Journal of Genetics and Plant Breeding
Online ISSN : 3060-7271
Iranian Genetics Society
Shahid Bahonar University of Kerman

Bioinformatic identification of three microRNAs and their target genes in the medicinal plant Pink Shepherd's-Purse (*Capsella rubella*)

Mahdis Barati fard

*Corresponding Author: MSc Student, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran. Email address: mahdis2478@gmail.com

Ehsan Mohseni fard

Associate Professor, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran. Email address: mohsenifard.ehsan@znu.ac.ir

Abstract

Objective

MicroRNAs are small, non-coding RNA molecules that play a role in regulating gene expression. MicroRNAs are transcribed by RNA polymerase II to generate precursors that undergo a series of cleavage events to form mature microRNAs. These small non-coding RNA molecules perform their regulatory role through the RISC complex. MicroRNAs play an important role in various plant processes, including growth, development, and response to biotic and abiotic stresses. This study aims to identify conserved microRNAs and their target genes in *Capsella rubella*, an annual plant known for its anti-contraction and anti-inflammatory effects.

Materials and Methods

MicroRNA homologs in *C. rubella* were identified using Arabidopsis microRNAs. The stem-loop structures generating mature microRNAs were predicted, the locations of the mature microRNAs on these structures were determined, and potential target genes for each microRNA were predicted.

Results

Three conserved microRNAs were predicted: Cru-miR156, Cru-miR169, and Cru-miR171. A total of 12 potential target genes were identified for these three microRNAs. These genes are mainly transcription factors involved in various important plant processes, such as the transition from the vegetative to the reproductive phase and responses to stresses.

Conclusion

No microRNA has been reported for this plant in the miRBase database, making this the first report of microRNAs and their potential target genes in *C. rubella*. These findings contribute to a better understanding of the processes regulated by microRNAs in this plant, such as growth, development, and stress responses.

Keywords: Gene ontology, Noncoding genes, Transcription factor.

Paper Type: Research Paper.

Citation: Barati fard M, Mohseni fard E (2024) Bioinformatic identification of three micrornas and their target genes in the medicinal plant Pink Shepherd's-Purse (*Capsella rubella*). *Journal of Genetics and Plant Breeding* 1 (2), 17-30.

Journal of Genetics and Plant Breeding 1 (2), 17-30. DOI: 10.22103/gpb.2025.23262.1009

Received: April 20, 2024. Received in revised form: May 11, 2024.

Accepted: May 13, 2024. Published online: June 29, 2024.

Publisher: Research and Technology Institute of Plant Production, Afzalipour Research Institute, Shahid Bahonar University of Kerman and Iranian Genetics Society.

© the authors

مجله ژنتیک و به نژادی گیاهی
شاپا الکترونیکی: ۷۲۷۱-۳۰۶۰
انجمن ژنتیک ایران
دانشگاه شهید باهنر کرمان
پژوهشگاه فضلی پور

شناسایی بیوانفورماتیکی سه microRNA و ژن‌های هدف آن‌ها در گیاه دارویی کیسه کشیش صورتی (*Capsella rubella*)

مهدیس براتی‌فرد

*نویسنده مسئول: دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران. رایانامه: mahdis2478@gmail.com

احسان محسنی‌فرد

دانشیار، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران. رایانامه: mohsenifard.ehsan@znu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۲/۱ تاریخ دریافت فایل اصلاح شده نهایی: ۱۴۰۳ /۰۲/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۲/۲۴

چکیده

هدف: microRNAها مولکول‌های RNA غیرکدکننده کوچک هستند که در تنظیم بیان ژن‌ها نقش دارند. microRNAها توسط RNA پلیمراز II رونویسی می شوند و پیش سازهایی تولید می‌کنند که تحت یک سری رویدادهای برش قرار می‌گیرند تا microRNA بالغ را تشکیل دهند. این مولکول‌های RNA غیرکدکننده کوچک با استفاده از کمپلکس RISC نقش تنظیمی خود را انجام می‌دهند. microRNAها نقش مهمی در فرآیندهای مختلف گیاه از جمله رشد، نمو و پاسخ به محرک‌های زیستی و غیرزیستی ایفا می‌کنند. این پژوهش با هدف شناسایی microRNAهای حفاظت‌شده و ژن‌های هدف آن‌ها در گیاه دارویی کیسه کشیش صورتی (*Capsella rubella*) که گیاهی یک ساله با اثرات ضد انقباضی و ضد التهابی می‌باشد، انجام شد.

مواد و روش‌ها: با استفاده از microRNAهای آرابیدوپسیس رونوشت‌های همولوگ آن‌ها در *C. rubella* شناسایی شد. سپس ساختار ساقه–حلقه تولیدکننده microRNAهای بالغ ترسیم شده، بخشی از توالی ساختار ساقه–حلقه که microRNA بالغ را شامل می‌شود، مشخص گردید و در نهایت ژن‌های هدف بالقوه هرکدام از microRNAها مشخص شدند.

