

مروری بر فرآیندهای وابسته به بیولوژی MicroRNA قارچ‌ها

فاطمه صادقی: گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران.
فاطمه پیامی: گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران
سلیمان خدری: گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران.
راحله رودی: مرکز تحقیقات آسیب شناسی و سرطان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران.
شهبلا رودبار محمدی: گروه قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.
***مریم رودباری:** گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران (*نویسنده مسئول). roudbari.mr@iums.ac

تاریخ پذیرش: 97/2/9

تاریخ دریافت: 96/12/13

چکیده

microRNA ها مولکول‌های کوچکی می‌باشند که ترجمه را مهار کرده یا سبب تخریب RNA پیامبر می‌شوند. فرایندهای وابسته به RNA جهت سنتز پروتئین‌های عملکردی و ساختاری سلول‌های یوکاریوتی ضروری می‌باشند. در یوکاریوت‌ها این پروسه با رونویسی از DNA در هسته آغاز و با ترجمه RNA پیامبر به پروتئین در سیتوپلاسم خاتمه پیدا می‌کند و در نهایت RNA پیامبر تخریب می‌شود. در فرایند پروتئین‌سازی مراحل مختلفی از جمله: پوشش 5' پلی‌آدنیل‌سیون، پردازش، خروج هسته‌ای و انتقال سیتوپلاسمی اتفاق می‌افتد که تمام این مراحل تنظیم شده تا یک بیان مطلوب صورت گیرد. به دلیل اهمیت زیاد RNA در تنظیم سنتز پروتئین، واضح است که پاتوژن قارچ‌ها به شدت به فرایندهای وابسته به RNA جهت کنترل عفونت متکی می‌باشد. RNA مداخله‌گر شامل RNA های دورشته‌ای کوچک در قارچ‌ها می‌باشد که یا توسط ژنوم اصلی قارچ یا طی فرایند ترجمه ایجاد می‌شوند و نقش کلیدی در خاموش سازی RNA دارد. مایکروویروس‌ها نیز دسته‌ای از RNA های دورشته‌ای کوچک هستند که سبب تغییر عملکرد و حتی تغییرات فنوتایپیک در قارچ‌ها می‌گردند و در پاتوژن قارچ نقش کلیدی دارند. مطالعات اخیر استفاده از واکنش‌های RNA را در درمان عفونت‌های قارچی موثر می‌دانند. هدف از این مطالعه مروری بررسی MicroRNA قارچی و نقش آن‌ها در بیماری‌زایی، تحریک سیستم ایمنی و همچنین تنظیم سنتز پروتئین می‌باشد. این مقاله مروری در سال 96 انجام شده و اطلاعات موجود در آن از پایگاه‌های اطلاعاتی معتبر نظیر Google Scholar PubMed و Web of Science جمع‌آوری گردیده است و بنا به اهمیت کلیدی انواع RNA در ساز و کارهای سلول‌های قارچی، به بررسی انواع RNA و عملکرد آن‌ها و همچنین بررسی اینکه این مولکول‌ها چطور می‌توانند به عنوان یک ابزار مفید در مطالعات قارچ شناسی به ویژه ایمونوتراپی عفونت‌های قارچی مورد استفاده قرار گیرند پرداخته است.

کلیدواژه‌ها: MicroRNA، RNA مداخله‌گر، فرآیندهای وابسته به خاموشی ژن، بیولوژی RNA

مقدمه

(Candida) یک نوعی از این پروتئین‌ها بنام She3 در انتقال RNA پیامبر (RNA(mRNA) Messenger) وابسته به اکتین در طول عفونت کاندیدا آلیکینس (Candida albicans) نقش مهمی دارد. نقل و انتقال RNA پیامبر در طول مدت عفونت اولیه بسیار حیاتی و مهم است (2). MicroRNA ها، این عوامل مهار و یا تخریب RNA پیامبر، در سلول‌های یوکاریوتیک از جمله قارچ‌ها عمدتاً به سه گروه اصلی تقسیم می‌شوند: RNA های مداخله‌گر کوتاه (siRNAs)، میکرو RNA ها (miRNAs) و RNA های واکنش‌دهنده با پروتئین (Piwi-interaction RNAs(piRNAs)) (3). این مطالعه باهدف بررسی

مولکول RNA به دلیل داشتن جفت بازهای گوانین، آدنین، اوراسیل قادر به برقراری واکنش‌های درون مولکولی و بین مولکولی مختلفی می‌باشد که یک مزیت عمده برای آن محسوب می‌شود و بدین جهت کاربردهای متعددی را برای آن محقق می‌سازد (1). به دلیل اهمیت محوری RNA در تنظیم سنتز پروتئین، پاتوژن‌های قارچی تا حد زیادی متکی به فرآیندهای وابسته به RNA جهت اعمال بیماری‌زایی خود می‌باشند. شایان ذکر است که پروتئین‌های متصل شونده به RNA فاکتورهای کلیدی در عملکرد RNA محسوب می‌شوند. در مورد قارچ بیماری‌زای کاندیدا

هسته ای و انتقال سیتوپلاسمی، تخریب سیتوپلاسمی و هسته ای (Nuclear/Cytoplasmic degradation) ترجمه. برخی از RNA غیر کد شونده پلی آدنیل شده (polyadenylation Non-coding RNA) باید به سیتوپلاسم جایی که عملکردهایشان را انجام می دهند منتقل شوند.

پروتئین های متصل به RNA یک کمپلکس ریونوکلئوپروتئینی (RNPs) را تشکیل می دهند که شبکه RNA پیچیده (networks Intricate RNA) در داخل سلول را کنترل می نماید (6).

RNA مداخله گر (RNA interference) (RNAi)

یک مکانیسم محافظت شده خاموش کننده ژن در (Conserved eukaryotic gene silencing) یوکاریوت ها می باشد. MicroRNA های غیر کد شونده (non-coding RNAs)، حدود بیست تا سی نوکلئوتید به عنوان تنظیم کننده های پروسه های سلولی (توسعه و تکوین (Development)، ثبات (RNA stability) RNA پردازش (Processing)، دفاع میزبان (Host defense)، تفکیک کروموزومی (Chromosome segregation)، نسخه برداری (Transcription) و ترجمه (Translation) فعالیت می کنند (3). در واقع تنظیم بیان ژن و بروز تغییرات مؤثر و گسترده در بیان محصول نهایی ژن نقش بارز این توالی های تک رشته ای به شدت محافظت شده می باشد (4).

خاموشی ژن به واسطه MicroRNA به روش های مختلف نیازمند Argonaute protein

به عنوان جز مرکزی کمپلکس خاموش کننده القاء شده توسط RNA (RISC) (RNA-induced silencing complex) می باشد (3).

تاریخچه و نقش RNA مداخله گر در قارچ ها

پس از کشف RNA مداخله گر در سال 1998 تلاش هایی جهت به کار بردن این تکنولوژی برای کنترل بیان ژن در یک وارپته از گونه قارچی صورت گرفت. مهار بیان ژن توسط یک پلاسمید حاوی RNA دو رشته ای (dsRNA) و یا یک سیستم مرتبط با بیان RNA دو رشته ای، در بسیاری از گونه های قارچی در

بیولوژی MicroRNA در قارچ ها و نقش آن در فعالیت هایی نظیر پاتوژنز، تحریک سیستم ایمنی و تنظیم سنتز پروتئین (طی فرآیند خاموشی ژن در سطح ترجمه و یا پس از ترجمه) انجام شده است.

بیولوژی RNA در قارچ ها (Biogynin RNA) (Fungi)

فرآیندهای های وابسته به RNA برای سنتز مؤثر پروتئین های سلول بسیار حائز اهمیت می باشند. در یوکاریوت ها این فرآیندها با رونویسی از DNA در هسته آغاز و با ترجمه RNA پیامبر به پروتئین در سیتوپلاسم خاتمه پیدا می کند و در نهایت RNA پیامبر تخریب می شود. در فرآیند پروتئین سازی مراحل مختلفی از جمله، پوشش 5' (5' capping)، پردازش (Splicing)، پلی آدنیلاسیون (poly adenylation)، خروج هسته ای (Nuclear export) و انتقال سیتوپلاسمی (Cytoplasmic transport) اتفاق می افتد که تماماً بایستی کنترل و تنظیم گردد تا یک بیان به موقع صورت گیرد.

