

مروری بر بکارگیری ریزRNAها در بهبود فرایندهای زیستی با هدف ارتقاء سلامت ماهیان

گیتا پورنیک^۱، محمدرضا بیگدلی^۲، مریم بنانج^۳، کاووس نظری^۴

۱- دانش آموخته دکتری فیزیولوژی جانوری، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، تهران، ایران.

۲- دانشیار گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم و فناوری زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران. نویسنده مسئول: mr_bigdeli@sbu.ac.ir

۳- دانشیار گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، تهران، ایران.

۴- استادیار مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان تهران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۳/۲۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۶/۱۵

چکیده

زمینه و هدف: ریزRNAها، ریزمولکولهای غیرکدکننده با طولی در حدود ۲۲ نوکلئوتید، به عنوان تنظیم کننده های کلیدی بیان ژن در سطوح پسارونویسی شناخته می شوند و نقشی بنیادین در تعدیل پاسخ های ایمنی و سازگاری ماهیان با بیماری ها و تنش های محیطی ایفا می کنند. این مولکول ها با دخالت در مسیرهای ضدویروسی، بهبود مقاومت در برابر استرس های فیزیکوشیمیایی، و هدایت فرایندهای رشد و تمایز سلولی، بستر لازم برای ارتقاء سلامت و کارایی زیستی آبزیان را فراهم می سازند. هدف از این مطالعه، تبیین نقش های زیستی و کاربردی miRNAها در ماهیان و بررسی ظرفیت های بالقوه آن ها در ارتقاء سلامت و پایداری صنعت آبزی پروری است.

مواد و روش ها: این پژوهش به صورت مقاله مروری انجام شده است. منابع علمی معتبر شامل مقالات پژوهشی، مروری، و گزارش های تخصصی منتشر شده در پایگاه های داده بین المللی و داخلی مورد جست و جو و انتخاب قرار گرفتند. فرآیند گردآوری اطلاعات به روش کتابخانه ای انجام شد و تحلیل ها بر اساس ارزیابی انتقادی داده های موجود و مقایسه تطبیقی یافته ها صورت گرفت. **نتایج:** بررسی شواهد علمی نشان داد که miRNAها در مسیرهای متعدد مرتبط با ایمنی، مقاومت به بیماری ها، و سازگاری با استرس های محیطی در ماهیان نقش فعالی دارند. این مولکول ها می توانند به عنوان ابزارهای نوین در توسعه سامانه های تشخیص سریع بیماری، درمان های مولکولی هدفمند، و برنامه های اصلاح نژادی پیشرفته به کار روند. همچنین، استفاده از فناوری های مبتنی بر miRNA می تواند به کاهش تلفات، افزایش بهره وری و بهبود کیفیت تولید در صنعت آبزی پروری کمک کند.

نتیجه گیری: یافته ها بیانگر ظرفیت بالای کاربرد miRNAها در گذار از مدیریت واکنشی به مدیریت پیش بینانه و هوشمند سلامت آبزیان است. تحقق این امر نیازمند سرمایه گذاری در زیرساخت های تحقیقاتی، آموزش نیروی متخصص، و توسعه فناوری های بومی متناسب با شرایط صنعت آبزی پروری کشور است. به کارگیری این رویکرد می تواند گامی مؤثر در جهت پایداری و رقابت پذیری این صنعت در مقیاس ملی و بین المللی باشد.

کلمات کلیدی: آبزی پروری پایدار، پاسخ ایمنی، تنظیم بیان ژن، نشانگر زیستی، miRNA.

مقدمه

پاسخ ایمنی در ماهیان، فرآیندی چندوجهی و پیچیده است که شامل فعال‌سازی، تکثیر و تمایز انواع مختلف سلول‌های ایمنی می‌شود؛ فرآیندهایی که به‌طور عمیقی بر فنوتیپ سلولی اثرگذارند و بازتابی از تغییرات دقیق در بیان ژن‌ها به شمار می‌آیند. تنظیم بیان ژن، امری چندلایه و دقیق است که در سطوح سلولی و مولکولی متعددی کنترل می‌گردد. در این میان، ریز RNAها (miRNAs) به عنوان یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌های تنظیم پسارونویسی، نقشی محوری ایفا می‌کنند. این مولکول‌های کوچک غیرکدکننده، با طولی حدود ۲۲ نوکلئوتید، در تمام جانوران پرسلولی گسترده و فراوان هستند و توانایی تنظیم دقیق بیان ژن‌ها را از طریق اتصال به نواحی غیرترجمه‌شونده 3' UTR در مولکول‌های mRNA دارند. این اتصال غالباً منجر به سرکوب بیان ژن می‌شود که می‌تواند از طریق تسهیل تجزیه mRNA، ممانعت از اتصال آن به ریبوزوم یا حتی تخریب پروتئین‌های تازه‌سنتز شده صورت پذیرد (۱).