نتایج : سه microRNA حفاظت شده در این گیاه با نام‌های Cru-miR156، Cru-miR169 و Cru-miR171 شناسایی شدند. برای این سه microRNA در مجموع ۱۲ ژن هدف بالقوه شناسایی شد. این ژن‌ها عمدتا فاکتورهای رونویسی هستند که در بسیاری از فرآیندهای مهم گیاه مانند انتقال فاز رویشی به زایشی و پاسخ به تنش‌ها ایفای نقش می‌کنند.

نتیجه‌گیری: تاکنون هیچ microRNA برای این گیاه در پایگاه اطلاعاتی miRBase معرفی نشده و این اولین گزارش در زمینه microRNAها و ژن‌های بالقوه آن‌ها در گیاه *C. rubella* می‌باشد. این یافته‌ها می‌توانند درک بهتر فرآیندهای تحت کنترل microRNAها از رشد و نمو گرفته تا پاسخ به تنش‌های محیطی را در این گیاه موجب شود.

کلیدواژه‌ها: ژن‌های غیر کدکننده، فاکتور رونویسی، هستی شناسی ژن.

نوع مقاله: پژوهشی.

استناد: براتی‌فرد مهدیس، محسنی‌فرد احسان (۱۴۰۳) شناسایی بیوانفورماتیکی سه microRNA و ژن‌های هدف آن‌ها در گیاه دارویی کیسه کشیش صورتی (*Capsella rubella*). *مجله ژنتیک و به‌نژادی گیاهی*، ۱(۲)، ۳۰-۱۷.

Publisher: Research and Technology Institute of Plant Production, Afzalipour Research Institute, Shahid Bahonar University of Kerman and Iranian Genetics Society

© the authors

مقدمه

گیاه کیسه کشیش صورتی (*Capsella rubella*) بومی مناطق مدیترانه بوده و بسیار شبیه گیاه *Capsella bursa-pastoris* می‌باشد (Radonić et al. 2020). گیاه *C. rubella* گیاهی است یک ساله با ساقه‌ای منشعب، دارای ریشه‌ای دوکی و میوه‌های قلبی شکل که تقریبا در هر نوع خاکی رشد می‌کند. گیاه *C. rubella* دارای متابولیت‌های ثانویه‌ای مانند ترکیبات فنلی، فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، گلوکوسینولات و ساپونین‌ها می‌باشد (Grosso et al. 2011). همچنین از مهمترین ترکیباتی که در گونه‌های این جنس یافت می‌شود می‌توان به آمینواسیدها، هیستامین، تیرامین، اسیدهای چرب، استرول‌ها، ویتامین‌ها، تانن‌ها، استیل کولین، فلاونوئیدها، بتاکاروتن، کلسیم، پتاسیم، آهن، تیامین، نیاسین و اسید آسکوربیک اشاره کرد. همچنین این گیاه دارای اثرات ضدالتهابی و انقباضی بوده و برای درمان بیماری‌هایی مانند التهاب کلیه‌ها، ادم، فشارخون بالا و سوزش ادرار استفاده می‌شود (Al-Snafi 2015; Grosso et al. 2011).

با کشف microRNAها در گیاهان مسیر جدیدی برای درک چگونگی تنظیم بیان ژن‌ها در شرایط مختلف فراهم شده است. شناسایی و مطالعه سازوکارهای کنترل توسط این RNAهای کوچک، می‌تواند ابزار جدیدی برای به‌نژادی ژنتیکی در آینده محسوب شود. microRNAها مولکول‌های RNA کوچک تک‌رشته‌ای غیرکدکننده و تنظیمی هستند که طولی بین ۱۹ تا ۲۴ نوکلئوتید داشته و نقش مهمی را در تنظیم بیان ژن در یوکاریوت‌ها از طریق تجزیه mRNA یا ممانعت از ترجمه آن ایفا می‌کنند