کنترل پس از ترجمه در سطح پردازش پلی آدنیلاسیون، ترجمه و ثبات، ابزارهای تنظیمی مهم برای پاتوژنز قارچ ها جهت هماهنگ کردن عفونت می باشند. انتقال RNA پیامبر اندوزومال در طول میکروتوبول ها یک جنبه بدیع از بیولوژی RNA می باشد و این پروسه پس از نسخه برداری (Posttranscriptional) به طور ویژه ای در طی عفونت اولیه با اهمیت می باشد. پروتئین های متصل به RNA (RNA-binding proteins) به عنوان فاکتورهای کلیدی در هر مرحله از کنترل پس از نسخه برداری ضروری می باشند. RNA های کوچک فاکتورهای اضافی (Additional) هستند که یا ترجمه را مهار می کنند و یا قادرند تخریب RNA پیامبر را ارتقا دهند. به دلیل اهمیت مرکزی و مهم بیولوژی RNA در تنظیم سنتز پروتئین، این چندان عجیب نیست که پاتوژنز قارچ ها به شدت به پروسه های وابسته به RNA جهت کنترل عفونت متکی باشد (5).

RNA پیامبر توسط پروتئین های متصل به RNA کنترل می شود. این پروتئین ها نقش حیاتی را در مراحل مختلف بین نسخه برداری و سنتز پروتئین ایفا می کند همانند پوشش 5'، پردازش، پلی آدنیلاسیون، خروج

دارای عملکردهای متعددی می‌باشد. در نوروسپورا کراسا عملکرد MicroRNA های مداخله‌گر و RNA های شبه میکرو RNA (miRNAs) در دفاع ژنومی و تنظیم ژنی می‌باشد. حضور و عملکرد مؤثر RNA مداخله‌گر در نوروسپورا در مراحل جنسی و رویشی، این ارگانسیم را به یک نمونه مناسب جهت بررسی و مطالعه مسیرهای RNA مداخله‌گر قارچی تبدیل کرده است (3).

اشکال مختلف RNA مداخله‌گر قارچی

الف) MicroRNA های غیر کد شونده (Small Non-coding RNAs): RNA های کوچک 19 و 25 نوکلئوتیدی هستند که از RNA های دو رشته‌ای و یا سنجاق سری پس از قطعه قطعه شدن توسط دایسر یا نوکلئازهای شبه دایسر بوجود می‌آیند. این قطعات کوچک نوکلئوتیدی عوامل اولیه در خاموشی ژن به واسطه RNA (silencing RNA) هستند و به‌عنوان مولکول های غیر کد شونده با نقش بالقوه و ذاتی در تخریب RNA یا مهار ترجمه تعریف می‌شوند که شناسایی RNA های هدف توسط Argonaute protein، خاموشی ژن در سطح ترجمه و یا پس از ترجمه را میانجی‌گری می‌کنند.

به نظر می‌رسد که مسیرهای این RNA های کوچک که مسیرهای مداخله RNA یا مسیرهای خاموشی RNA نامیده می‌شود، به دلیل توانایی در مهار و یا تنظیم بیان ژن، موجب مکانیسم های دفاعی بر علیه RNA های ویروسی، عناصر قابل انتقال و علاوه بر آن تکوین و توسعه کنترل بیان ژن می‌گردند. این MicroRNA های غیر کد شونده در بسیاری از ارگانسیم های زنده در روند تکوین و ترجمه نقش مهمی را ایفا می‌کنند.

حضور RNA های مداخله‌گر پروسه‌های وابسته به آنها در گونه‌های مختلف قارچی نظیر نوروسپورا کراسا که یک آسکومیست ساپروفیت می‌باشد مورد مطالعه و بررسی قرار گرفته است.

محققین دریافته‌اند که قارچ پاتوژن گیاهی بوتریتیس سینره (Botrytis cinerea) با انتقال MicroRNA های قارچی به داخل گیاه میزبان قادر است به واسطه RNA میزبان برمکانیسم خاموشی ژن مسلط شده و ژن های ایمنی میزبان را سرکوب نماید.

شاخه‌های مختلف نظیر آسکومایکوتا (Ascomycota)، بازییدیومیکوتا (Basidiomycota)، زایگومایکوتا (Zygomycota) و همینطور در امایکوتای شبه قارچ (Fungus like oomycota) نشان داده شده است. حضور اجزای پروتئینی خاموشی ژن نظیر دایسر (Dicer) در پدیده خاموشی ژن در آسپرژیلوس نیدولانس (Aspergillus nidulans) مگناپورته اوریزه (Magnaporthe oryzae) و نوروسپورا کراسا (Neurospora crassa) و پیدایش MicroRNA مداخله‌گر (SiRNA) در آسپرژیلوس نیدولانس، موکور سیرسینلوئیدس (Mucor circinelloides)، نوروسپورا کراسا و شیزوساکارو مایسس پومبه (Schizosaccharomyces pombe) به اثبات رسیده، بنابراین به نظر می‌رسد که اساس خاموشی ژن برای بیشتر گونه‌های قارچی حفاظت شده است (7).

سلسله قارچ‌ها متشکل از یک گروه بزرگ و متنوع از یوکاریوت ها می‌باشد که شامل بیش از یک میلیون گونه با تنوع بی‌شماری از نظر اکولوژی، مرفولوژی و سیکل زندگی می‌باشد. مطالعاتی که بر روی قارچ رشته‌ایی نوروسپورا کراسا و مخمر شیزوساکارو مایسس پومبه انجام شده اجزای RNA مداخله‌گر و شناخت عملکردهای آن در یوکاریوت ها را آشکار می‌سازد. از زمانی که سه جز مرکزی RNA مداخله‌گر (آرگونئات، دایسر و RNA پلیمرز وابسته به RNA) در گونه‌های مختلف قارچی شناسایی شده، محققین بر این باورند که جد مشترک قارچ‌ها دارای یک مسیر RNA مداخله‌گر عملکردی (Functional RNAi Pathway) می‌باشد. در این مسیر در ابتدا یک RNA غیر طبیعی (Aberrant RNA) شناخته شد و توسط RNA پلیمرزهای وابسته به RNA به RNA دو رشته‌ای تبدیل شد، در نتیجه توسط دایسر به RNA مداخله‌گر کوچک پردازش گردید و توسط پروتئین‌های آرگونئات حمل شد. این مسیر اجزای در طی تکامل قارچی سازگاری های بسیاری را متحمل شده است، به‌عنوان مثال در مخمرهای جوانه زن، RNA پلیمرز وابسته به RNA عمدتاً ناپدید شده است. مخمر های جوانه زن یا دارای RNA های مداخله‌گر غیر متعارف (Noncanonical RNAi) هستند و یا فاقد مسیر RNA مداخله‌گر می‌باشند، در حالیکه RNA مداخله‌گر به‌طور گسترده‌ای در قارچ‌های رشته‌ای وجود دارد اما

نماید که به وضوح نقش و اهداف RNA های کوچک قارچی را در رشد و تکوین و توسعه و بیماریزایی روشن می نماید.

