ژن یا miRNA و انتخاب ارگانیسم موردنظر می‌توان به اطلاعات پیش‌بینی‌شده دسترسی یافت. بخش پیش‌بینی در پایگاه miRWalk هر ۶ یک‌بار به روز رسانی می‌شود(۲۰).

الگوریتم miRWalk: برای بیش از ده سال، تلاش‌ها برای مطالعه‌ی برهمکنش miRNAها و اهداف آن‌ها بر روی UTR '3 در mRNA ها متمرکز شده است. اما در مطالعات اخیر مطرح شده است که miRNAها ممکن است بیان ژن را از طریق هدف قرار دادن پروموتر،UTR '5 و همین‌طور ناحیه‌ی CDS هدف قرار دهند. بنابراین طراحی یک رهیافت جدید که بتواند جایگاه‌های اتصال miRNAها را نه‌تنها در UTR '3 بلکه در سایر نواحی ژن شناسایی کند، ضروری به نظر می‌رسید و این امکان در الگوریتم miRWalk محقق شد. این الگوریتم روی توالی کامل ژن راه رفته (Walking) و مکان‌های اتصال با جفت شوندگی ۷تایی یا بیشتر را اعلام می‌کند. این مکان‌های اتصال سپس بر مبنای نوع محل در ۵ دسته طبقه‌بندی می‌شوند: ناحیه‌ی پروموتر، UTR '5، CDS، UTR '3 و ژن‌های میتوکندریایی.

سایر پایگاه‌ها: miRWalk برای مطالعه‌ی جامع پیش‌بینی‌ها ۱۲ پایگاه داده را مورداستفاده قرار می‌دهد که بر اساس معروفیت و محبوبیت بالایشان انتخاب شده‌اند. این امر اجازه می‌دهد که کاربر اولاً بتواند کنترل بیش‌تری روی‌داده‌های پیش‌بینی اعمال نموده و ثانیاً تصمیم بگیرد ترجیحاً از چه ترکیبی از پایگاه‌های موجود برای بررسی خود استفاده نماید. در پایگاه miRwalk درصورتی‌که هر یک از ۱۲ پایگاه بیوانفورماتیکی، احتمال مهار یک mRNA توسط یک miRNA خاص را پیش‌بینی کنند، در مقابل آن، عدد ۱ و در غیر این صورت عدد صفر داده می‌شود؛ درنهایت با جمع این اعداد، عدد نهایی از ۱۲ به آن میانکنش داده می‌شود که می‌تواند معیار مناسبی برای پیش‌بینی تأثیر مهاری آن miRNAبر روی mRNA مربوطه باشد(۱۱).

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 15:14 +0330 on Saturday January 6th 2018

اما ازآنجایی‌که این بررسی بر مبنای ارگانیسم رت انجام می‌شود، تنها تعدادی از این پایگاه‌ها دارای اطلاعات لازم برای امتیازدهی به برهمکنش‌های موردمطالعه هستند. پایگاه‌های داده علاوه بر جنبه‌های مثبت، نقاط ضعفی نیز دارند که عبارت‌اند از: به‌روزرسانی دیرهنگام ، کامل نبودن اطلاعات مرتبط با گونه‌های غیرانسانی، عدم دسترسی کاربر به داده‌های خام و منابع اطلاعاتی ، عدم هم‌پوشانی نتایج الگوریتم‌های گوناگون. این موارد کاربر را ملزم می‌دارد تا در یک بررسی بر اساس نیاز از بیش از یک پایگاه داده استفاده نماید. بر اساس مطالب ذکرشده و با توجه به این امر که بسیاری از پایگاه‌های داده فاقد اطلاعات برهمکنش مرتبط با ارگانیسم رت هستند، دو پایگاه TargetScan و miRWalk به‌عنوان دو پایگاه جامع و برگزیده در جهت انتخاب miRNA مناسب موردبررسی قرار گرفتند.