(Baulcombe 2004). microRNAها توسط RNA پلی‌مرازII[1]از ژن‌های MIR رونوشت برداری می‌شوند به این معنی که RNA پلیمراز مسئول رونویسی از ژن‌های کدکننده پروتئین و microRNAها یکسان است (Lee et al. 2004). این رونوشت RNA نیز دارای کلاهک و دم پلی آدنین می‌باشد. سپس این RNA تک رشته‌ای تشکیل یک ساختار ساقه–حلقه[2]را می‌دهد. در مرحله بعد دو برش متوالی در ناحیه ساقه توسط آنزیم DCL1[3] انجام شده که در نهایت تولید RNA دو رشته‌ای کوچکی با انتهای ۳´ آزاد می‌کند (Flynt & Lai 2008). سپس این مولکول کوچک دو رشته‌ای که microRNA/microRNA* نامیده می‌شود توسط پروتئینی به نام HASTY از هسته به سیتوپلاسم منتقل شده و درون یک کمپلکس پروتئینی به نام مجموعه خاموشی القا شونده توسط RNA (RISC[4]) ، جای می‌گیرد. microRNA* در این مرحله حذف شده و microRNAای که باقی می‌ماند از این مرحله به بعد miRNA بالغ[5]نامیده شده و درون پروتئینی به نام آرگونات[6]که جزء اصلی مجموعه RISC است قرار می‌گیرد (Vaucheret 2008). مجموعه خاموشی در این لحظه قابلیت شناسایی ژن هدف را داشته و microRNA بالغ پروتئین‌های آرگونات را از طریق مکمل بودن بازها بین توالی microRNA بالغ و mRNA هدف رونوشت‌ها هدایت می‌کنند. سپس منجر به برش mRNA یا مهار ترجمه آن‌ها می‌شود (Bartel 2005). اکثر microRNAهای شناخته‌شده گیاهی به ناحیه کدکننده پروتئین (CDS) متصل شده و عمل تنظیمی خود را عموما به‌صورت برش و در مواردی به‌صورت ممانعت از ترجمه انجام می‌دهند (Tang 2010). برخی از microRNAها در گونه‌های گیاهی حفاظت‌شده هستند و معمولاً ژن‌های هدف مشابهی را کنترل می‌کنند (Jones-Rhoades 2012). در مجموع نتایج حاصل از مطالعات بر روی microRNAهای گیاهی، ۲۰ خانواده microRNA حفاظت‌شده معرفی شده‌اند که هر کدام شامل اعضای متنوعی می‌باشند (Axtell & Bowman 2008). تعداد زیادی از این microRNAهای حفاظت‌شده، mRNAهای کدکننده فاکتورهای رونویسی را کنترل می‌کنند (Axtell & Bowman 2008).

microRNAها در فرآیندهای مختلف بیولوژیکی و متابولیکی در گیاه، شامل سیگنالینگ اکسین، تشکیل مریستم، نمو برگ، تشکیل ریشه‌های عرضی، انتقال از مرحله رشد گیاهچه‌ای به رویشی و از رویشی به زایشی و تولید مثل، نقش دارند. microRNAها همچنین در تنظیم پاسخ گیاه به تنش‌های زیستی و غیرزیستی نقش دارند (Khraiwesh et al. 2012). باتوجه به رشد روزافزون پایگاه‌های داده توالی و ابزارهای بیوانفورماتیکی امروزه امکان شناسایی microRNAها و ژن‌های هدف آن‌ها از طریق روش‌های بیوانفورماتیکی وجود دارد (Grosso et al. 2011). هدف این مطالعه شناسایی microRNAهای حفاظت‌شده و ژن‌های هدف آن‌ها در گیاه *C. rubella* می‌باشد.

[1] RNA polymerase ii
[2] Stem-loop
[3] Dicer-like1
[4] RNA Induced Silencing Complex
[5] Mature miRNA
[6] Argonaute

مواد و روش‌ها

با توجه به قرابت ژنتیکی *C. rubella* با آرابیدوپسیس، به‌منظور شناسایی microRNAهای جدید در این تحقیق، تمام microRNAهای بالغ شناخته شده آرابیدوپسیس موجود در پایگاه اطلاعاتی miRBase (https://www.mirbase.org) نسخه ۲۲ دریافت گردید. از microRNAهای دریافت‌شده و با استفاده از ابزار BLAST در برابر توالی های نوکلئوتیدی شناخته شده در پایگاه‌های داده phytosome (https://phytozome-next.jgi.doe.gov) و ncbi (https://www.ncbi.nlm.nih.gov) توالی‌های هومولوگ در *C. rubella* شناسایی شدند. حداکثر اجازه سه نوکلئوتید عدم جفت شدگی و یک گپ در BLAST داده شد. برای حذف رونوشت‌های کدکننده از BLASTx استفاده شده و فقط توالی‌های غیرکدکننده برای شناسایی microRNAهای جدید استفاده شدند. از ابزار برخط Mfold (http://www.unafold.org/mfold/applications/rna-folding-form.php) برای آنالیز ساختار ثانویه microRNAهای شناسایی شده و رسم ساختار ساقه–حلقه استفاده شد. همچنین از ComTAR (http://rnabiology.ibr-conicet.gov.ar/comtar) و psRNATarget (https://www.zhaolab.org/psRNATarget/home) که پایگاه آنلاین شناسایی ژن‌های هدف microRNAها می‌باشند به‌منظور شناسایی ژن‌های هدف بالقوه برای microRNAهای بالغ استفاده شد. بررسی هستی‌شناسی (gene ontology) ژن‌های هدف با استفاده از ابزار GSEA (https://www.gsea-msigdb.org/gsea/index.jsp) مشخص شد. همچنین ارتباط ژن‌های هدف و microRNAها با استفاده از نرم افزار Cytoscape ترسیم شدند.