شایان ذکر است که در موارد استثنایی، miRNAها قادرند با اتصال به ناحیه 5' UTR بیان برخی ژن‌ها را افزایش دهند (۲، ۳). از منظر کارکرد زیستی، miRNAها در تنظیم فرآیندهای کلیدی همچون زمان‌بندی رشد، چرخه سلولی، حفظ پرتوانی سلول‌ها، تمایز سلولی، شبکه‌های تنظیمی بیان ژن و پایداری فنوتیپی نقش آفرینی می‌کنند (۴). افزون بر این، اهمیت آن‌ها در بروز و پیشرفت بیماری‌های گوناگون از جمله سرطان، ناباروری، مقاومت دارویی و فرآیندهای حیاتی نظیر اسپرماتوژنز به اثبات رسیده است (۵). این ویژگی‌ها نشان می‌دهد که miRNAها نه تنها به‌عنوان تنظیم‌کننده‌های بنیادی در زیست‌شناسی سلولی عمل می‌کنند، بلکه پتانسیل قابل توجهی در حوزه‌های تشخیصی و درمانی نیز دارند.

زیست‌شناسی miRNAها در ماهیان

ریز RNAها در فرآیندهای زیستی، محصول رونویسی ژن‌های اختصاصی توسط آنزیم RNA پلی‌مراز II هستند که ابتدا به شکل یک پیش‌ماده بلند و اولیه موسوم به pri-miRNA ظاهر می‌شوند. این pri-miRNAها تحت پردازش‌های پیچیده هسته‌ای قرار می‌گیرند؛ جایی که کمپلکس Drosha-DGCR8 نقش کلیدی در برش این مولکول‌های اولیه به شکل کوتاه‌تر و پیش‌پخته‌تری به نام pre-miRNA ایفا می‌کند. پس از تشکیل pre-miRNA، این مولکول‌ها از هسته به سیتوپلاسم منتقل می‌شوند، جایی که آنزیم حیاتی Dicer وارد عمل شده و pre-miRNA را به دو رشته‌ای بالغ را به miRNA تک‌رشته‌ای بالغ تبدیل می‌کند. در این مرحله، رشته راهنمای miRNA به کمپلکس پروتئینی مؤثر RNA-induced silencing complex (RISC) بارگذاری می‌شود؛ این کمپلکس قادر است به دقت مولکول‌های mRNA هدف را شناسایی کرده و بیان آن‌ها را از طریق مکانیزم‌های تنظیم بیان ژن پس از رونویسی تنظیم نماید (۱).

این فرآیند تنظیمی، به‌ویژه در ماهیان استخوانی (تلتوست‌ها) به خوبی حفظ شده و اهمیت قابل توجهی دارد، به گونه‌ای که تعداد قابل توجهی از miRNAهای اختصاصی با نقش‌های عملکردی متنوع در گونه‌های مختلف شناسایی شده‌اند و مطالعه بر روی آن‌ها، درک عمیقی از سازوکارهای تنظیمی مولکولی در این گروه را فراهم آورده است (۶). بدین ترتیب، مسیر بیوسنتزی و عملکردی miRNAها به عنوان یک سیستم تنظیمی چندمرحله‌ای و دقیق، زیربنای اساسی در تنظیم ژنتیکی و پاسخ‌های سلولی ماهیان محسوب می‌شود.

کاربرد عملکردی miRNAها در ارتقاء سلامت

ماهیان

الف) تنظیم پاسخ‌های ایمنی: پاسخ ایمنی ماهیان به عوامل بیماری‌زا، شامل فعال‌سازی و تمایز سلول‌های ایمنی،

ضدویروسی گردید. این شواهد به‌طور قاطع نقش کلیدی miRNAها، به‌ویژه *miR-462*، را در پاسخ ضدویروسی واسطه‌شده با RNAi برجسته می‌سازد (۸). چنین نتایجی نه تنها اهمیت miRNAها را به‌عنوان تنظیم‌کنندگان دقیق مسیرهای ایمنی ذاتی در آزمون آشکار می‌کند، بلکه امکان بهره‌گیری از آن‌ها به‌عنوان نشانگرهای زیستی (Biomarkers) برای تشخیص سریع بیماری‌هایی مانند VHS را نیز مطرح می‌سازد. با این حال، نیاز به پژوهش‌های عمیق‌تر برای شناسایی دقیق مسیرهای مولکولی هدف-*miR-462* و امکان مداخله ژنتیکی یا درمانی بر مبنای آن همچنان باقی است.

ب) پاسخ به استرس‌های محیطی: ماهیان، چه در زیستگاه‌های طبیعی و چه در محیط‌های پرورشی، مکرراً در معرض استرس‌های متنوعی نظیر تغییرات دمایی ناگهانی، افزایش یا کاهش شوری، کمبود اکسیژن (هیپوکسی) و نوسانات pH قرار می‌گیرند که می‌تواند به اختلال در عملکرد سلولی و آسیب اکسیداتیو منجر شود. یکی از مکانیسم‌های محافظتی سلول‌ها در برابر این استرس‌ها، القای خانواده‌ای از پروتئین‌های مولکولی به نام پروتئین‌های شوک حرارتی (Heat Shock Proteins یا HSPها) است. این پروتئین‌ها نقش مهمی در حفظ ساختار پروتئین‌ها، جلوگیری از تاخوردگی نامناسب، و کمک به بازسازی پروتئین‌های آسیب‌دیده دارند و به‌عنوان سامانه‌ای دفاعی در برابر شرایط نامساعد محیطی عمل می‌کنند (۹). در این میان، ریز RNAها به‌عنوان تنظیم‌کننده‌های پسارونویسی نقش کلیدی در کنترل بیان ژن‌های کدکننده HSPها و مولفه‌های مرتبط با پاسخ به استرس ایفا می‌کنند. برای نمونه، *miR-34* و *miR-210* که در مطالعات مختلف به‌ویژه در ماهیان تحت هیپوکسی بررسی شده‌اند (۱۰)، نشان داده‌اند که این miRNAها از طریق تنظیم مسیرهای سیگنالینگ مرتبط با استرس اکسیداتیو، میزان تولید HSPها را تنظیم