یافته‌ها

برای انجام این بررسی در ابتدا نتایج پیش‌بینی برای Bcl2 در سه موقعیت (پایگاه‌های گزیده miRWalk، الگوریتم TargetScan، الگوریتم miRWalk) بررسی شد. در مرحله‌ی اول برای ژن Bcl2، miRNAهایی که در پایگاه‌های گزیده miRWalk دارای امتیاز مناسب بودند، انتخاب شدند. از میان ۱۲ پایگاه، تنها ۷ پایگاه برای ژن Bcl2 رتی حاوی اطلاعات برهمکنش بودند. بر همین اساس برهم‌کنش‌هایی که حداقل ۴ پایگاه به آن‌ها امتیاز اختصاص داده‌اند، لحاظ شده و miRNAهای منتخب در جدول ۱ نمایش داده شد. در سرتاسر این بررسی تنها miRNAهای حداکثر سه‌رقمی که رایج‌تر و کاربردی‌تر هستند، لحاظ شده‌اند.

جدول ۱. miRNAهای منتخب Bcl2 در پایگاه‌های گزیده miRWalk

miRNA	جمع	miRNA	جمع	miRNA	جمع	miRNA	جمع
rno-miR-211-5p	7	rno-miR-449a-5p	5	rno-miR-500-5p	5	rno-miR-34c-5p	4
rno-miR-448-3p	6	rno-miR-29a-5p	5	rno-miR-96-5p	4	rno-miR-182	4
rno-miR-466d	6	pяrno-miR-466b-	5	rno-miR-34b-5p	4	rno-miR-93	4

در مرحله‌ی دوم، miRNAهایی که دارای برهمکنش‌های مناسب با رایج‌ترین ایزوفرم Bcl2 بودند، بر اساس ترکیبی از دو معیار PCT و Context ++ Score انتخاب شدند. هر چه میزان PCT به ۱ و میزان Context ++ score به ۱- نزدیک‌تر باشند، برهم‌کنش قوی‌تر خواهد بود(۱۰)(جدول ۲).

جدول ۲. miRNAهای منتخب Bcl2 در الگوریتم TargetScan

miRNA	Context ++ score	P_{CT}	miRNA	Context ++ score	P_{CT}
rno-miR-34b-5p	-0.35	0.75	rno-miR-30b-5p	-0.21	0.78
rno-miR-34c-5p	-0.35	0.75	rno-miR-30d-5p	-0.19	0.78
rno-miR-497-5p	-0.21	0.9	rno-miR-30a-5p	-0.19	0.78
rno-miR-322-5p	-0.21	0.9	rno-miR-30e-5p	-.019	0.78
rno-miR-449c-5p	-0.27	0.75	rno-miR-182	-0.18	0.74
rno-miR-449a-5p	-0.24	0.75	rno-miR-96-5p	-0.09	0.76
rno-miR-503-5p	-0.2	0.83	rno-miR-211-5p	-0.21	0.46
rno-miR-15a-5p	-0.17	0.9	rno-miR-448-3p	-0.28	N/A
rno-miR-30c-5p	-0.21	0.78	rno-miR-466b-5p	-0.26	N/A

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 15:14 +0330 on Saturday January 6th 2018

در مرحله‌ی سوم، miRNAهای مؤثر بر ژن Bcl2 در الگوریتم miRWalk بر اساس مقدار p انتخاب شدند. هر چه میزان p به صفر نزدیک‌تر باشد، برهم‌کنش miRNA-mRNA قوی‌تر خواهد بود(۱۱). نتایج حاصل از الگوریتم miRWalk در این مطالعه، به بررسی ناحیه‌ی 3' UTR در mRNA اختصاص دارد(جدول ۳).

جدول ۳. miRNAهای منتخب Bcl2 در الگوریتم miRWalk

miRNA	p	miRNA	p	miRNA	p
rno-miR-466d	0.0002	rno-miR-345-5p	0.0036	rno-miR-182	0.0142
rno-miR-211-5p	0.0009	rno-miR-96-5p	0.0142	rno-miR-449a-5p	0.0142
rno-miR-29b-1-5p	0.0036	rno-miR-192-5p	0.0142	rno-miR-511-3p	0.0142

در مرحله‌ی نهایی، miRNAهایی که در هر سه موقعیت و یا در دو موقعیت الگوریتم TargetScan و پایگاه‌های گزیده miRWalk مشترک و دارای امتیاز مطلوب بودند (چراکه این دو موقعیت برهمکنش‌های بیشتری را نسبت به الگوریتم miRWalk پوشش می‌دهند) به‌عنوان miRNAهایی که با احتمال قوی ژن Bcl2 را هدف قرار می‌دهند، انتخاب شدند(جدول ۴).