نتایج و بحث

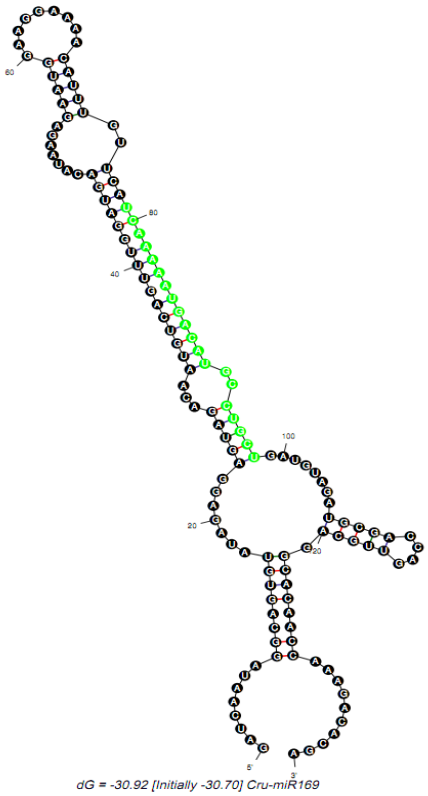
در این مطالعه سه microRNA شامل Cru-miR156 ، Cru-miR169 و Cru-miR171 شناسایی شد (جدول ۱). با توجه به اینکه این microRNAها براساس همولوژی و شباهت با توالی‌های microRNA شناخته شده آرابیدوپسیس شناسایی شده‌اند لذا اسامی بر این اساس انتخاب شد. این‌ها از جمله microRNA حفاظت‌شده گیاهی هستند به این معنی که در بسیاری از گیاهان دیگر مانند برنج، جو، گندم و ... شناسایی شده‌اند (Ehya et al. 2013; Bakhshi et al. 2016; Bakhshi et al. 2017; Fard et al. 2017; ramzow & Theißen 2019; Bakhshi & Fard 2023). هرچند گاهی تفاوت یک یا دو نوکلئوتیدی بین آن‌ها مشاهده می‌شود.

جدول ۱. توالی و طول microRNAهای شناسایی شده در *C. rubella*

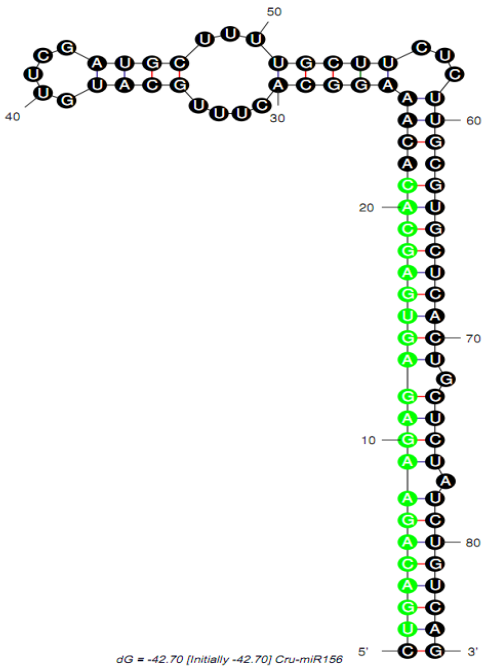
Table 1. Sequence and length of identified microRNAs in C. rubella

نام Name	خانواده Family	طول microRNA بالغ به نوکلئوتید Mature microRNA length in nucleotides	توالی microRNA بالغ (5′→3′) Mature microRNA sequence (5′→3′)
Cru-miR156	miR156	20	UGACAGAAGAGAGUGAGCAC
Cru-miR169	miR169	20	UCAAAAAUGACAUGCCUGCU
Cru-miR171	miR171	21	UGAUUGAGCCGUGCCAAUAUC

با توجه به اینکه تولید microRNAها[1] مستلزم تشکیل ساختار ساقه–حلقه مناسب می‌باشد لذا ساختار ساقه–حلقه این microRNAها رسم‌شد و ناحیه‌ای که microRNA بالغ تولید می‌شود مشخص گردید (شکل ۱).

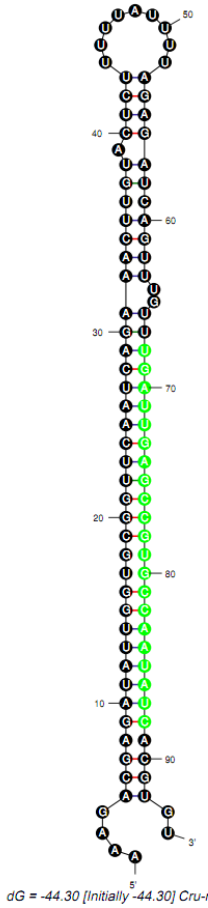


Cru-miR169



Cru-miR156

[1] microRNA biogenesis



Cru-miR171

شکل ۱. ساختار ساقه-حلقه پیش‌سازهای تولیدکننده microRNAها که توسط Mfold رسم شده است. نواحی که با رنگ سبز هایلایت شده ناحیه microRNA بالغ را نشان می‌دهد

Fig 1. Drawing of Precursor sequences and the predicted stem-loop structures microRNAs using Mfold. The regions highlighted in green show the mature microRNA region

در مجموع ۱۲ ژن هدف بالقوه برای این سه microRNA شناسایی شد (شکل ۲). با بررسی هستی شناسی[1] ژن‌های هدف شناسایی شده، مشخص شد که بسیاری از آن‌ها فاکتورهای رونویسی هستند و در تنظیم فعالیت‌های کلیدی گیاه نقش دارند (جدول ۲).