با تغییرات گسترده بیان ژن همراه است. ریز RNAها به‌ویژه *miR-146a*، *miR-155* و *miR-21* در کنترل مسیرهای TLR (Tool-like receptor)، NF- κ B (Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) و IL-1 β نقش اساسی دارند. مختصراً لازم به توضیح است که TLRها گیرنده‌هایی در سطح یا داخل سلول‌های ایمنی هستند که مولکول‌های مرتبط با عوامل بیماری‌زا (مثل قطعات ویروس‌ها یا باکتری‌ها) را شناسایی می‌کنند و شروع‌کننده پاسخ ایمنی ذاتی هستند. یک فاکتور رونویسی مهم با عنوان NF- κ B قادر است پس از فعال‌سازی توسط مسیرهای سیگنالی مانند TLR، وارد هسته سلول شود و بیان ژن‌های مرتبط با التهاب، پاسخ ایمنی و بقاء سلول را تنظیم کند. اینترلوکین-۱ β (IL-1 β) یک سیتوکین پروالتهابی کلیدی که توسط سلول‌های ایمنی ترشح می‌شود و نقش مهمی در تقویت و گسترش پاسخ التهابی و ایمنی دارد (۱). بررسی‌ها نشان داده‌اند که در قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) آلوده به ویروس سپتی‌سمی هموراژیک (VHS)، بیان دو میکرو RNA کلیدی *miR-462* و *miR-731* به‌شدت افزایش می‌یابد. این افزایش بیان با فعال‌سازی ژن‌های ضدویروسی نظیر Mx و VIG-1 و تحریک پاسخ اینترفرونی ارتباط مستقیم دارد (۴). در مطالعه‌ای دقیق‌تر تعدادی قزل‌آلا در سه گروه شامل کنترل منفی (غیرآلوده)، کنترل مثبت (آلوده بدون مداخله) و گروه آزمایشی آلوده شده از طریق تزریق داخل صفاقی با ویروس VHS مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که بیان *miR-462* در گروه آزمایشی به‌طور معناداری (۳/۵ برابر نسبت به کنترل) افزایش یافته است، که نقش بالقوه آن در دفاع ایمنی میزبان را تأیید می‌کند (۷). یافته‌های مکمل این پژوهش، اثرات خنثی‌سازی *miR-462* با استفاده از anti-*miR* را نیز بررسی کردند و نشان دادند که این مداخله منجر به افزایش تلفات ماهی و کاهش اثر حفاظتی Poly I:C به‌عنوان یک محرک پاسخ

می‌کنند و در نتیجه از آسیب سلولی ناشی از کمبود اکسیژن جلوگیری می‌نمایند. علاوه بر این، تغییرات بیان miRNAها در پاسخ به شوک حرارتی و استرس شوری نیز گزارش شده است که این مولکول‌ها با تنظیم ژن‌های مربوط به خانواده HSPs پاسخ سلولی را بهینه می‌سازند و تحمل ماهیان را به شرایط ناگوار محیطی افزایش می‌دهند. این مکانیسم‌های تنظیمی به ماهیان امکان می‌دهد تا ضمن حفظ تعادل پروتئینی و جلوگیری از استرس اکسیداتیو، در مواجهه با شرایط نامساعد محیطی بقا و عملکرد مناسبی داشته باشند. بنابراین، مطالعه تعاملات پیچیده بین miRNAها و پروتئین‌های شوک حرارتی، نه تنها درک عمیق‌تری از زیست‌شناسی استرس در ماهیان فراهم می‌آورد، بلکه می‌تواند راهکارهای نوینی برای بهبود مقاومت گونه‌های پرورشی در برابر تنش‌های محیطی ارائه دهد. این دانش، زمینه‌ساز توسعه استراتژی‌های تغذیه‌ای، ژنتیکی و مدیریتی هدفمند جهت افزایش تاب‌آوری و پایداری تولید در صنعت آبزی‌پروری خواهد بود.