جدول ٤. miRNAهای منتخب نهایی برای ژن Bcl2

miRNA	Target scan	miRwalk	سایر پایگاه‌ها	miRNA	Target scan	miRwalk	سایر پایگاه‌ها
rno-miR-449a-5p	*	*	*	rno-miR-34b-5p	*		*
rno-miR-182	*	*	*	rno-miR-34c-5p	*		*
rno-miR-96-5p	*	*	*	rno-miR-448-3p	*		*
rno-miR-211-5p	*	*	*	rno-miR-466b-5p	*		*

در مرحله‌ی اول برای ژن Sirt1، miRNAهایی که در پایگاه‌های گزیده miRWalk دارای امتیاز مناسب بودند، انتخاب شدند. از میان ۱۲ پایگاه، تنها ۴ پایگاه برای ژن Sirt1 رتی حاوی اطلاعات برهمکنش بودند. بر همین اساس برهمکنش‌هایی که حداقل ۳ پایگاه به آن‌ها امتیاز اختصاص داده‌اند، لحاظ شدند(جدول۵. تنها بخشی از ۲۰۰ برهمکنش منتخب در جدول نمایش داده‌شده‌اند).

جدول ۵. miRNAهای منتخب Sirt1 در پایگاه‌های گزیده miRWalk

miRNA	جمع	miRNA	جمع	miRNA	جمع	miRNA	جمع
rno-miR-543-5p	4	rno-miR-27a-3p	4	rno-miR-200b-3p	4	rno-miR-628	4
rno-miR-653-5p	4	rno-miR-181a-5p	4	rno-miR-138-5p	4	rno-miR-192-3p	4
rno-miR-135b-5p	4	rno-miR-30a-5p	4	rno-miR-154-3p	4	rno-miR-181d-5p	4
rno-miR-153-5p	4	rno-miR-31b	4	rno-miR-30c-5p	4	rno-miR-448-3p	4
rno-miR-22-3p	4	rno-miR-17-1-3p	۴	rno-miR-328a-5p	4	rno-miR-499-5p	4
rno-miR-140-3p	4	rno-miR-20b-3p	4	rno-miR-217-5p	4	rno-miR-466b-3p	4
rno-miR-455-3p	4	rno-miR-181b-5p	۴	rno-miR-199a-5p	4	rno-miR-30e-5p	4
rno-miR-21-3p	4	rno-miR-125-2-3p	4	rno-miR-212-3p	4	rno-miR-298-3p	4
rno-miR-135a-5p	4	rno-miR-384-5p	4	rno-miR-128-3p	4	rno-miR-214-3p	3
rno-miR-544-3p	4	rno-miR-27b-3p	4	rno-miR-361-5p	4	rno-miR-133a-3p	3
rno-miR-200a-3p	4	rno-miR-30b-5p	4	rno-miR-488-3p	4	rno-miR-449a-5p	3
rno-miR-211-5p	4	rno-miR-30d-5p	4	rno-miR-181c-5p	4	rno-miR-34c-5p	3
rno-miR-20a-3p	4	rno-miR-881-3p	4	rno-miR-466-b-2	4	rno-miR-26b-5p	3

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 15:14 +0330 on Saturday January 6th 2018

در مرحله‌ی دوم، miRNAهایی که دارای برهمکنش‌های مناسب با رایج‌ترین ایزوفرم Sirt1 بودند، بر اساس ترکیبی از دو معیار PCT و Context ++ Score انتخاب شدند(جدول ۶. تنها بخشی از 100 برهمکنش منتخب در جدول نمایش داده‌شده‌اند).