[1] Ontoloy

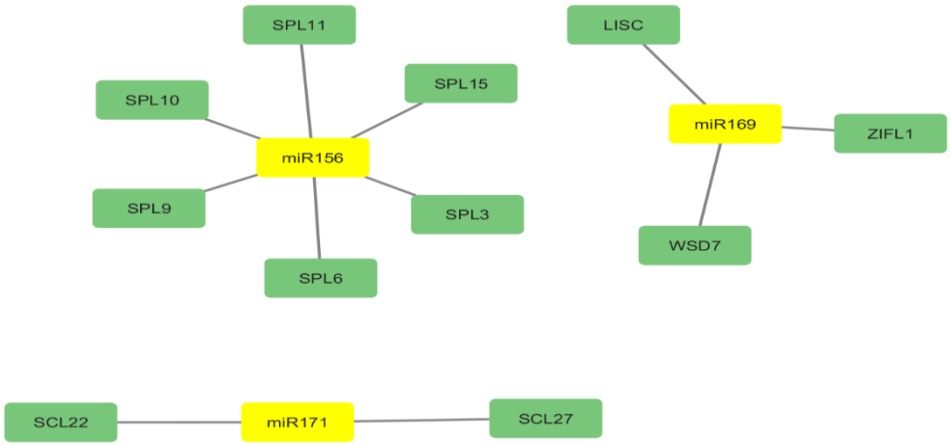
جدول ۲. کدهای هستی شناسی ژن‌های هدف

Table 1. Gene ontology IDs of target genes

نام ژن Gene name	کدهای هستی شناسی Gene ontology IDs
SPL10	GO:0003700; GO:0005634; GO:0006355; GO:0010358; GO:0043565; GO:0045893; GO:0046872; GO:0048510; GO:0090356
SPL11	GO:0003677; GO:0003700; GO:0005634; GO:0006355; GO:0046872; GO:0048510; GO:0090356
SPL6	GO:0000976; GO:0003700; GO:0005634; GO:0006355; GO:0010468; GO:0042742; GO:0046872
SPL9	GO:0003677; GO:0003700; GO:0005634; GO:0005737; GO:0006355; GO:0046872; GO:0048366; GO:0048653; GO:2000025
SPL2	GO:0000976; GO:0003700; GO:0005634; GO:0006355; GO:0046872; GO:0048510; GO:0048653; GO:0090356
SPL15	GO:0003677; GO:0003700; GO:0005634; GO:0006355; GO:0008361; GO:0042127; GO:0046872; GO:0048653
SPL3	GO:0003677; GO:0003700; GO:0005634; GO:0005737; GO:0009908; GO:0009911; GO:0010228; GO:0010229; GO:0010321; GO:0030154; GO:0046872
LISC	GO:0009507; GO:0016992; GO:0046872; GO:0051539
ZIFL1	GO:0005886; GO:0009414; GO:0009630; GO:0009705; GO:0010540; GO:0022821; GO:0048364; GO:0090333
WSD7	GO:0000139; GO:0004144; GO:0005783; GO:0005789; GO:0005794; GO:0005886; GO:0009414; GO:0009651; GO:0009737; GO:0010025; GO:0019432; GO:0047196; GO:0102966
SCL27	GO:0000976; GO:0003700; GO:0005634; GO:0006355; GO:0030154; GO:0048768; GO:0051301
SCL22	GO:0003700; GO:0005634; GO:0006355; GO:0030154; GO:0048768; GO:0051301

در این مطالعه ژن های *SPL2*، *SPL3*، *SPL6*، *SPL9*، *SPL10*، *SPL11* و *SPL15* به‌عنوان مهمترین ژن های کنترل شونده تو سط Cru-miR156 در گیاه *C. rubella* معرفی شده‌اند. miR156 از حفاظت شده‌ترین microRNAهای گیاهی است که در بیش از ۴۰ گونه گیاهی شناسایی شده است و در کنترل تعدادی از ژن‌های کدکننده فاکتورهای رونویسی به نام *SPL*ها نقش دارد (Li et al. 2008; Ding et al. 2009; Li et al. 2011). فاکتورهای رونویسی SPL حاوی دمین حفاظت‌شده SBP بوده و اختصاصی گیاهان هستند و نقش آن‌ها در بسیاری از فرآیندهای مهم گیاه مانند پاسخ به تنش‌های