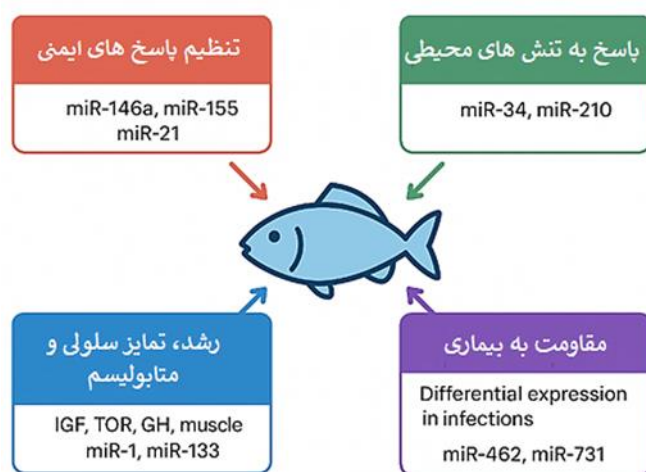
ج) مقاومت به بیماری‌ها و عملکرد تشخیصی (بایومارکری): بیان افتراقی miRNAها در برابر عفونت‌های ویروسی، باکتریایی و انگلی در ماهیان متعددی گزارش شده است. برای مثال، در کفشک زیتونی آلوده به VHSV، ۳۷۲ نوع miRNA بالغ شناسایی شد که *miR-153* بیشترین بیان را داشت و تغییر بیان آن با پیشرفت بیماری همبستگی داشت (۱۰). این ویژگی‌ها، miRNAها را به بیومارکرهای بالقوه برای تشخیص زودهنگام بیماری‌ها تبدیل کرده است (۶). در ماهیان استخوانی، دو miRNA مهم با نام‌های *miR-462* و *miR-731* تاکنون شناسایی شده‌اند که در قالب یک کلاستر ژنی در نزدیکی توالی‌های تنظیم‌کننده مرتبط با ایمنی قرار دارند. مطالعات نشان داده است که بیان این دو miRNA در کبد قزل‌آلای رنگین‌کمان آلوده به ویروس VHSV به‌شدت افزایش می‌یابد (۴). این افزایش بیان تحت

تأثیر اینترفرون‌های نوع I و II بوده و تزریق پلاسمیدهای کدکننده اینترفرون نوع یک (IFN-1: Interferon type-1) و اینترفرون-گاما (IFN- γ : Interferon gamma) موجب تقویت بیان آن‌ها در محل تزریق و کبد می‌شود. اهمیت عملکردی این miRNAها در مطالعه‌ای با استفاده از تزریق الیگونوکلوئوتیدهای متضاد *anti-miR-462* و *anti-miR-731* مشخص شد؛ به‌طوری که خنثی‌سازی این کلاستر باعث کاهش اثر محافظتی Poly I:C و افزایش تلفات ماهیان آلوده به VHSV شد. این یافته‌ها نشان می‌دهد که *miR-462* و *miR-731* نقش کلیدی در پاسخ ضدویروسی واسطه‌شده با RNAi دارند. به‌طور کلی، پاسخ‌های ضدویروسی مبتنی بر RNAi که در بی‌مهرگان و گیاهان به‌خوبی شناخته شده‌اند، در مهره‌داران نیز با مشارکت miRNAهای میزبان یا ویروس در حال بررسی هستند. برخی miRNAهای میزبان قادرند مستقیماً RNA ویروس را هدف قرار دهند یا از طریق تنظیم عوامل ایمنی سلولی، چرخه همانندسازی ویروس را مهار کنند. مهار IRF7 و p53 توسط miRNA می‌تواند فرآیند رونویسی ویروس را متوقف کند (۱۱).

د) رشد و تمایز سلولی و مکانیسم: ریز RNAها در تنظیم مسیرهای سیگنالینگ پیچیده‌ای که کنترل رشد، متابولیسم و بازسازی بافت‌ها را برعهده دارند، نقش کلیدی ایفا می‌کنند. به‌ویژه، برخی از miRNAها به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم محورهای حیاتی مانند مسیرهای IGF (Insulin-like Growth Factor)، TOR (Target of Rapamycin)، و هورمون رشد (GH: Growth Hormone) را هدف قرار می‌دهند که این مسیرها به عنوان تنظیم‌کننده‌های اصلی فرآیندهای رشد عضلانی، تقسیم سلولی و متابولیسم انرژی شناخته شده‌اند. در گونه‌های پرورشی مانند تیلاپای نیل (*Oreochromis niloticus*)، افزایش بیان miRNAهای خاص باعث فعال‌سازی محور GH/IGF-1 در عضلات

شرایط مختلف محیطی و تغذیه‌ای را بهینه کنند (۱۳). این تنظیمات مولکولی منجر به بهبود عملکرد رشد ماهیان، افزایش بهره‌وری تولید، کاهش هزینه‌های تغذیه و ارتقاء کیفیت محصول نهایی می‌شود. همچنین، فهم عمیق‌تر از نقش miRNAها در این مسیرها می‌تواند مبنایی برای توسعه استراتژی‌های نوین ژنتیکی و تغذیه‌ای فراهم کند که به‌طور خاص متناسب با نیازهای اقتصادی و زیستی صنعت آبی‌پروری طراحی شده‌اند. شماتیک ذیل (شکل ۱) کاربردهای چهارگانه عملکردی miRNAها را به خوبی نشان داده است.