آسپرژیلوس فومیگاتوس یک قارچ رشته ای پاتوژن می باشد که در مقایسه با سایر قارچهای کپکی عفونت های بیشتری را در سطح جهانی ایجاد می کند. مطالعاتی که بر روی RNA های کوچک غیرکدشونده این قارچ ها تحت شرایط مختلف و متنوع انجام شده و تولید کتابخانه های cDNA از گونه های RNA کوچک جدا شده، تعداد بسیاری ncRNA در ژنوم قارچی تشخیص داده شده است. این ncRNA ها به RNA های نوکلئولار کوچک (Small nucleolar RNAs (SnoRNAs) و RNA های هسته ای کوچک (Small nuclear RNAs (SnRNAs) طبقه بندی شده اند؛ بنابراین ncRNA ها تحت تاثیر مراحل تکوینی (Developmental stages) قارچ ها و شرایط محیطی قرار می گیرند. مقایسه ژنومی نشان داده است که حضور snoRNA ها در آسپرژیلوس فومیگاتوس در بین استرین های قارچی حفاظت شده است. این مطالعه همچنین تعدادی مترادف های tRNA نیمه تمام (tRNA sequences Partial) در داخل کتابخانه cDNA را که با نیمه های 5' و 3' مولکولهای tRNA مطابقت دارد آشکار نموده است. این tRNA های نیمه تمام به نظر می رسد که توسط شکافت یا گسستگی اندونوکلوئیتیک در داخل لوپ آنتی کدن ایجاد شده اند. گزارش شده که این tRNA های نیمه تمام از سنتز پروتئین جلوگیری می کنند هر چند برای پی بردن به عملکرد دقیق آنها نیاز به مطالعات بیشتری است (9). عملکردهای ژن های Non-coding نظیر ژنهای tRNA در کاندیدا آلیکنس بطور وسیعی نادیده گرفته شده است هر چند در بسیاری از موارد دریافتند که آنها نقش مهمی را در تنظیم بیان ژن ایفا می کنند. از آنجائیکه عملکرد tRNA بعنوان مولکول آداپتور در انتقال اطلاعات ژنتیکی از RNA پیامبر به مترادف پروتئینی می باشد کاملاً مشخص است که یک نقش حیاتی و مؤثر را در سنتز پروتئین بازی می کنند (10). اخیراً خاموشی ژنی القایی میزبانی (HIGS) - host-induced gene silencing) به عنوان یک استراتژی امیدبخش جهت کنترل بیماریهای قارچی مورد توجه قرار گرفته است. در این مطالعات بیان مولکول های

یک شکل خاص RNA کوچک در این قارچ پاتوژن، ژن های میزبان را مورد هدف قرار می دهد و مطالعات بیشتر نشان داده که این ژنها در طی عفونت سرکوب می شوند. در پر سلولی ها یک زیر مجموعه از این مولکول ها به داخل میکرو وزیکول ها یا آگزوزوم هایی که به فضای خارجی ترشح می گردند رانده می شوند، یک مکانیسم مشابه می تواند منجر به حرکت MicroRNA ها از قارچ های رشته ای به داخل سلول های میزبان گردد. باتوجه به این یافته ها نقش گسترده RNA های کوتاه درون زاد قارچی (Fungal RNAs Endogenous short) در پروسه های ویروالانس و پروسه های تکوینی در قارچ ها بسیار حائز اهمیت می باشد. این RNA ها همچنین قادر به تنظیم و کنترل خاموشی ژن در سطح رونویسی از طریق یک مسیر متیلاسیون DNA وابسته به RNA (RdDM) (RNA-dependent DNA methylation Pathway) می باشند. مطالعاتی که بر روی قارچ پاتوژن انسانی کریپتوکوکوس نئوفورمنس (*Cryptococcus neoformans*) انجام شده تنوع مسیرهای RNA مداخله گر را در قارچ ها نشان می دهد (6). این RNA های کوچک 20 تا 30 نوکلئوتیدی در سال های اخیر بسیار مورد توجه قرار گرفته اند. آنها بطور گسترده ای در پروسه های بیولوژی مختلف دخیل هستند (8). نقش و هدف MicroRNA ها در قارچهای رشته ای بیشتر ناشناخته می باشد تا به امروز بیشتر اطلاعات در رابطه با RNA های کوچک در قارچهای رشته ای از مطالعات بر روی یک گروه محدود از قارچها نظیر نوروسپورا کراسا به دست آمده اند. اهداف و نقش RNA های کوچک (Small RNAs) شناخته شده در قارچهای رشته ای به ویژه در نوروسپورا کراسا هنوز بطور کامل مشخص نیست. در سایر گونه های قارچی از جمله قارچهای پاتوژن گیاهی، خاموشی ژن وابسته به RNA های کوچک هنوز در مرحله جستجوی آغازینش می باشد. این RNA های کوچک متحرک بوده و قادرند در آسپرژیلوس نیدولانس در طی اسپورزایی جذب شده و منجر به خاموشی RNA (silencing RNA) گردند. هر چند چنین مطالعاتی محدود باقی مانده، این یافته ها بطور قطعی استفاده از مولکول های مصنوعی را به عنوان یک وسیله مؤثر برای مطالعه RNA silencing در شرایط طبیعی (in vivo) پیشنهاد می

به RNA و شبهه دایسر 2 (Dicer like 2 (DCL2) تولید می‌شود. آنها مسؤل حذف نسخه های RNA پیامبر از ژن های کدکننده پروتئین می‌باشد. این RNA های کوتاه درون زاد از ترانسپوزون ها و مناطق داخل ژنی تولید می‌شوند و علاوه بر آن برای تولیدشان نیاز به Rdp1 پروتئین و شبهه دایسر 2 دارند.

ج) MicroRNA های مداخله‌گر: مولکولهای طولی هستند (21 تا 24 نوکلئوتیدی) که از مولکولهای پیشروی dsRNA ایجاد می‌شوند و در بسیاری از یوکاریوت ها از جمله قارچ ها وجود دارند. در جوانه های مخمر ساکارومایسس کاستلی (Saccharomyces castellii) و کاندیدا آلیکنس این RNA های کوچک تعداد زیادی اشکال ژنتیکی از جمله چارچوب خوانش باز (frame (ORF) Open reading)، tRNA، rRNA، Repative elements، و غیره را ایجاد می‌کنند. اگزپورتین 5 (Exportin 5) پروتئینی است که منجر به انتقال مقادیر بیشماری از RNA های کوچک از هسته به سیتوپلاسم می‌شود. بیشتر گونه‌های قارچی از جمله کریپتوکوکوس نئوفورمنس و نئوسپورا کراسا دارای 1 یا 2 ژن می‌باشند که این پروتئین انتقال دهنده را کد می‌کنند در حالی که اسپوروتریکس شنکئی (Sporothrix schenckii) و آرترودرما اوتائسه (Arthroderma otae) فاقد آن می‌باشند. miRNAs شناخته شده ترین کلاس small RNA ها در یوکاریوت ها می‌باشند گر چه تا به امروز تلاش ها جهت تشخیص miRNA استاندارد و متعارف در قارچ‌ها به نتیجه نرسیده است (11). جایی که دستاوردهای اخیر برای بیشتر قارچ‌ها کافی نیست دو روش اول بیشتر مورد استفاده قرار می‌گیرد (3) (جدول 1).

کاربرد RNA مداخله‌گر در قارچ‌ها

dsRNA در گیاهانی که مورد تهاجم ارگانسیم قارچی قرار می‌گیرند منجر به RNA silencing و در نتیجه محدود کردن عفونت قارچی می‌گردد.

علاوه بر این RNA های کوچک، یکسری از RNA های غیر کدشونده طویل (LncRNA) که معمولاً بیش از 200 نوکلئوتید طول دارند در داخل سلول‌های یوکاریوتی حضور دارند اما هنوز مشخص نشده است که آیا آنها تولیدات یا محصولات غیر ضروری هستند یا نقش تنظیمی در سلول ایفا می‌کنند. شواهد بسیار به یک نقش تنظیمی برای این نوع از RNA های غیر کدشونده اشاره می‌کند. یک مطالعه اخیر بر روی کریپتوکوکوس نئوفورمنس حضور و دخالت LncRNA را در تبدیل فرم مخمر به هایف در طی کلنیزاسیون میزبانی (Host colonization) در کنترل بیان ژن ZNF2 که یک کلید تنظیم کننده (Regulator Key) می‌باشد تشخیص داده است (6).