محیطی، نمو بافت و تحریک و فعال‌سازی سایر فاکتورهای رونویسی نقش دارند (Wang et al. 2009). علاوه بر توالی miR156 توالی جایگاه اتصال در رونوشت ژن‌های *SPL* نیز بسیار حفاظت شده است که نشان‌دهنده نقش کلیدی microRNAها در تنظیم میزان بیان این فاکتورهای رونویسی و اهمیت تنظیم بیان این ژن‌ها در سطح پس از رونوشت‌برداری می‌باشد. ژن‌های هدف شناسایی شده برای Cru-miR169 عبارت بودند از *ZIFL1* و *WSD7* که اولی یک ترانسپورتر و دومی یکی از ژن‌های دخیل در بیوسنتز تری‌گلیسیرید می‌باشد. این ترانسپورتر احتمالاً در انتقال ۲،۴–دی کلروفنوکسی استیک اسید (۲،۴–D) نقش داشته و با تعدیل فرآیندهای مرتبط با اکسین در ریشه در انتقال اکسین نقش دارد. این ترانسپورتر به‌عنوان یک تنظیم کننده مثبت انتقال به سمت اندام هوایی در راس ریشه عمل می‌کند. همچنین گفته شده که ممکن است در جریان پروتون از محفظه واکوئولی نقش داشته و با تنظیم بسته شدن روزنه، تحمل تنش خشکی را میانجی‌گری کند (Cabrito et al. 2009; Remy et al. 2013).



شکل ۲. ترسیم ژن‌های هدف شناسایی شده برای Cru-miR156 ، Cru-miR169 و Cru-miR171 با ابزار Cytoscape

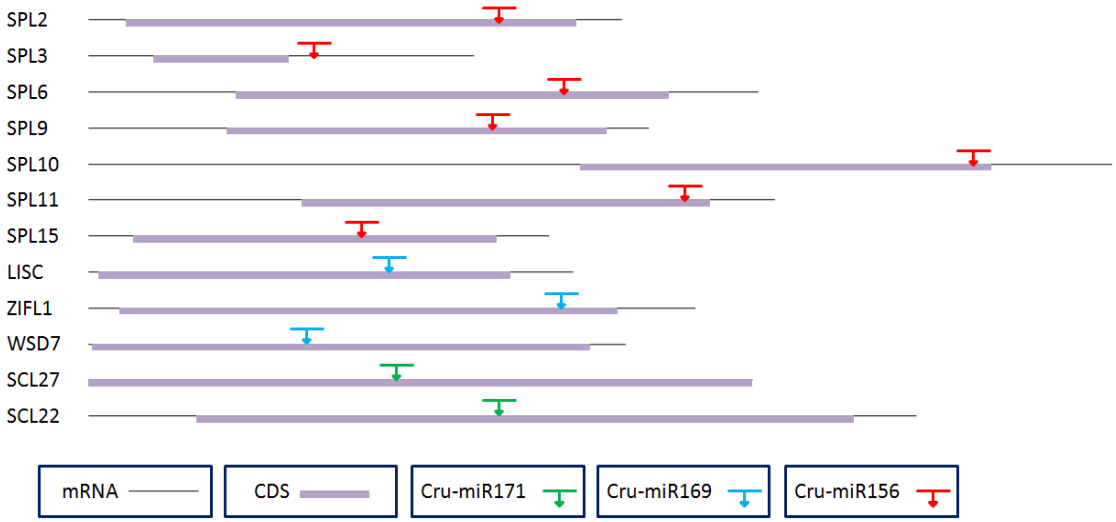
Fig 2. Drawing of identified target genes for Cru-miR156, Cru-miR169 and Cru-miR171 using Cytoscape

خانواده miR169 نیز یکی از بزرگترین خانواده‌های microRNA شناخته شده گیاهی است و در بسیاری از گونه‌ها شناسایی شده است. اعضای این خانواده در پاسخ به بسیاری از تنش‌ها به‌ویژه تنش خشکی نقش دارند. اگرچه ژن‌های هدف

شناسایی شده برای Cru-miR169 در این گیاه عبارت بودند از یک ترانسپورتر و یک ژن دخیل در بیوسنتز تری‌گلیسیرید با این وجود در آرابیدوپسیس miR169 زیر واحد A فاکتور رونویسی NF-Y را هدف قرار می‌دهد (Li et al. 2008).

مشخص شد که Cru-miR171 نیز ژن‌های فاکتور رونویسی *SCL22* و *SCL27* را هدف قرار می‌دهد.miR171 نیز بسیار حفاظت شده است. فاکتورهای رونویسی SCL از جمله اعضای خانواده فاکتورهای رونویسی GRAS بوده و نقش عمده‌ای را در تو سعه ری شه، اندام هوایی و انتقال پیام هورمونی ایفا می‌کنند. مطالعات قبلی ن شان داده ا ست که در بافت‌های جوان افزایش بیان miR171 وجود دارد در صورتی که با افزایش توسعه و نمو اندام‌ها، کاهش آن مشاهده می شود (Válóczi et al. 2006). به‌طور کلی، miR171 برای تمام مراحل رشد و نمو گیاه حیاتی بوده و ژن‌های هدف آن در طول چرخه زندگی گیاه، از رشد جنینی گرفته تا رشد رویشی و زایشی، نقش‌های تنظیمی ضروری را ایفا می‌کنند (Pei et al. 2023).