جدول ٦. miRNAهای منتخب Sirt1 در الگوریتم TargetScan

miRNA	Context ++ score	P_{CT}	miRNA	Context ++ score	P_{CT}
rno-miR-22-3p	-0.66	0.85	rno-miR-200a-3p	-0.26	0.45
rno-miR-138-5p	-0.5	0.9	rno-miR-211-5p	-0.31	0.46
rno-miR-133a-3p	-0.18	0.77	rno-miR-449a-5p	-0.23	0.48
rno-miR-30e-5p	-0.27	0.65	rno-miR-34c-5p	-0.22	0.48
rno-miR-135a-5p	-0.27	0.62	rno-miR-128-3p	-0.17	0.33
rno-miR-135b-5p	-0.27	0.62	rno-miR-140-3p	-0.22	0.23
rno-miR-30d-5p	-0.23	0.65	rno-miR-27b-3p	-0.33	<0.1
rno-miR-30a-5p	-0.23	0.65	rno-miR-27a-3p	-0.33	<0.1
rno-miR-30b-5p	-0.22	0.65	rno-miR-217-5p	-0.29	<0.1
rno-miR-30c-5p	-0.22	0.65	rno-miR-361-5p	-0.30	N/A
rno-miR-384-5p	-0.22	0.65	rno-miR-488-3p	-0.27	N/A
rno-miR-181d-5p	-0.24	0.60	rno-miR-881-3p	-0.25	N/A
rno-miR-181b-5p	-0.23	0.60	rno-miR-448-3p	-0.21	N/A
rno-miR-181a-5p	-0.23	0.60	rno-miR-544-3p	-0.22	N/A
rno-miR-181c-5p	-0.21	0.60	rno-miR-125-2-3p	-0.20	N/A
rno-miR-199a-5p	-0.28	0.54	rno-miR-298-3p	-0.19	N/A

در مرحله‌ی سوم، miRNAهای مؤثر بر ژن Sirt1 در الگوریتم miRWalk بر اساس مقدار p انتخاب شدند (جدول ۷).

جدول ۷. miRNAهای منتخب Sirt1 در الگوریتم miRWalk

miRNA	p	miRNA	p	miRNA	p
rno-miR-181b-5p	0.0015	rno-miR-181c-5p	0.024	rno-miR-455-3p	0.024
rno-miR-181d-5p	0.0015	rno-miR-190b-3p	0.024	rno-miR-494-3p	0.024
rno-miR-488-3p	0.0015	rno-miR-20a-3p	0.024	rno-miR-543-3p	0.024
rno-miR-188-5p	0.0061	rno-miR-211-5p	0.024	rno-miR-544-5p	0.024
rno-miR-298-3p	0.0061	rno-miR-217-5p	0.024	rno-miR-881-3p	0.024
rno-miR-323-3p	0.0061	rno-miR-27a-3p	0.024	rno-miR-208b-5p	0.024
rno-miR-125b-2-3p	0.024	rno-miR-27b-3p	0.024	rno-miR-448-3p	0.024
rno-miR-140-3p	0.024	rno-miR-361-5p	0.024	rno-miR-181a-5p	0.024

در مرحله‌ی نهایی، miRNAهایی که در هر سه موقعیت و یا در دو موقعیت الگوریتم TargetScan و پایگاه‌های گزیده miRWalk مشترک و دارای امتیاز مطلوب بودند به‌عنوان miRNAهایی که با احتمال قوی ژن Sirt1 را هدف قرار می‌دهند، انتخاب شدند(جدول ۸).

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 15:14 +0330 on Saturday January 6th 2018

جدول ۸. miRNAهای منتخب نهایی برای ژن Sirt1

miRNA	Target scan	miR walk	سایر پایگاه‌ها	miRNA	Target scan	miR walk	سایر پایگاه‌ها
rno-miR-181b-5p	*	*	*	rno-miR-449a-5p	*		*
rno-miR-181a-5p	*	*	*	rno-miR-34c-5p	*		*
rno-miR-181d-5p	*	*	*	rno-miR-138-5p	*		*
rno-miR-181c-5p	*	*	*	rno-miR-30e-5p	*		*
rno-miR-211-5p	*	*	*	rno-miR-30d-5p	*		*
rno-miR-140-3p	*	*	*	rno-miR-30a-5p	*		*
rno-miR-448-3p	*	*	*	rno-miR-30b-5p	*		*
rno-miR-881-3p	*	*	*	rno-miR-30c-5p	*		*
rno-miR-125b-2-3p	*	*	*	rno-miR-384-5p	*		*
rno-miR-217-5p	*	*	*	rno-miR-135a-5p	*		*
rno-miR-27b-3p	*	*	*	rno-miR-135b-5p	*		*
rno-miR-27a-3p	*	*	*	rno-miR-133a-3p	*		*
rno-miR-298-3p	*	*	*	rno-miR-199a-5p	*		*
rno-miR-488-3p	*	*	*	rno-miR-22-3p	*		*
rno-miR-544-3p	*	*	*	rno-miR-128-3p	*		*
rno-miR-361-5p	*	*	*	rno-miR-200a-3p	*		*