RNA های کوچک واکنش دهنده با پروتئین QDE-2 (qiRNA) گروهی دیگر از RNA های کوچک می‌باشند که تا کنون تنها در نئوسپورا کراسا شناسایی شده و از تخریب DNA تولید می‌گردند این مولکولهای حیاتی خاموشی ژن را با استفاده از ترجمه پروتئین مهار کننده میانجی‌گری می‌کنند. از دیگر RNA های کوچک غیر کدشونده که در نئوسپورا کراسا شناسایی شده قطعات RNA مشتق شده از RNA انتقال دهنده (tRFs) و همچنین RNA های غیر وابسته به دایسر (disiRNAs) می‌باشند.

ب) RNA های کوتاه درون زاد (esRNA) (Endogenous short RNAs): RNA های کوتاه درون زاد که در میسلیوم موکور سیرسینلوئیدس کشف شد، بیشترین گروهی است که از آگزون ها (-Exonic siRNA) منشاء گرفته و توسط RNA پلیمراز 1 وابسته

جدول 1 - انواع مختلف RNA مداخله گر در قارچ ها را نشان می دهد.

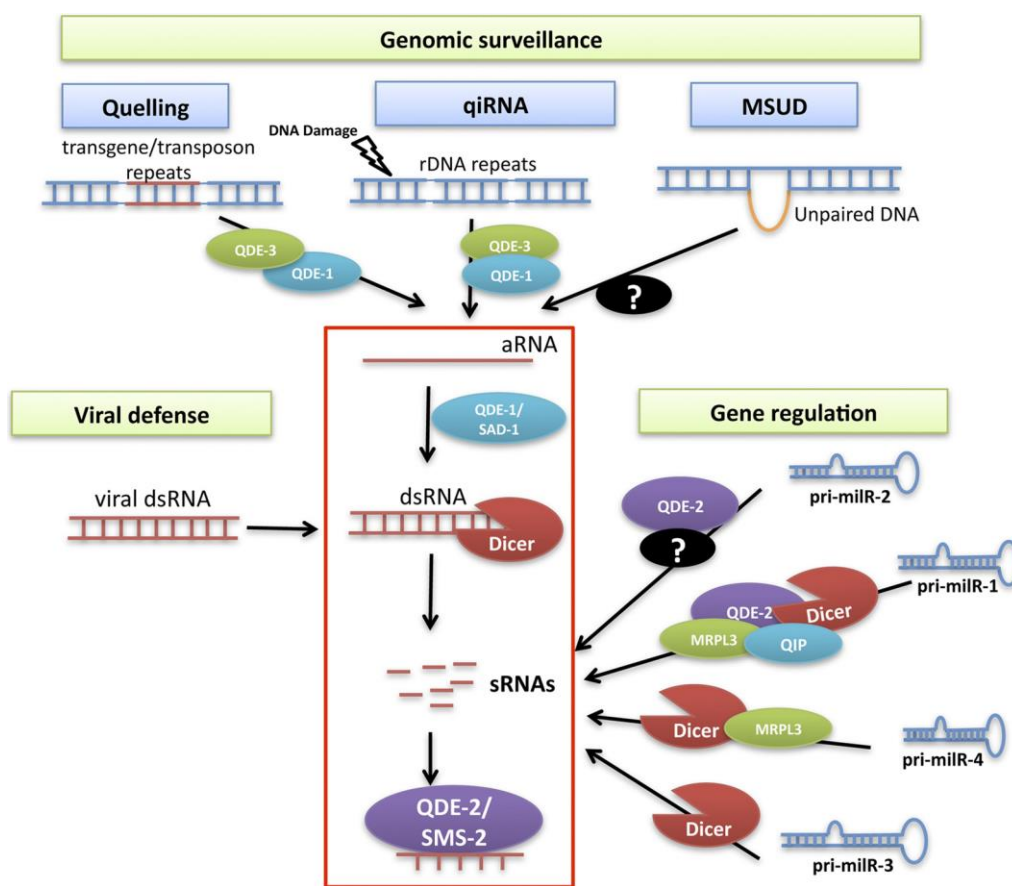
انواع MicroRNA	قارچ های مورد بررسی
MicroRNA های غیر کدشونده Small Non-coding RNAs	نوروسپورا کراسا، بوتریتیس سینره کریپتو کوکوس نتوفورمنس آسپرژیلوس نیدولانس آسپرژیلوس فومیگاتوس
RNA های کوتاه درون زاد Endogenous short RNAs (esRNA)	موکور سپرسیپیلوئیدس
MicroRNA های مداخله گر Small interfering RNAs (siRNAs)	مخمر ساکارومایسس کاستلی مخمر کاندیدا آلیکنس کریپتو کوکوس نتوفورمنس نتوسپورا کراسا کریپتو کوکوس نتوفورمنس
RNA های طویل غیر کدشونده (LncRNAs)	

دفاع بر علیه مهاجم ویروس ها و ترانسپوزون ها می باشد. برای مقابله با عفونت ویروسی، قارچ یک مکانیسم ضد ویروسی مؤثر را اعمال می نماید. dsRNA یک مداخله کننده تکثیر RNA ویروسی در بسیاری از ویروس ها می تواند خاموشی ژن وابسته به RNA مداخله گر را در استرین های آزمایشگاهی نوروسپورا کراسا اعمال کند. علاوه بر این بیان dsRNA در این ارگانیسم یک برنامه رونویسی فعال dsRNA را که بیان تمام ژنهای اصلی RNA مداخله گر، از جمله پروتئین های آرگونئات، دایسر و QDE-2 را فعال می کند راه اندازی می نماید. القاء این ژنها توسط dsRNA نشان می دهد که RNA مداخله گر یک بخشی از پاسخ دفاعی باستانی محافظت شده به عفونت ویروسی

(ب) RNA مداخله گر و دفاع ویروسی در کریفونکتیریا پارازیتیک (parasitica Cryphonectria) و آسپرژیلوس نیدولانس: نقش RNA مداخله گر قارچی در دفاع ویروسی نخستین بار در قارچ رشته ای آسکومایسس کریفونکتیریا پارازیتیکا کشف شد. ناس (Nuss) و همکارش دریافتند که ویروس CHV1 (cryphonectria hypovirus) ویرو لانس میزبان قارچی را توسط بیان P29 (یک پروتئین شبه پاپائین) کاهش می دهد. حضور P29، خاموشی ژن وابسته به RNA را در این ارگانیسم قارچی سرکوب می کند (3).

RNA مداخله گر یک اثر خاموشی ژن مؤثر را اعمال میکند. از آنجایی که خاموشی وابسته به RNA مداخله گر ساختمان ژنومیک ژن های هدف را تغییر نمی دهد به عنوان یک جایگزین مناسب، ژن را غیر فعال (knock out) ساخته و در مطالعه عملکرد ژنها بسیار سودمند می باشد، به خصوص زمانی که یک ژن برای بقا سلول ضروری می باشد. علاوه بر این پروسه های مرتبط با RNA مداخله گر به عنوان ابزارهایی در بیوتکنولوژی جهت تسهیل تولید متابولیت های قارچی خاص توسط متوقف کردن بیان آنزیم های مورد نیاز جهت سنتز محصولات نهایی) مورد استفاده قرار گیرند. سه روش شناخته شده که می تواند منجر به خاموشی ژن وابسته به RNA مداخله گر در قارچ ها گردد شامل: بیان یک RNA سنجاق سری (RNA Hairpin) از یک ترانس ژن (یک ژن اگزوژن)، تولید RNA دو رشته ای توسط رونویسی متقاطع (Convergent transcription) از یک ترانس ژن و ورود RNA مداخله گر کوچک و RNA دو رشته ای به طور مستقیم به داخل سلول قارچی می باشد (3).