ساز و کار تنظیم ژن‌های هدف در تمام موارد به‌صورت برش شناسایی شد. همچنین به‌جز در مورد *SPL3* که مکان برش در ناحیه 3′UTR (ناحیه ترجمه نشونده انتهای 3′) بود در همه موارد دیگر مکان برش در ناحیه CDS (ناحیه کدکننده) ژن‌ها قرار داشت (شکل ۳). برخلاف جانوارن که محل اتصال microRNA به ژن هدف در ناحیه UTR واقع است در گیاهان محل شناسایی در عمده ژن‌های هدف در ناحیه CDS واقع شده است (Tang 2010).



شکل ۳. جایگاه اتصال microRNAها بر روی ژن‌های هدف. CDS: ناحیه کدکننده پروتئین

Fig 3. MicroRNAs binding site on target genes. CDS: coding sequence. Left to right 5'→3'

نتیجه‌گیری: امروزه گیاهان دارویی از اهمیت بالایی برخودار هستند با این وجود تاکنون مطالعات زیادی در زمینه فرآیندهای مولکولی این گیاهان و مخصوصاً microRNAها و سازوکارهای تنظیمی تحت کنترل آن‌ها انجام نشده است. به‌دلیل آن‌که microRNAها در تنظیم بیان ژن نقش بسیار مهمی دارند، بنابراین شناسایی و بررسی microRNAها در این گونه نیز مانند سایر گونه‌ها از اهمیت بالایی برخوردار است. در این مطالعه سه microRNA جدید شناسایی شد که از microRNAهای حفاظت‌شده گیاهی به‌شمار می‌روند. شناسایی ژن‌های هدف برای این microRNAها با استفاده از روش‌های مبتنی بر پیش‌بینی بیوانفورماتیکی انجام شد و مشخص شد که این ژن‌ها عمدتاً از فاکتورهای رونویسی شناخته شده گیاهی هستند که نقش آن‌ها در بسیاری از فرآیندهای گیاه مانند پاسخ به تنش‌ها و نمو معرفی شده است. این یافته‌ها می‌توانند درک بهتر فرآیندهای تحت کنترل microRNAها که در سازوکارهای مختلف گیاه از رشد و نمو گرفته تا پاسخ به تنش‌های محیطی نقش دارند، را موجب شود. بررسی تغییرات بیان این microRNAها و ژن‌های هدف آن‌ها می‌تواند نحوه تنظیم و تعامل آن‌ها با یکدیگر را بیشتر آشکار کند.

References

Al-Snafi, A. E. (2015). The chemical constituents and pharmacological effects of Capsella bursa-pastoris-A review. *International Journal of Pharmacology and toxicology*, *5*(2), 76-81.

Axtell, M. J., & Bowman, J. L. (2008). Evolution of plant microRNAs and their targets. *Trends in Plant Science*, *13*(7), 343-349. https://doi.org/10.1016/j.tplants.2008.03.009

Bakhshi, B., & Fard, E. M. (2023). The arrangement of MicroRNAs in the regulation of drought stress response in plants: a systematic review. *Plant Molecular Biology Reporter*, *41*(3), 369-387. https://doi.org/10.1007/s11105-023-01380-y

Bakhshi, B., Fard, E. M., Gharechahi, J. et al. (2017). The contrasting microRNA content of a drought tolerant and a drought susceptible wheat cultivar. *Journal of Plant Physiology*, *216*, 35-43. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2017.05.012

Bakhshi, B., Mohseni Fard, E., Nikpay, N. et al. (2016). MicroRNA signatures of drought signaling in rice root. *PloS One*, *11*(6), e0156814. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0156814

Bartel, D. P. (2005). MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*, *116*(2), 281-297. https://doi.org/10.1016/S0092-8674(04)00045-5

Baulcombe, D. (2004). RNA silencing in plants. *Nature*, *431*(7006), 356-363. https://doi.org/10.1038/nature02874

Cabrito, T. R., Teixeira, M. C., Duarte, A. A., Duque, P., & Sá-Correia, I. (2009). Heterologous expression of a Tpo1 homolog from Arabidopsis thaliana confers resistance to the

herbicide 2, 4-D and other chemical stresses in yeast. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *84*, 927-936. https://doi.org/10.1007/s00253-009-2025-5

Chen, X., Zhang, Z., Liu, D., Zhang, K., Li, A., & Mao, L. (2010). SQUAMOSA promoter-binding protein-like transcription factors: Star players for plant growth and development. *Journal of Integrative Plant Biology*, *52*(11), 946-951. https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2010.00987.x