ازآن‌جاکه در بررسی حاضر هر دو ژن Sirt1 و Bcl2 به‌عنوان ژن‌های هدف در نظر گرفته‌شده‌اند، درنهایت miRNAهایی برای بررسی انتخاب می‌شوند که برای هر دو ژن کاندید برهم‌کنش‌های مناسبی داشته باشند. این miRNAهای منتخب عبارت‌اند از:

rno-miR-211-5p, rno-miR-34c-5p, rno-miR-448-3p, rno-miR-449a-5p

بحث

تا به امروز، بر روی بیماران مبتلابه بیماری‌های مخرب اعصاب همچون پارکینسون درمان‌های کاملاً مؤثری صورت نگرفته است و علت این امر در درجه‌ی اول مربوط به این واقعیت است که رهیافت درمانی در این بیماری‌ها، نیازمند تنظیم اهداف و مسیرهای مولکولی متعدد است(۱). علاوه بر نقص‌های ژنی شناخته‌شده در پارکینسون، مکانیسم‌های مرتبط با آپوپتوز و استرس اکسیداتیو، در القای این بیماری دخیل می‌باشند(۲۱). درمان بر پایه‌ی کنترل بیان ژن‌های دخیل در پارکینسون می‌تواند آینده‌ی روشنی برای این بیماری به ارمغان آورد. ژن‌های حفاظت عصبی هم چون Bcl2 و Sirt1 در فرایندهایی چون آپوپتوز و استرس اکسیداتیو در نورون‌ها از اهمیت بسزایی برخوردارند و کاهش بیان آن‌ها در بسیاری از مدل‌های بیماری مشاهده می‌گردد(۱۵، ۱۶، ۲۴-۲۲). بنابراین در صورت کنترل مهارکننده‌هایی هم چون miRNAها که بیان این ژن‌ها را کاهش می‌دهند، احتمالاً بتوان ایجاد و یا پیشرفت این بیماری را تحت تأثیر قرارداد. بر همین اساس در این مطالعه، این ژن‌ها به‌عنوان کاندیدهای مناسب برای بررسی بیشتر و معیاری جهت گزینش miRNAها انتخاب شدند. ناهنجاری‌های مخرب اعصاب به‌عنوان بیماری‌های مرتبط با RNA مطرح هستند که در آن miRNAها نقش کلیدی ایفا می‌کنند(۱). بیان ناقص miRNAها به‌وفور در نمونه‌های مغزی بیماران مبتلابه پارکینسون و مدل‌های in vivo و in vitro بیماری، مشاهده شده است. اگرچه تغییر در miRNAهای خاص می‌تواند در ابداع هدف‌های درمانی حائز اهمیت فراوان باشد، اما مطالعات محدودی به بررسی نقش یک miRNA خاص در پاتوژنز پارکینسون پرداخته‌اند(۱۲). ابزارهای بیوانفورماتیک تلاش در پیش‌بینی مؤثر و کم‌هزینه برهمکنش‌های miRNA mRNA دارند که بعداً بتوان آن را مورد تأیید سازی تجربی قرار داد. چراکه این اطلاعات ما را در درک عملکرد miRNAها در فرآیندهای فیزیولوژیک طبیعی و بیماری‌ها یاری می‌دهند. اگرچه تعداد زیادی از این ابزارها به وجود آمده است، اما

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 15:14 +0330 on Saturday January 6th 2018