الف) سیستم دفاعی ژنومی در نوروسپورا کراسا: RNA مداخله گر یک مکانیسم دفاعی میزبان بر علیه ویروسها و ترانسپوزون ها می باشد. قارچ رشته ای نوروسپورا کراسا دارای مکانیسم های متعددی جهت



شکل 1- مسیرهای بایوژنز sRNA و عملکردهای RNA مداخله گر در نوروسپورا (3)

نمونه‌های بی‌شماری از dsRNA های ویروسی موجود است که موجب تغییر در میزان رشد و تغییر در فنوتایپ میزبان از جمله فاکتورهای هایپوویروانس می‌گردند. هایپوویروانس در قارچ‌ها توسط کاهش کونیدی زایی، کاهش پیگمانتاسیون و کاهش میزان رشد تشخیص داده می‌شود (13). در اسپرژیلوس فومیگاتوس که یک پاتوژن قارچی فرصت طلب می‌باشد آلودگی با dsRNA ویروسی موجب کاهش ویروانس می‌گردد. به همین دلیل dsRNA ویروسی (مایکوویروس‌ها) از نظر فرض علمی می‌توانند به‌عنوان ابزارهای درمانی با عفونت‌های قارچی مبارزه کنند در واقع این کاهش ویروانس ناشی از حضور dsRNA های ویروسی، منجر به طرح فرضیه‌ای می‌شود که dsRNA های ویروسی، می‌توانند به‌عنوان "عوامل کنترل کننده بیولوژیکی" در عفونت‌های قارچی انسانی ایفای نقش کنند. dsRNA های ویروسی در استرین‌های اسپرژیلوس فومیگاتوس به یک پروتئین سطحی سلولی (CSP type- Cell surface protein) خاص و یا یک تایپ آمیزشی (Mating

طی مطالعاتی که در سال 1979 توسط آنانگوستاکیس و دای (Anagnostakis & Day) انجام گرفت کاهش پاتوژنیسیته قارچ پاتوژن گیاهی کریفونکتیریا پارازیتیکا در حضور مایکوویروس CHV1 اعلام گردید (12).

اسپرژیلوس نیدولانس نیز دارای یک مسیر RNA مداخله گر می‌باشد که از نظر عملکردی کامل در طی این فرایند یک دایسر و یک آرگونئات پروتئین بیان می‌شود که هر دوی آنها برای خاموشی ژن ضروری می‌باشند. با آلوده شدن اسپرژیلوس نیدولانس توسط dsRNA ویروسی، فعالیت RNA مداخله گر مهار می‌شود و این نشان می‌دهد که مهار کننده RNA مداخله گر توسط dsRNA ویروسی رمزگشایی می‌شود (3).

ج RNA های دو رشته‌ای ویروسی و قارچ‌ها و نقش آنها در درمان عفونت قارچی: dsRNA های ویروسی (مایکوویروس‌ها) به‌طور طبیعی موجب آلودگی در قارچ‌ها شده و در ارگانیزم قارچی تکثیر پیدا می‌کنند. آنها در تمام گروه‌های بزرگ قارچی پراکنده می‌باشند.

دریافتند که برخی از ایزوله های اسپرژیلوس فلاووس (NRRL5565) آفلاتوکسین تولید نمی کنند و دارای یک ژنوم ویروسی dsRNA می باشند که از نظر اندازه با RNAهایی که محققین در پنی سیلیوم کرایزوژنوم (*Penicillium chrysogenum*) پیدا کرده بودند شباهت داشتند. پس از حذف این dsRNA دریافتند که توانایی تولید آفلاتوکسین در نهایت مرتبط با dsRNA نمی باشد اما آزمایشات بعدی بر روی همین ایزوله های قارچی پاسخگوی یک ارتباط غیر مستقیم بین عفونت زایی قارچ با dsRNA (6 kbp) و فقدان تولید آفلاتوکسین بود (15). از آن جاییکه در آزمایشات انجام شده بر روی قارچ نکتریا رادیسیکولا (*Nectria radicicola*) استرین های آلوده با dsRNA ویروسی، پس از درمان به طور کامل فنوتیپ های مرتبط با ویروالانس را از دست دادند، پس نتیجه گرفته شد که dsRNA ویروسی (6 kbp) ویروالانس قارچ را در این ارگانسیم تنظیم می کند (16).

نقش RNA در تحریک سیستم ایمنی و بیماریزایی

شواهد کلینیکی و داده های بالینی نشان می دهند که RNA قارچی قادر به تحریک هر دو سیستم ایمنی ذاتی و اکتسابی بوده و می تواند باعث تحریک تولید سایتوکاین های مهم و اولیه از جمله تومور نکروز فاکتور آلفا ($TNF-\alpha$)، اینترلوکین 23 (IL-23) و IL-12p70، که نقش اصلی را در دفاع ضد قارچ در سیستم ایمنی ایفا می کنند، شود.

مطالعات انجام شده بر روی سلول های بنیادی مشتق از دندرتیک سل ها در شرایط آزمایشگاهی (BMDCs) bone marrow-derived in vitro-differentiated dendritic نشان می دهد که RNA های قارچی قادر به القاء ترشح اینترلوکین 12 (IL-12)، اینترلوکین 23 و تومور نکروز فاکتور آلفا در این سلول ها می باشد. TLR7 (Toll like receptor7) میل ترکیبی بالایی در عفونت های قارچی با RNA تک رشته در سلول های بنیادی مشتق از دندرتیک سل ها دارد. با بررسی مکانیزم فعال سازی سیستم ایمنی توسط RNA کاندیدا البیکنس، داده ها حضور حداقل دو مکانیزم مختلف سلولی که منجر به تولید دو مجموعه متفاوت عوامل دفاعی پس از تشخیص قارچ توسط سیستم

معین وابسته نمی باشند. این یک یافته ارزشمند است که قبل از اینکه از dsRNA های ویروسی به عنوان یک ابزار درمانی برای اسپرژیلوس مهاجم استفاده شود، این اجزا ژنتیکی باید قادر باشند تمامی ایزوله های اسپرژیلوس فومیگاتوس را آلوده کنند (14). dsRNA های ویروسی، همچنین قادرند هایپروویروالانس را که توسط افزایش تولید اسپور (*Sporulation*)، افزایش تهاجم و افزایش رشد تشخیص داده می شود، در میزبان قارچی ایجاد کنند. آلودگی اسپرژیلوس فومیگاتوس توسط dsRNA ویروسی منجر به تغییرات فنوتیپی قابل توجهی در شرایط آزمایشگاهی و همینطور کاهش رشد قارچ می گردد. همچنین تغییرات فنوتیپی نظیر تغییر در میزان رشد و پیگمانتاسیون در اسپرژیلوس می تواند از خاموشی ژن به واسطه RNA های دو رشته ای ویروسی (RNA silencing dsRNA) ناشی شود. پتانسیل dsRNA های ویروسی در تنظیم پاتوژنیسیته میزبانان قارچی شان امکان دارد یک جایگزین درمانی مهم و قابل توجهی را در مرحله اولیه عفونت قارچی انسانی فراهم سازد (13). قارچ های پاتوژن گیاهی بطور گسترده ای شامل عناصر ژنتیکی خارج کروموزومی متشکل از RNA دو رشته ای می باشند طبیعت عفونی RNA دو رشته ای در قارچ ها آشکار شده است و در مواردی اندک فنوتایپ قارچی در اثر عفونت تغییر می کند بنا براین کاهش ویروالانس در کریفونکتیریا پارازیتیپها و فونوتایپهای کشنده ساکارومایسس سرویسیه (*Sacharomyces cerevisiae*) و یوستیلیاگو ماییدیس (*Ustilago maydis*) مستقیماً از عفونت قارچی توسط اجزای ژنتیکی dsRNA ایجاد شده اند. هر چند ارتباط عفونت dsRNA با ویژگی های فنوتیپی در تعدادی از قارچها کمتر مشخص شده و یا ناشناخته می باشد. با توجه به گزارشات آغازین توسط آدلر (Adler) و مکنیز (Mackenzie) در سال 1972 از پارتیکل های شبه ویروسی (VLP) در یک ایزوله اسپرژیلوس فلاووس که آفلاتوکسین تولید نکرد و فقدان ویرویون ها در یک ایزوله دیگر که آفلاتوکسین تولید نمود، dsRNA ویروسی به طور مکرر به عنوان یک عامل فرضی (*Putative cause*) در ایزوله های اسپرژیلوس فلاووس که آفلاتوکسین تولید نمی کنند معرفی شده است. اشمیت (Schmidt) و همکاران در سال 1986