اسکلتی می‌شود؛ این محور نقش محوری در تحریک سنتز پروتئین، افزایش اندازه و تعداد فیبرهای عضلانی و بازسازی سریع‌تر بافت‌های آسیب‌دیده دارد (۱۲). به عبارت دیگر، miRNAها از طریق تنظیم دقیق این مسیرهای سیگنالینگ، هم بهینه‌سازی مصرف مواد مغذی و انرژی و هم تسریع فرآیندهای رشد و ترمیم بافت را تسهیل می‌کنند. مسیر TOR، که به‌عنوان یک کیناز حساس به تغذیه و سیگنال‌های رشد شناخته می‌شود، با کنترل سنتز پروتئین و رشد سلولی، نقش مهمی در ارتقاء کارایی تغذیه و افزایش بازدهی پرورشی ایفا می‌کند miRNAها قادرند با تنظیم ژن‌های فعال یا مهارکننده این مسیر، پاسخ‌های سلولی به



شکل ۱: کاربردهای عملکردی miRNA در تنظیم پاسخ‌های ایمنی، مقاومت به بیماری و تنش‌های محیطی، رشد و تکوین

محل اصلی تولید و تجمع سلول‌های ایمنی هستند و بیان miRNAهای ایمنی در آنها به شدت قابل ردیابی است. (ب) **آبشش‌ها:** به عنوان اولین سد دفاعی در تماس با عوامل بیماری‌زای محیطی، بافتی کلیدی برای مطالعه پاسخ‌های ایمنی موضعی هستند.

(ج) **خون محیطی:** به دلیل دسترسی آسان و منعکس‌کننده وضعیت سیستمیک ایمنی، نمونه خون یک گزینه رایج برای پایش سلامت و پاسخ به بیماری است.

بافت‌های هدف، غربالگری و نمونه‌گیری

در مطالعات miRNA مرتبط با ایمنی و بیماری‌های عفونی در ماهیان، انتخاب بافت هدف به ماهیت پاتوژن و پاسخ ایمنی مورد بررسی بستگی دارد. مهم‌ترین بافت‌های هدف برای چنین مطالعاتی عبارتند از (۱۴):

(الف) **اندام‌های لنفوئید:** شامل کبد (به عنوان یک اندام ایمنی مهم در ماهیان که نقشی مشابه طحال در پستانداران دارد)، کلیه قدامی (مغز استخوان ماهیان) و طحال. مورد اخیر

پس از شناسایی miRNAها، هدفهای ژنی آنها با استفاده از نرم‌افزارهای پیش‌بینی (مانند TargetScan, miRanda, RNA22) پیش‌بینی می‌شوند. در نهایت، تجزیه و تحلیل مسیرهای غنی‌شده (Pathway Enrichment Analysis) با استفاده از پایگاه‌هایی مانند KEGG انجام می‌گیرد تا نقش بیولوژیکی miRNAهای شناسایی شده در مسیرهای ایمنی، متابولیسمی یا رشد مشخص گردد (۱۶).

چشم انداز کاربردی در آبی پروری

در حال حاضر، صنعت آبی‌پروری ایران — به‌ویژه در پرورش گونه‌هایی چون قزل‌آلای رنگین‌کمان، کپور معمولی و میگو — با چالش‌هایی جدی در حوزه بیماری‌های ویروسی، باکتریایی و انگلی، همچنین اثرات منفی تنش‌های محیطی (نوسانات دمایی، کمبود اکسیژن، شوری متغیر و آلودگی‌های شیمیایی) روبه‌رو است. غالب روش‌های موجود برای پایش و کنترل این تهدیدها، متکی بر ابزارهای تشخیصی دیر هنگام، درمان‌های دارویی پرهزینه و واکسن‌هایی با کارایی محدود در برخی شرایط می‌باشد. این امر موجب افزایش تلفات، کاهش رشد، و افت کیفیت محصول نهایی می‌شود. در فضای پژوهشی کشور، مطالعات مقدماتی در زمینه شناسایی و تحلیل بیان miRNAها در گونه‌های پرورشی کلیدی آغاز شده است، اما هنوز این دانش به‌طور نظام‌مند به سطح کاربرد صنعتی نرسیده است. بهره‌گیری هدفمند از miRNAها در آبی‌پروری ایران می‌تواند نقطه عطفی در گذار از مدیریت سنتی بیماری‌ها و تنش‌ها به مدیریت پیش‌نگر، دقیق و مبتنی بر زیست‌مولکول‌ها باشد. از منظر کاربردی، چند مسیر استراتژیک قابل ترسیم است:

تشخیص زودهنگام و پایش سلامت: توسعه کیت‌های تشخیصی میدانی بر پایه پروفایل‌های miRNA اختصاصی گونه و بیماری، می‌تواند امکان شناسایی عوامل بیماری‌زا در مراحل تحت‌بالینی را در مزرعه فراهم آورد. این فناوری با

برای نمونه‌گیری در مطالعات مربوط به miRNA در ماهیان، معمولاً پس از اتاناز کردن آنها مطابق با اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی، نمونه‌های بافتی به سرعت و با دقت جمع‌آوری می‌شوند. نمونه‌ها بلافاصله در محلول تثبیت‌کننده مخصوص RNA مانند RNAlater® غوطه‌ور شده یا در ازت مایع منجمد می‌گردند تا از تخریب RNA جلوگیری شود. نمونه‌ها تا زمان استخراج RNA دمای ۸۰- درجه سانتیگراد نگهداری می‌شوند (۷).