یک چالش مهم در استفاده از آن‌ها این است که هر یک از ابزارها با الگوریتم خاص خود، نتایج مجزایی پیش‌بینی می‌کند و انتخاب miRNA مناسب از طریق بیوانفورماتیک را مشکل می‌سازد(۱۰). مطالعات مقایسه‌ای برنامه‌های پیش‌بینی هدف نشان می‌دهد که هیچ برنامه‌ای مشخصاً از تمامی برنامه‌های دیگر بالاتر نیست. روال معمول محققان این است که پیش‌بینی‌های انجام‌شده توسط برنامه‌های متعدد را جست‌وجو و بر نتایج مشترک آن‌ها متمرکز شوند(۱۱). بر همین اساس در این بررسی نیز مکان‌های اتصال پیش‌بینی‌شده در پایگاه‌های مختلف گردآوری شده است تا در معرض مقایسه با یکدیگر قرارگرفته و به هم‌پوشانی میان آن‌ها استناد شود.

برخی گروه‌های تحقیقاتی یک رهیافت جدید برای تعیین هدف‌های جدید برای miRNAهای شناخته‌شده ایجاد نموده‌اند. در این رهیافت، بیان miRNAها در دو گروه سالم و بیمار با استفاده از microarray پروفایل می‌شود و سپس miRNAهای معنی‌دار به لحاظ آماری برای تأییدسازی‌های بیش‌تر با نورترن‌بلات یا q-PCR انتخاب می‌شوند. سپس برنامه‌های پیش‌بینی هدف برای تشخیص ژن‌های هدف احتمالی این miRNAها مورداستفاده قرار می‌گیرند. درنهایت رده‌های سلولی و یا حیوانات برای تأییدسازی تجربی مورداستفاده قرار می‌گیرند(۱۱). در بررسی کانگاراج و همکاران، هدف‌های miR-124 در مدل‌های in vivo و in vitro پارکینسون، با استفاده از TargetScan و IPA پیش‌بینی شد. سپس بررسی بیان ژن‌های هدف و miR-124 در هر دو مدل صورت گرفت و درنهایت وجود الگوی بیان معکوس و ارتباط مهاری میان miR-124 و ژ ن مای هدف و همین‌طور تأثیر مهم این miRNA بر مسیر اتوفاژی- لیزوزومی و به‌تبع آن پاتوژنز پارکینسون به اثبات رسید(۱۲). در مطالعه‌ی مرادی و همکاران در سال ۲۰۱۷، miRNAهای هدف گیرنده‌ی NOTCH1 و HBX، از طریق استفاده از پایگاه‌های داده‌ی متعدد و بررسی بیوانفورماتیک جهت بررسی در کارسینومای کبدی انتخاب شدند(۲۵). در بررسی حاضر در رهیافتی نوین و به‌منظور صرف‌نظر از هزینه‌های گزاف microarray و روش‌های مشابه، اساس انتخاب miRNAها پیش‌بینی برهمکنش‌های قوی آن‌ها با ژن‌های مهمی هم چون Sirt1 و Bcl2 قرار گرفت. بر همین اساس، در این مطالعه پس از انتخاب ژن‌های هدف مناسب، تعدادی از miRNAهای اثرگذار بر این ژن‌ها با استفاده از پایگاه‌های داده، جستجو شد. چراکه احتمال می‌رود تغییر در بیان ژن‌ها ریشه در تغییر بیان شبکه‌ی miRNAهای مؤثر داشته باشد و با این استدلال بتوان تعدادی از miRNAهای دارای بیان افتراقی را شناسایی نمود. در همین راستا، ابتدا با استفاده از الگوریتم‌های miRWalk و TargetScan و همین‌طور پایگاه‌های گزیده miRwalk، miRNAهای مؤثر بر ژن Bcl2 بررسی شدند. درنهایت با مقایسه‌ی سه موقعیت miRNAهایی همچون rno-miR-449a، rno-miR-182، rno-miR-211 ، rno-miR-34b، rno-miR-34c، rno-miR-448، rno-miR-466b و rno-miR-96 برای ژن Bcl2 انتخاب شدند. پس‌ازآن با استفاده از الگوریتم‌های miRWalk و TargetScan و پایگاه‌های گزیده miRwalk، miRNAهای مؤثر بر ژن Sirt1 موردبررسی قرار گرفتند. تعدادی از miRNAهایی که از برآیند این سه موقعیت انتخاب شدند عبارت‌اند از:rno-miR-181 ، rno-miR-211، rno-miR-27a، rno-miR-449a، rno-miR-34c، rno-miR-30، rno-miR-200a و rno-miR-448-3p و از میان آن‌ها miRNAهای مؤثر بر هر دو ژن یعنی miRNAهای برای بررسی‌های بیشتر انتخاب گردید چراکه طبق نتایج حاصل از پایگاه‌ها این miRNAها توانایی ایجاد برهمکنش قوی با ژن‌های Sirt1 و Bcl2 داشته و احتمال دارد با مهار و کاهش بیان این ژن‌ها در مدل‌های بیماری پارکینسون در مکانیسم‌های دخیل در این بیماری مؤثر باشند. به‌علاوه با توجه به کاهش این ژن‌ها در بسیاری از مدل‌های بیماری ، می‌توان بیان تغییریافته‌ی این miRNAها (احتمالاً افزایشی) را انتظار