ایمنی را نشان می دهد اولین مکانیزم شامل القای تولید اینترلوکین 23، تومور نکروز فاکتور آلفا توسط RNA قارچی، باهمکاری گیرنده های سیستم ایمنی واقع در سطح سلول میزبان و دومین مکانیزم شامل القای تولید اینترلوکین 12 توسط RNA قارچی می باشد (17). در مطالعه ای نقش TLR7 به صورت القای اینترفرون بتا ($IFN\beta$) در سلول های دندرتیک در پاسخ به عفونت های کاندیدیایی مورد بررسی قرار گرفته است علاوه بر این نشان داده شده که هم DNA و هم RNA در این فرآیند توسط سلول های ایمنی شناسایی و تشخیص داده می شود، شایان ذکر است که القای اینترفرون بتا برای کنترل رشد قارچی و فعالیت های ضد التهابی ضروری است (18 و 19). ج. TLR7 نقش مهمی را در پاسخ های سلول های دندرتیک به RNA قارچ کاندیدا گلابراتا (*Candida glabrata*) ایفاء می کند، همچنین نقش محوری و مهمی را در سیگنالینگ و تولید اینترفرون بتا در پاسخ به شناسایی و تشخیص عفونتهای قارچی ناشی از کاندیدا گلابراتا ایفاء می کند. در کاندیدا آلبیکنس نشان داده است که TLR7 در تولید IL12P70 نقش داشته و یک عامل مهم و ضروری در مقاومت در برابر کاندیدیازیس سیستمیک می باشد، انواع متنوع لنفوسیت های تی کمک کننده (T-helper cells) با ترشح سایتوکاین های مختلف مانند (IL-21 و ...) نقش مهم و حیاتی را در عفونت های انگلی و همچنین در عفونت های کاندیدیایی (RNA تک رشته ایی (ssRNA) کاندیدا آلبیکنس با القاء و ایجاد پاسخ های ایمنی در این سلول) بازی می کند (20-23).

مثال دیگر در ارتباط با فعال سازی سیستم ایمنی توسط RNA قارچی، در اسپرژیلوس فومیگاتوس نشان داده شده که DNA یا RNA قارچ سبب تحریک دندرتیک سل های پلاسماسایتوئید (*plasmacytoid dendritic cells* (PDC) شده و این سلولها در پاسخ مقدار زیادی اینترفرون نوع یک ($IFN\alpha$) ترشح می کنند، در شرایط آزمایشگاهی با بررسی موشهای فاقد سلول های دندرتیک پلاسماسایتوئید مشاهده شد که این موش ها بیش از حد مستعد ابتلاء به اسپرژیلوزیس مهاجم هستند و نقش مهم ضد قارچی این سلول کشف شده است (24). همچنین در موشهای دچار عفونت تجربی ریوی دیده است که RNA قارچی

اسپرژیلوس سلولهای اپیتلیال ریه را بوسیله گیرنده شبه تول-3 (TLR3) تحریک نموده و همچنین مسیرهای فسفوریلاسیون عوامل تنظیم کننده رونویسی اینترفرون (*interferon regulatory transcription factor*) IRF3 را نیز به راه می اندازد (25). TLR3 یک نقش کلیدی در تنظیم التهاب، ایمنی ذاتی در مسیر سیستم تنفسی بدن و شناسایی RNA دو رشته ای (dsRNA) ایفاء می کند و سبب فعال سازی سلولهای لنفوسیتی CD8+ خاطره در سیستم ایمنی علیه قارچ می شود. TLR3 بر روی سلول های دندرتیک قرار دارد و به RNA قارچ حساس بوده و به آن متصل می شود سپس این مجموعه به مولکول های پروتئینی غشایی MHC I، سلولهای TCD8+ متصل و سبب فعال شدن آن می شوند. همچنین سبب راه اندازی پاسخ های خاطره ای ضد قارچی در سیستم ایمنی میشود و بنابر این جای تعجب نیست افرادی که دچار کمبود و یا نقص در TLR3 هستند، حساسیت بیشتری نسبت به اسپرژیلوزیس از خود نشان میدهند (26). TLR3 به عنوان یک گیرنده کمکی در پاسخ به RNA تک رشته ای قارچی منجر به فعال سازی سلول های اپیتلیال ریه و سبب آغاز پاسخ سیستم ایمنی می شود (27). تشخیص DNA قارچی توسط TLR (برای مثال دخالت TLR در تشخیص کاندیدا آلبیکنس) مورد بررسی های متعدد قرار گرفته است، ولی در هیچ مطالعه ای نقش احتمالی سیستم های تشخیصی RNA (شامل TLR3.7.8) در پاسخ میزبان علیه کاندیدا آلبیکنس مورد بررسی قرار نگرفته است (28). بررسی ها نشان داده است قبل از این که کاندیدا آلبیکنس فاگوسیت شود، توسط سلول های دندرتیک آنتی ژن های آن پردازش می شود و از طرفی تحریک یا پالس این سلول ها باعث القای ایمنی محافظتی در برابر کاندیدا آلبیکنس می شود (29). یکی دیگر از مکانیزم های دفاعی سیستم ایمنی تولید اینترفرون آلفا / بتا ($FN\alpha/\beta$) بوسیله مکانیزم های درون سلولی تشخیصی DNA و RNA به ترتیب توسط TLR9 و TLR7 در کاندیدا و ساکارومایسس مشاهده شده است. سیگنالینگ تولید $IFN\alpha/\beta$ برای حفاظت از میزبان در مدل موشی در برابر کاندیدیازیس سیستمیک بسیار مهم و ضروری است، از طرفی القای پاسخ $IFN\beta$ نیازمند TLR7، TLR9، MYD88، فاکتورهای رونویسی از

عوامل بیماریزا مثل آنهایی که در لاکاز و اوره آز و ترشح پلی ساکاریدها دخالت دارند به‌طور معنی داری کاهش می یابد در نتیجه بیماریزایی آن تضعیف می گردد (33).

بحث و نتیجه گیری

مکانیسم محافظت شده خاموشی ژن در یوکاریوت‌ها بخصوص قارچ‌ها با حضور MicroRNAها که در واقع تنظیم کننده های فرایندهای سلولی از قبیل توسعه و تکوین، ثبات RNA، دفاع میزبان و ... می‌باشند بسیار مورد توجه محققین قرار گرفته است. از آنجایی که RNA در تنظیم سنتز پروتئین نقش مهمی را ایفا می کند پاتوژن ارگانسیم های قارچی به پروسه‌های وابسته به این مولکول زیستی جهت کنترل عفونت متکی می‌باشد و درواقع اهمیت آن جهت به کار بردن روشی مؤثر برای کنترل ژن در سلول‌های یوکاریوتی خصوصاً واریته‌های مختلف قارچی می‌باشد (5 و 3). به این صورت که در گونه‌های مختلف قارچی از این مکانیسم (به‌طور مصنوعی) جهت مهار بیان ژن استفاده می‌شود. در مطالعات انجام شده پیدایش MicroRNA مداخله‌گر در آسپرژیلوس نیدولانس، موکور سیرسیلوئیدس، نوروسپورا کراسا و شیزوساکارومایسس پومبه به اثبات رسیده است که بیانگر این اصل می‌باشد که این مکانیسم برای بیشتر گونه‌های قارچی محافظت شده می‌باشد (7).

با توجه به مطالعاتی که بر روی قارچ رشته‌ای نوروسپورا کراسا و مخمر شیزوساکارومایسس پومبه انجام گرفته اجزاء RNA مداخله‌گر و شناخت این اجزاء در گونه‌های قارچی آشکار شده است. با توجه به شناسایی سه جزء مرکزی RNA مداخله‌گر (آرگونئات، دایسر و RNA پلی مرز وابسته به RNA) این نتیجه گیری انجام شده که جد مشترک قارچ‌ها یک مسیر مداخله‌گر عملکردی را دارا می‌باشند که این مسیر اجدادی در طی تکامل قارچی دستخوش سازگاری های بسیار بوده است (3). به‌عنوان مثال در مخمر های جوانه زن RNA پلی مرز وابسته RNA به ناپدید گشته، این مخمرها معمولاً یا فاقد مسیر RNA مداخله‌گر هستند و یا دارای RNA های مداخله‌گر غیرمتعارف می‌باشند در صورتیکه در قارچ‌های رشته‌ای این مکانیسم به‌طور کامل موجود است.