غربالگری miRNAها عمدتاً به دو روش صورت می‌پذیرد (۱۵):

- روش‌های مبتنی بر توالی‌یابی با کارایی بالا (High-Throughput Sequencing): در تداول متخصصین به توالی‌یابی کوچک RNA (small RNA-Seq) معروف است، یک روش کشف‌محور (Discovery-based) و جامع است. در این روش، کل کوچک RNAهای استخراج شده از بافت هدف، پس از آماده‌سازی کتابخانه، توالی‌یابی می‌شوند. با تطابق توالی‌های به دست آمده با پایگاه‌های داده (مانند miRBase) می‌توان تمام miRNAهای شناخته شده و حتی miRNAهای جدید را شناسایی و میزان بیان آنها را کمی‌سازی نمود.
- روش‌های مبتنی بر PCR: پس از شناسایی اولیه miRNAهای منتخب (مثلاً توسط توالی‌یابی یا مطالعات پیشین)، از روش‌های خاصی مانند Stem-loop RT-qPCR برای تأیید و بررسی دقیق‌تر الگوی بیان آنها در گروه‌های مختلف (مثلاً کنترل در مقابل آلوده) استفاده می‌شود. این روش بسیار حساس و اختصاصی است و برای راستی‌آزمایی نتایج توالی‌یابی به کار می‌رود.

تحقیقات نوین به روشنی آشکار ساخته‌اند که ریزRNAها، به‌عنوان تنظیم‌کننده‌های بنیادین بیان ژن در سطوح پسارونویسی، نه تنها در القا و تعدیل پاسخ‌های ایمنی ذاتی و اکتسابی ماهیان نقش‌آفرینی می‌کنند، بلکه به‌منزله ابزاری توانمند برای مداخله‌های پیشگیرانه و درمانی در صنعت آبزی‌پروری آینده نیز مطرح خواهند بود. این مولکول‌های کوچک، به‌واسطه قابلیت شناسایی و هدف‌گیری اختصاصی پیام‌رسان‌های کلیدی در مسیرهای ایمنی، متابولیسم و فیزیولوژیکی، ظرفیتی کم‌نظیر برای گذار از رویکردهای سنتی به سامانه‌های پیشرفته پایش و مدیریت سلامت فراهم می‌آورند.

در افق پیش‌رو، بهره‌گیری از پروفایل‌های بیان اختصاصی miRNA به‌عنوان نشانگرهای زیستی، می‌تواند زمینه‌ساز توسعه سامانه‌های تشخیص سریع، دقیق و غیرتهاجمی برای بیماری‌های ویروسی و باکتریایی باشد، به‌گونه‌ای که شناسایی عوامل بیماری‌زا در مراحل تحت‌بالینی و پیش از بروز علائم، در محیط مزرعه و کلینیک‌های تخصصی دامپزشکی آبزبان به امری رایج مبدل گردد. هم‌زمان، طراحی و به‌کارگیری درمان‌های مبتنی بر تعدیل مصنوعی miRNAها، اعم از آنتاگومی‌رها برای مهار مولکول‌های مضر و می‌میک‌ها برای القای مسیرهای حفاظتی، نویدبخش نسلی نو از داروهای مولکولی است که می‌تواند هم‌افزایی معناداری با واکسن‌ها و سایر مداخلات ایمنی‌زای کلاسیک ایجاد کند.

افزون بر این، انتظار می‌رود مهندسی هدفمند بیان miRNAهای مرتبط با تحمل تنش‌های محیطی — نظیر دما، شوری، هیپوکسی و آلودگی‌های شیمیایی — از طریق مداخلات تغذیه‌ای، نانوفناورانه یا ژنتیکی، به افزایش تاب‌آوری گونه‌های پرورشی بینجامد. همگرایی داده‌های ترنسکرپتوم، پروتئوم و miRNome در قالب سامانه‌های تحلیل چندلایه، به همراه بهره‌گیری از الگوریتم‌های هوش مصنوعی، این امکان

کاهش زمان واکنش به کانون‌های آلودگی، به شکل معناداری تلفات و هزینه‌های درمان را کاهش می‌دهد.

درمان و پیشگیری مولکولی: استفاده از آنتاگومی‌رها و می‌میک‌ها به‌عنوان مکمل یا جایگزین درمان‌های شیمیایی، می‌تواند با حداقل آسیب به میکروبیوم طبیعی، پاسخ‌های ایمنی حفاظتی را تقویت کند. این رویکرد، به‌ویژه در مدیریت بیماری‌های ویروسی مقاوم مانند VHS، قابلیت عملیاتی بالایی دارد. افزایش تاب‌آوری به تنش‌های محیطی: تنظیم مصنوعی miRNAهای مرتبط با تحمل استرس (گرما، هیپوکسی، شوری و آلودگی‌ها) از طریق تغذیه عملکردی، افزودنی‌های نانوفناورانه یا اصلاح ژنتیکی کنترل‌شده، می‌تواند موجب پایداری تولید و کاهش خسارات فصلی شود.

یکپارچه‌سازی با برنامه‌های اصلاح‌نژاد: استفاده از داده‌های miRNA در کنار نشانگرهای ژنتیکی و فنوتیپی، انتخاب مولدین با مقاومت ذاتی بالاتر را ممکن ساخته و به ایجاد نژادهای بهینه برای شرایط اقلیمی و آبی کشور می‌انجامد.