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 15:14 +0330 on Saturday January 6th 2018

داشت. گام بعدی در این پژوهش بررسی بیان این miRNAها و ژن‌های هدف در مدل بیماری است تا در صورت وجود الگوی بیان معکوس میان miRNAها و ژن‌های هدف، وجود ارتباط مهاری میان آن‌ها مورد تأییدسازی‌های تجربی بیش‌تر قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج حاصل از پایگاه‌ها می‌توان اذعان داشت که احتمالاً miRNAهای rno-miR-211-5p، rno-miR-34c-5p، rno-miR-448-3p، rno-miR-449a-5p مهارکننده‌های قوی برای ژن‌های Sirt1 و Bcl2 تواما بوده و می‌توانند از این طریق مسیرهای زنده‌مانی سلولی و حفاظت عصبی را تحت تأثیر قرار دهند. ازاین‌رو miRNAهای مناسبی جهت بررسی در مدل بیماری پارکینسون به نظر می‌رسند و می‌توان تغییر بیان ژن‌های Sirt1 و Bcl2 در مدل‌های بیماری را تغییر احتمالی در الگوی بیان چنین miRNAهایی دانست. اگرچه تأیید این پیش‌بینی‌های محاسباتی منوط به بررسی بیان این miRNAها در مدل بیماری و به‌تبع آن بررسی ارتباط میان این دسته miRNAها و ژن‌های هدف آن‌ها است.

تشکر و قدردانی

پژوهش حاضر دربردارنده بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد در دانشگاه اصفهان بوده که هزینه آن به‌وسیله معاونت تحقیقات و فناوری تأمین گردیده است.

منابع

1.Johnson R, Noble W, Tartaglia GG, Buckley NJ. Neurodegeneration as an RNA disorder. Progress in neurobiology. 2012;99(3):293-315.
2.Yao SC, Hart AD, Terzella MJ. An evidence-based osteopathic approach to Parkinson disease. Osteopathic Family Physician-۹٦:(۳)٥;۲۰۱۳. .۱۰۱
3. Dias V, Junn E, Mouradian MM. The role of oxidative stress in Parkinson's disease. Journal of Parkinson's disease. 2013;3(4):461-91.
4.Min S-W, Sohn PD, Cho S-H, Swanson RA, Gan L. Sirtuins in neurodegenerative diseases: an update on potential mechanisms. Frontiers in aging neuroscience. 2013;5:53.
5. Salminen A, Kaarniranta K, Kauppinen A. Crosstalk between oxidative stress and SIRT1: impact on the aging process. International journal of molecular sciences. 2013;14(2):3834-59.
6. Akhtar RS, Ness JM, Roth KA. Bcl-2 family regulation of neuronal development and neurodegeneration. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research. 2004;1644(2):189-203.
7. Wang X, Liu P, Zhu H, Xu Y, Ma C, Dai X, et al. miR-34a, a microRNA up-regulated in a double transgenic mouse model of Alzheimer's disease, inhibits bcl2 translation. Brain research bulletin. 2009;80(4):268-73.
8. Ambros V. The functions of animal microRNAs. Nature. 2004;431(7006):350-5.
9. Lai EC. Micro RNAs are complementary to 3 [variant prime] UTR sequence motifs that mediate negative post-transcriptional regulation. Nature genetics. 2002;30(4):363.
10. Riffo-Campos ÁL, Riquelme I, Brebi-Mieville P. Tools for Sequence-Based miRNA Target Prediction: What to Choose? International Journal of Molecular Sciences. 2016;17(12):1987.
11. Dweep H, Sticht C, Pandey P, Gretz N. miRWalk–database: prediction of possible miRNA binding sites by "walking" the genes of three genomes. Journal of biomedical informatics. 2011;44(5):839-47.
12. Kanagaraj N, Beiping H, Dheen ST, Tay SSW. Downregulation of miR-124 in MPTP-treated mouse model of Parkinson's disease and MPP iodide-treated MN9D cells modulates the expression of the calpain/cdk5 pathway proteins. Neuroscience. 2014;272:167-79.
13. Jin G-Z, Yin X-J, Yu X-F, Cho S-J, Lee H-S, Lee H-J, et al. Enhanced tyrosine hydroxylase expression in PC12 cells co-cultured with feline