خانواده (regulatory factors interferon) IRF است. از نظر توانایی القاء تولید اینترفرون بتا در کاندیدا RNA همانند DNA بصورت قوی و بالقوه عمل می‌کند اما توانایی آن به‌طور قابل ملاحظه ای از RNA باکتریال کمتر است (30). از دیگر کاربردهای RNA قارچی میتوان به یک روش ساده، ارزان و خاص جهت تشخیص زود هنگام آسپرژیلوزیس سیستمیک در بیماران در معرض خطر با استفاده از واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR) دو مرحله ایی در نمونه های خون و برونکوالولار لاواژ نام برد (31).

RNA قارچی و واکسیناسیون

مطالعات نشان داده است نه تنها مخمر ها بلکه RNA مخمر نیز می تواند یک عامل کارآمد تحریک کننده ی بلوغ سلول‌های دندرتیک، تولید IL₁₂ و القای پاسخ های اختصاصی آنتی ژن محافظتی نسبت به کاندیدا محسوب شود. سلول‌های دندرتیک انسانی می‌توانند عوامل قارچی را پردازش نموده و علی‌رغم ایجاد پاسخ ایمنی اختصاصی سبب تقویت مکانیزم دفاعی نیز می‌شوند، این فرایند نشان می‌دهد که این سلول ها می‌توانند به‌عنوان واکنش‌های مؤثر بر علیه عفونت های قارچی عمل نمایند (32). یکی دیگر از عوامل تحریک کننده سیستم ایمنی و گزینه مناسب جهت واکسیناسیون، وزیکول های خارج سلولی (Extracellular vesicles) می‌باشند این وزیکول‌ها حامل پروتئین ها، رنگدانه ها، پلی ساکاریدها و RNA قارچی هستند. این اجزاء به‌عنوان عوامل بیماریزایی شناخته می‌شوند، اما هنوز منشاء پیدایش آنها مشخص نشده است. وزیکول های حاوی RNA در قارچ‌های ساکارومایسس سرروزیه، کاندیدا آلیکنس، کریپتوکوکوس نئوفورمنس، پاراکوکسیدئوئیدس برازیلینسیس (*Paracoccidioides brasiliensis*) حامل RNA_s، tRNA، RNA های بالغ و RNA های غیر کد گذاری می‌باشند و در انتقال آن ها نقش داشته و از هیدرولیز آن ها توسط آنزیم های خارج سلولی جلوگیری می‌کنند. گرچه اطلاعات اندکی در زمینه این مولکول ها و عملکرد RNA در این وزیکول‌ها در قارچ‌ها وجود دارد، در کریپتوکوکوس نئوفورمنس جهش در ژن (RNA Sec6) (interference)، باعث انباشته شدن سطوح برخی از

همچنین مطالعات بیشتری برای توصیف جزئیات بیشتر در ارتباط با فعالیت تحریک کنندگی RNA قارچی و نقش بالقوه آن در القای پاسخهای ایمنی میزبان از جمله تولید سایتوکاین‌های التهابی نیاز است (30). RNA مداخله‌گر در سال‌های اخیر توجه قابل ملاحظه‌ای را به‌عنوان روشی برای بازدارنده بیان ژن‌های اختصاصی به خود معطوف داشته بنابراین یک ابزار بالقوه جهت شناسایی و معتبر سازی اهداف دارویی است (7).

منابع

1. Corey DR. Chemical modification: the key to clinical application of RNA interference? *J Clin Invest*; 2007.12: 3615-22.
2. Göhre V, Haag C, Feldbrügge M. RNA biology in fungal phytopathogens. *Plos Pathog*; 2013.10: e1003617.
3. Dang Y, Yang Q, Xue Z, Liu Y. RNA interference in fungi: pathways, functions, and applications. *Eukaryot Cell*; 2011. 9:1148-55.
4. Khoshmirsafa M, Seif F, Mohsenzadegan M, Najafi M, Mokhtarian K, Shekarabi M. [Circulating microRNAs, valuable biomarkers in biological fluids]. *Razi Journal of Medical Sciences* 2017.24 (160); 22-36. (Persian)
5. Göhre V, Haag C, Feldbrügge M. RNA biology in fungal phytopathogens. *PLoS Pathog*; 2013.10: e1003617.
6. Sesma A. RNA metabolism and regulation of virulence programs in fungi. *Semin Cell Dev Biol*; 2016. 57:120-127.
7. Moazeni M, Nabili M, Badali H, Abastabar M. RNAi technology: A novel approach against fungal infections. *Res Mol Med*; 2014. 3:1-0.
8. Deng H, Liu Q, Cao W, Gui R, Ma C, Yi M, et al, editors. qiRNApredictor: A Novel Computational Program for the Prediction of qiRNAs in *Neurospora crassa*. *Plos One*; 2016. 7:e0159487.
9. Jöchl C, Rederstorff M, Hertel J, Stadler PF, Hofacker IL, Schrettl M, et al, editors. Small ncRNA transcriptome analysis from *Aspergillus fumigatus* suggests a novel mechanism for regulation of protein synthesis. *Nucleic Acids Res*; 2008. 8:2677-89.
10. Fan J, Savard F, Wu M, Shen SH. A full complement of transfer RNA genes in the *Candida albicans* genome. *Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology*; 2007.2: 915-25.
11. Nunes CC, Sailsbery JK, Dean RA. Characterization and application of small RNAs and RNA silencing mechanisms in fungi. *Fungal Biol Rev*; 2011. 4:172-80.
12. Ong JW, Li H, Sivasithamparan K, Dixon

شایان ذکر است که حضور عملکرد مؤثر و گسترده RNA مداخله‌گر در نوروسپورا کراسا در دفاع ژنومی و تنظیم ژنی (در مراحل جنسی و رویشی) این ارگانسیم را به یک نمونه مناسب جهت مطالعه مسیرهای RNA مداخله‌گر تبدیل نموده است (3).

در قارچ پاتوژن گیاهی بوتریتیس سینره آرگانسیم قارچی با تزریق RNA های کوچک قارچی به داخل گیاه میزبان و با استفاده از خاموشی ژن به‌واسطه RNA ژن های ایمنی سلول میزبان راسرکوب می‌کند این مطلب بیانگر نقش گسترده RNA های کوتاه درون زاد قارچی در ویروالانس و فرآیندهای تکوینی در قارچها می‌باشد. پدیده خاموشی ژن به‌واسطه MicroRNA در آسپرژیلوس نیدولانس در رشد، تکوین و توسعه و پاتوژن ارگانسیم دخیل می‌باشد (9). علاوه بر این با توجه به مطالعاتی که بر روی قارچ پاتوژن انسانی کریپتوکوکوس نئوفورمنس انجام شده تنوع مسیرهای RNA مداخله‌گر در قارچها آشکار گردیده است (6).

با استفاده از مکانسیم خاموشی ژن به‌واسطه RNA اهمیت خاص RNA مداخله‌گر در قارچها پدیده خاموشی ژنی القایی میزبانی جهت کنترل بیماری های قارچی بسیار مورد توجه قرار گرفته است، بطوریکه بیان مولکول های dsRNA در گیاهانی که مورد تهاجم ارگانسیم قارچی قرار گرفته اند منجر به خاموشی ژن وابسته به RNA silencing) و در نهایت محدود کردن عفونت قارچی می‌گردد (6).