بومی‌سازی فناوری: ایجاد بانک‌های ملی miRNA برای گونه‌های پرورشی ایران و تدوین پروتکل‌های استاندارد، مسیر تولید دانش فنی بومی و کاهش وابستگی به منابع خارجی را هموار می‌سازد.

هم‌گرایی یافته‌های علمی با نیازهای عملی مزارع و کلینیک‌های دامپزشکی آبزبان کشور، می‌تواند آینده‌ای را رقم بزند که در آن، سلامت و بهره‌وری آبزبان نه تنها از طریق واکنش به بحران‌ها، بلکه با پیش‌بینی و پیشگیری هوشمندانه مدیریت شود. این مسیر، نیازمند سرمایه‌گذاری در زیرساخت‌های تحقیقاتی، آموزش نیروی انسانی متخصص، و حمایت سیاست‌گذاری برای انتقال فناوری به بدنه صنعت است.

چالش‌ها و آینده پژوهی

هستند، بلکه قابلیت تبدیل شدن به نشانگرهای زیستی حساس برای تشخیص زودهنگام بیماری‌ها را نیز دارند.

در صنعت آبی‌پروری ایران که با چالش‌های متعددی از جمله بیماری‌های ویروسی و استرس‌های محیطی مواجه است، بهره‌گیری هدفمند از miRNA ها می‌تواند به تحول اساسی در مدیریت سلامت آبزیان منجر شود. این تحول از طریق توسعه فناوری‌های تشخیص سریع مبتنی بر پروفایل‌های miRNA ، به‌کارگیری درمان‌های مولکولی پیشرفته، تقویت تاب‌آوری گونه‌ها نسبت به تنش‌ها و یکپارچه‌سازی این دانش در برنامه‌های اصلاح‌نژادی عملی خواهد شد. البته تحقق این چشم‌انداز نیازمند سرمایه‌گذاری مستمر در زیرساخت‌های تحقیقاتی، آموزش نیروی متخصص و سیاست‌گذاری حمایتی برای انتقال فناوری به سطح عملیاتی صنعت است. در نهایت، تلفیق دانش مولکولی با نیازهای عملی مزارع و کلینیک‌ها، زمینه‌ساز آینده‌ای پایدار و هوشمند در حوزه آبی‌پروری کشور خواهد بود.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافی را مابین خود گزارش نمی‌کنند.

فهرست منابع

1. Chendrimada T.P, Finn KJ, Ji X, Baillat D, Gregory RI, Liehaber SA, Shiekhatter R. MicroRNA silencing through RISC recruitment of eIF6. *Nature*. 2007; 447(7146): 823-828.
2. Vasudevan S, Tong Y, and Steitz JA. Switching from repression to activation: microRNAs can up-regulate translation. *Science*. 2007; 318(5858): 1931-1934.
3. Yusuff S, Kurath G, Sun Kim M, Tesfay T, Li J, McKeeny D. and Vakhari V. The glycoprotein, non viron protein, and

را فراهم خواهد کرد که گزینش مولدین و برنامه‌های اصلاح‌نژاد، بر پایه پیش‌بینی دقیق پاسخ به بیماری و استرس طراحی گردد.

انتقال این دستاوردها به عرصه کاربردی، مستلزم ایجاد بانک‌های جامع اطلاعاتی miRNA اختصاصی گونه‌های هدف، تدوین پروتکل‌های استاندارد برای نمونه‌گیری و تحلیل در شرایط مزرعه‌ای، و تربیت نیروی انسانی متخصص در حوزه دامپزشکی آبزیان مولکولی است. چنین رویکردی، با ایجاد پل ارتباطی میان پژوهش‌های بنیادی و نیازهای عملی صنعت، چشم‌اندازی را ترسیم می‌کند که در آن، پایش مستمر سلامت، تشخیص زودهنگام، و درمان هدفمند، ستون‌های اصلی مدیریت نوین سلامت آبزیان را تشکیل داده و به بهبود رفاه، کاهش تلفات و ارتقاء بهره‌وری اقتصادی می‌انجامد.

نتیجه‌گیری

ریز RNAها به‌عنوان مولکول‌های کلیدی تنظیم‌کننده بیان ژن در سطح پسارونویسی، نقش بنیادینی در پاسخ ایمنی، تحمل استرس‌های محیطی، رشد و بازسازی بافت‌ها، و مقاومت به بیماری‌ها در ماهیان ایفا می‌کنند. مطالعات متعدد نشان داده‌اند که این ریزمولکول‌ها نه تنها به‌طور مستقیم در مهار ویروس‌ها و تنظیم مسیرهای ایمنی دخیل

polymerase of viral hemorrhagic septicemia virus non determinets of host-specific virulence in rainboe trout. *Virology Journal*. 2019; 31: 16-31.

4. Bela-ong D, Schyth BD. and Lorenzen N. Involvement of two microRNAs in the early immune response to DNA vaccination against a fish rhabdovirus, *Immunology and Vaccinology*. 2014; 33(28): 3215-3222.