Ding, D., Zhang, L., Wang, H., Liu, Z., Zhang, Z., & Zheng, Y. (2009). Differential expression of miRNAs in response to salt stress in maize roots. *Annals of Botany*, *103*(1), 29-38. https://doi.org/10.1093/aob/mcn205

Ehya, F., Monavarfeshani, A., Mohseni Fard, E., Karimi Farsad, L., Khayam Nekouei, M., Mardi, M., & Salekdeh, G. H. (2013). Phytoplasma-responsive microRNAs modulate hormonal, nutritional, and stress signalling pathways in Mexican lime trees. *PloS One*, *8*(6), e66372. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0066372

Fard, E. M., Bakhshi, B., Keshavarznia, R., Nikpay, N., Shahbazi, M., & Salekdeh, G. H. (2017). Drought responsive microRNAs in two barley cultivars differing in their level of sensitivity to drought stress. *Plant Physiology and Bbiochemistry*, *118*, 121-129. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.06.007

Flynt, A. S., & Lai, E. C. (2008). Biological principles of microRNA-mediated regulation: shared themes amid diversity. *Nature Reviews Genetics*, *9*(11), 831-842. https://doi.org/10.1038/nrg2455

Gramzow, L., & Theißen, G. (2019). Plant miRNA conservation and evolution. *Plant MicroRNAs: Methods and Protocols*, 41-50. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9042-9_3

Grosso, C., Vinholes, J., Silva, L. R., Pinho, P. G. d., Gonçalves, R. F., Valentão, P., . . . Andrade, P. B. (2011). Chemical composition and biological screening of Capsella bursa-pastoris. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, *21*, 635-643. https://doi.org/10.1590/S0102-695X2011005000107

Jones-Rhoades, M. W. (2012). Conservation and divergence in plant microRNAs. *Plant Molecular Biology*, *80*, 3-16. https://doi.org/10.1007/s11103-011-9829-2

Khraiwesh, B., Zhu, J.-K., & Zhu, J. (2012). Role of miRNAs and siRNAs in biotic and abiotic stress responses of plants. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Regulatory Mechanisms*, *1819*(2), 137-148. https://doi.org/10.1016/j.bbagrm.2011.05.001

Lee, Y., Kim, M., Han, J., Yeom, K. H., Lee, S., Baek, S. H., & Kim, V. N. (2004). MicroRNA genes are transcribed by RNA polymerase II. *The EMBO journal*, *23*(20), 4051-4060. https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7600385

Li, T., Li, H., Zhang, Y. X., & Liu, J. Y. (2011). Identification and analysis of seven H2O2-responsive miRNAs and 32 new miRNAs in the seedlings of rice (Oryza sativa L. ssp. indica). *Nucleic Acids Research*, *39*(7), 2821-2833. https://doi.org/10.1093/nar/gkq1047

Li, W. X., Oono, Y., Zhu, J., He, X. J., Wu, J. M., Iida, K., ... & Zhu, J. K. (2008). The Arabidopsis NFYA5 transcription factor is regulated transcriptionally and posttranscriptionally to promote drought resistance. *The Plant Cell*, *20*(8), 2238-2251. https://doi.org/10.1105/tpc.108.059444

Pei, L. L., Zhang, L. L., Liu, X., & Jiang, J. (2023). Role of microRNA miR171 in plant development. *Peer Journal*, *11*, e15632. https://doi.org/10.7717/peerj.15632

Radonić, A., Zekić, M., & Marijanović, Z. (2020). Volatile Constituents of Aerial Parts of Capsella rubella Reut. *Croatica Chemica Acta*, *93*(3), 215-220. https://doi.org/10.5562/cca3761

Remy, E., Cabrito, T. R., Baster, P., Batista, R. A., Teixeira, M. C., Friml, J., Sá-Correia, I. & Duque, P. (2013). A major facilitator superfamily transporter plays a dual role in polar auxin transport and drought stress tolerance in Arabidopsis. *The Plant Cell*, *25*(3), 901-926. https://doi.org/10.1105/tpc.113.110353

Tang, G. (2010, October). Plant microRNAs: an insight into their gene structures and evolution. In Seminars in cell & developmental biology (Vol. 21, No. 8, pp. 782-789). Academic Press. https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2010.07.009

Válóczi, A., Várallyay, É., Kauppinen, S., Burgyán, J., & Havelda, Z. (2006). Spatio-temporal accumulation of microRNAs is highly coordinated in developing plant tissues. *The Plant Journal*, *47*(1), 140-151. https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2006.02766.x

Vaucheret, H. (2008). Plant Argonautes. *Trends Plant Sciences*, *13*(7), 350-358. https://doi.org/10.1016/j.tplants.2008.04.007

Wang, Y., Hu, Z., Yang, Y., Chen, X., & Chen, G. (2009). Function annotation of an SBP-box gene in Arabidopsis based on analysis of co-expression networks and promoters. *International Journal of Molecular Sciences*, *10*(1), 116-132. https://doi.org/10.3390/ijms10010116