خاموشی ژن وابسته به RNA در dsRNA های ویروسی (مایکوپروسها) آلوده کننده ارگانسیم‌های قارچی نظیر آسپرژیلوس فومیگاتوس در میزبان قارچی ویروس مثال دیگری از حضور و عملکرد با اهمیت این مکانسیم در طبیعت می‌باشد که منجر به تغییراتی در میزان رشد و فنوتایپ میزبان قارچی نظیر هایپوویروالانس می‌گردد. کاهش ویروالانس ناشی از حضور dsRNA های ویروسی این فرضیه را که این عوامل ویروسی قادر به کنترل بیولوژیکی در عفونت های قارچی انسانی می‌باشند را مطرح می‌سازد (14) و (13).

در مجموع داده‌های به دست آمده اشاره به اهمیت دفاع ضدقارچی سیستم ایمنی از مسیرهای مختلف دارد برای مثال RNA مخمر قادر به تحریک سلول‌های دندریتیک برای افزایش تولید IL-12 است (17).

the human fungal pathogen *Aspergillus fumigatus*. *Cell Host Microbe*; 2011.5:415-24.

25. Sorci G, Giovannini G, Riuzzi F, Bonifazi P, Zelante T, Zagarella S, et al, editors. The Danger Signal S100B Integrates Pathogen- and Danger-Sensing Pathways to Restrain Inflammation. *PLoS Pathog*; 2011.3: e1001315.

26. Carvalho A, De Luca A, Bozza S, Cunha C, D'Angelo C, Moretti S, et al, editors. TLR3 essentially promotes protective class I-restricted memory CD8+ T-cell responses to *Aspergillus fumigatus* in hematopoietic transplanted patients. *J Blood*; 2012.4:967-77.

27. Beisswenger C, Hess C, Bals R. *Aspergillus fumigatus* conidia induce interferon- β signalling in respiratory epithelial cells. *Eur Respir J*; 2012.2:411-8.

28. Netea MG, Brown GD, Kullberg BJ, Gow NA. An integrated model of the recognition of *Candida albicans* by the innate immune system. *Nat Rev Microbiol*; 2008.1: 67-78.

29. Netea MG, Gijzen K, Coolen N, Verschuere I, Figdor C, Van der Meer JW, et al, editors. Human dendritic cells are less potent at killing *Candida albicans* than both monocytes and macrophages. *Microbes Infect*; 2004.11:985-9.

30. Biondo C, Signorino G, Costa A, Midiri A, Gerace E, Galbo R, et al, editors. Recognition of yeast nucleic acids triggers a host-protective type I interferon response. *Eur J Immunol*; 2011.7: 1969-79.

31. Skladny H, Buchheidt D, Baust C, Krieg-Schneider F, Seifarh W, Leib-Mösch C, et al, editors. Specific detection of *Aspergillus* species in blood and bronchoalveolar lavage samples of immunocompromised patients by two-step PCR. *J Clin Microbiol*; 1999.12: 3865-71.

32. Bacci A, Montagnoli C, Perruccio K, Bozza S, Gaziano R, Pitzurra L, et al, editors. Dendritic cells pulsed with fungal RNA induce protective immunity to *Candida albicans* in hematopoietic transplantation. *J Immunol*; 2002.6:2904-13.

33. Joffe LS, Nimrichter L, Rodrigues ML, Del Poeta M. Potential roles of fungal extracellular vesicles during infection. *mSphere*; 2016.4:e00099-16.

KW, Jones MG, Wylie SJ. Novel and divergent viruses associated with Australian orchid-fungus symbioses. *Virus Res*; 2018. 244:276-83.

13. Özkan S, Coutts RH. *Aspergillus fumigatus* mycovirus causes mild hypervirulent effect on pathogenicity when tested on *Galleria mellonella*. *Fungal Genet Biol*; 2015.76: 20-6.

14. Refos JM, Vonk AG, Eadie K, Lo-Ten-Foe JR, Verbrugh HA, van Diepeningen AD, et al, editors. Double-stranded RNA mycovirus infection of *Aspergillus fumigatus* is not dependent on the genetic make-up of the host. *Plos One*; 2013.10: e77381.

15. Elias KS, Cotty PJ. Incidence and stability of infection by double-stranded RNA genetic elements in *Aspergillus section flavi* and effects on aflatoxinogenicity. *Can J Bot*; 1996. 5:716-25.

16. Ahn IP, Lee YH. A viral double-stranded RNA up regulates the fungal virulence of *Nectria radicola*. *Mol Plant Microbe In*; 2001.4: 496-507.

17. Biondo C, Malara A, Costa A, Signorino G, Cardile F, Midiri A, Galbo R, Papasergi S, Domina M, Pugliese M, Teti G. Recognition of fungal RNA by TLR7 has a nonredundant role in host defense against experimental candidiasis. *Eur J Immunol*; 2012.10: 2632-43.

18. Dalpke AH, Helm M. RNA mediated Toll-like receptor stimulation in health and disease. *RNA BIOL*; 2012.6: 828-42.

19. Mohsenzadegan M, Fayazi MR, Abdolmaleki M, Bakhshayesh M, Seif F, Mousavizadeh K. Direct immunomodulatory influence of IFN- β on human astrocytoma cells. *Immunopharm Immunot*; 2015.2:214-9

20. Bourgeois C, Majer O, Frohner IE, Lesiak-Markowicz I, Hildering KS, Glaser W, et al, editors. Conventional dendritic cells mount a type I IFN response against *Candida* spp. requiring novel phagosomal TLR7-mediated IFN- β signaling. *J Immunol*; 2011.5: 3104-12.

21. Hajilooi M, Lotfi P, Seif F, Bazmani A, Momeni M, Ravary A, et al, editors. The Cytotoxic T Lymphocyte Antigen-4 +49A/G Single Nucleotide Polymorphism Association With Visceral Leishmaniasis. *Jundishapur J Microbiol*; 2014.10: e12143.

22. Seif F, Khoshmirsafa M, Aazami H, Mohsenzadegan M, Sedighi G, Bahar M. The role of JAK-STAT signaling pathway and its regulators in the fate of T helper cells. *Cell Commun Signal*; 2017.1:23.

23. Seif F, Khoshmirsafa M, Mousavi M, Beshkar P, Rafeian-Kopaei M, Bagheri N, et al, editors. Interleukin-21 receptor might be a novel therapeutic target for the treatment of rheumatoid arthritis. *J Exp Clin Med*; 2014.2: 57-61.

24. Ramirez-Ortiz ZG, Lee CK, Wang JP, Boon L, Specht CA, Levitz SM. A nonredundant role for plasmacytoid dendritic cells in host defense against

The biological processes related to MicroRNA in fungi; a comprehensive over view

Fatemeh Sadeghi, Department of Medical Mycology and Parasitology, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Fatemeh Peymaei, Department of Medical Mycology and Parasitology, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Soleiman Khedri, Department of Medical Mycology and Parasitology, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Raheleh Roudi, Oncopathology Research Center, Iran University of Medical Sciences Tehran, Iran.

Shahla Roudbar Mohammadi, Department of Mycology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

***Maryam Roudbary**, Department of Medical Mycology and Parasitology, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. (*Corresponding author). roudbari.mr@iums.ac.ir

Abstract

RNA processing is essential factor for synthesis of functional and structural proteins in eukaryote cells. In eukaryote organisms it will be initiated with transcription of DNA in nucleolus and terminated to mRNA translation in cytoplasm, finally mRNA degraded. Protein synthesis followed as different steps, includes 5' capping, poly adenylating, processing and transferring from nucleolus to cytoplasm that all processing control and regulate MicroRNA are small molecules that could be inhibit the translation or degrade the mRNA. Due to the main biological role of RNA in regulation of protein synthesis, it is obvious that fungal pathogenesis is highly related to RNA. Interference RNAs (iRNA) are small double strand RNA in fungi that produced by fungal genome or during translation process and play a key role in RNA silencing. Mycovirus is small double strand RNA that led to phenotypic variation in fungi and has a critical role in fungal pathogenesis. The recent studies demonstrated the role of RNA in fungal infection treatment. In this review because of key role of various type of fungal RNA we will discuss our current understanding of the fungal RNA pathways and their functions as well as how RNA can be used as a tool in fungal research especially for immunotherapy of fungal infection.

Keywords: MicroRNA, Interference RNA, RNA Biology, Gene silencing related RNA