5. _Badr AA. Application of circulatin microRNAs to diseases diagnosis in veterinary medicine. 1 st National

Conference on Modern Veterinary Technologies. Amol University of Special Modern Technologies, 2021 September, Amol, Iran. (In Persian)

6. Ramachandran V. & Chen X. Degradation of microRNAs by a family of exoribonucleases in *Arabidopsis*. *Science*. 2008; 321: 1490-1492.

7. Pournik G, Bigdeli MR, Bananej M, Nazari K. Changes in *miR-462* gene expression of rainbow trout in response to cerebral hemorrhage caused by viral hemorrhagic septicemia (VHS). *Iranian Journal of Fisheries Sciences*. 2025; 24(5): 1175-1186.

8. Zhang Bc, Zhou ZJ & Sun L. pol-miR-731, a teleost miRNA upregulated by megalocytivirus, negatively regulates virus-induced type I interferon response, apoptosis and cell cycle arrest. *Scientific Reports*. 2016; 6: 28354.

9. Jeyachandran S, Chellapandian H, Park K, Kwak IS. A Review on the Involvement of Heat Shock Proteins (Extrinsic Chaperones) in Response to Stress Conditions in Aquatic Organisms. *Antioxidants (Basel)*. 2023; 18, 12(7): 1444.

10. Najib A, Kim MS, Choi SH, Kang YJ, Kim KH. Changes in microRNAs expression profile of olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) in response to viral hemorrhagic septicemia virus (VHSV) infection. *Fish & Shellfish Immunology*. 2016; 51: 384-391.

17.

11. Chang TC. & Mendell JT. microRNAs in vertebrate physiology and human disease. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*. 2007; 8: 215-39.

12. Huang W. MicroRNAs: Biomarkers, Diagnostics, and Therapeutics. *Methods in Molecular Biology*. 2017; 1617: 57-67.

13. Tripathi PH, Pandey A, Ciji A, Pande V, Rajesh M, Kamalam BS, Akhtar MS. Molecular characterization of four innate immune genes in *Tor putitora* and their comparative transcriptional abundance during wild- and captive-bred ontogenetic developmental stages. *Fish and Shellfish Immunology Reports*. 2022; 3: 100058.

14. Weiskirchen S, Schröder SK, Buhl EM, Weiskirchen R. A Beginner's Guide to Cell Culture: Practical Advice for Preventing Needless Problems. *Cells*. 2023; 21, 12(5): 682.

15. Zamanejad N, Begdeli M, Tebali A, Kahram H, Khabanian Asl A. Investigating the effect of antagomir omy-miR-731 on the neuropathophysiology of VHS disease in rainbow trout (Ph.D. Dissertation). Shahid Beheshti University, Tehran, Iran. 2018. (In Persian)

16. Yusuff S, Kurath G, Sun Kim M, Tesfay T, Li J, McKeeny D, Vakhari V. The glycoprotein, non viron protein, and polymerase of viral hemorrhagic septicemia virus non determinets of host-specific virulence in rainboe trout. *Virology journal*, 2019; 31: 16-31.



A Review of microRNA Applications for Enhancing Biological Processes and Promoting Fish Health

Gita Pournik¹, Mohammad Reza Bigdeli², Maryam Bananej³, Kavous Nazari⁴

1- Doctorate Graduate in Animal Physiology, Department of Biology, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

2-Associate Professor, Department of Physiology, Faculty of Biological Sciences, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran. Corresponding Author: mr_bigdeli@sbu.ac.ir

3- Associate Professor, Department of Biology, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

4- Assistant Professor, Agricultural Research and Education Organization of Iran, Tehran, Iran

Received:2025.06.12

Accepted: 2025.09.06

Abstract

Background & Aim: MicroRNAs (miRNAs), small non-coding molecules approximately 22 nucleotides in length, are recognized as key regulators of gene expression at the post-transcriptional level and play a fundamental role in modulating immune responses and enabling fish adaptation to diseases and environmental stressors. By modulating antiviral pathways, enhancing resistance to physicochemical stresses, and directing cellular growth and differentiation processes, miRNAs provide the necessary basis for improving the health and biological performance of aquatic animals. This study aims to elucidate the biological and functional roles of miRNAs in fish and to examine their potential applications for enhancing health and sustainability in the aquaculture industry.

Materials & Methods: This work was conducted as a narrative review. Relevant scientific resources—including research articles, review papers, and technical reports published in reputable international and national databases—were systematically searched and selected. Information was collected using a library-based approach, and data were analyzed through critical evaluation and comparative interpretation of the available evidence.

Results: Evidence indicates that miRNAs are actively involved in multiple pathways related to immunity, disease resistance, and environmental stress adaptation in fish. They can serve as innovative tools for developing rapid disease diagnostic systems, targeted molecular therapies, and advanced breeding programs. Moreover, miRNA-based technologies have the potential to reduce mortality, increase productivity, and improve product quality in aquaculture.

Conclusion: The findings highlight the high potential of miRNA applications in transitioning from reactive to predictive and intelligent aquatic animal health management. Achieving this shift requires investment in research infrastructure, training of specialized personnel, and the development of locally adapted technologies. Implementing such approaches could significantly enhance the sustainability and competitiveness of the aquaculture industry at both national and international levels.

Keywords: Biomarker, Immune response, miRNA, Regulation of gene expression, Sustainable aquaculture