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 15:14 +0330 on Saturday January 6th 2018

mesenchymal stem cells. Journal of veterinary science. 2007;8(4):377-82.
14. Han YS, Lee CS. Antidepressants reveal differential effect against 1-methyl-4-phenylpyridinium toxicity in differentiated PC12 cells. European journal of pharmacology. 2009;604(1):36-44.
15. Chen J, Tang X, Zhi J, Cui Y, Yu H, Tang E, et al. Curcumin protects PC12 cells against 1-methyl-4-phenylpyridinium ion-induced apoptosis by bcl-2-mitochondria-ROS-iNOS pathway. Apoptosis. 2006;11(6):943-53.
16. Pizarro JG, Junyent F, Verdaguer E, Jordan J, Beas-Zarate C, Pallàs M, et al. Effects of MPP+ on the molecular pathways involved in cell cycle control in B65 neuroblastoma cells. Pharmacological research. 2010;61(5):391-9.
17. Lewis BP, Shih I-h, Jones-Rhoades MW, Bartel DP, Burge CB. Prediction of mammalian microRNA targets. Cell. 2003;115(7):787-98.
18. Friedman RC, Farh KK-H, Burge CB, Bartel DP. Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs. Genome research. 2009;19(1):92-105.
19. Agarwal V, Bell GW, Nam J-W, Bartel DP. Predicting effective microRNA target sites in mammalian mRNAs. Elife. 2015;4:e05005.
20. Dweep H, Gretz N. miRWalk2. 0: a comprehensive atlas of microRNA-target interactions. Nature methods. 2015;12(8):697.
21. Marshall K-A, Daniel SE, Cairns N, Jenner P, Halliwell B. Upregulation of the anti-apoptotic protein Bcl-2 may be an early event in neurodegeneration: studies on Parkinson's and incidental Lewy body disease. Biochemical and biophysical research communications. 1997;240(1):84-7.
22. Singh P, Hanson PS, Morris CM. SIRT1 ameliorates oxidative stress induced neural cell death and is down-regulated in Parkinson's disease. BMC neuroscience. 2017;18(1):46.
23. Wu Y, Shang Y, Sun S, Liu R. Antioxidant effect of erythropoietin on 1-methyl-4-phenylpyridinium-induced neurotoxicity in PC12 cells. European journal of pharmacology. 2007;564(1):47-56.
24. Dong S-Y, Guo Y-J ,Feng Y, Cui X-X, Kuo S-H, Liu T, et al. The epigenetic regulation of HIF-1α by SIRT1 in MPP+ treated SH-SY5Y cells. Biochemical and biophysical research communications. 2016;470(2):453-9.
25. Moradi N, Paryan M, Khansarinejad B, Rafiei M, Mondanizadeh M. Bioinformatic Prediction of miRNAs Targeting NOTCH1 and HBx Genes in Chronic Hepatitis B-Induced Hepatocellular Carcinoma. Arak Medical University Journal. 2017;19(117):89-101.

Archive of SID

www.SID.ir