

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 پیمایی: گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

سلیمان خدري: 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.

شهلا رودبار محمدی: مرکز تحقیقات آسیب شناسی و سرطان، 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'، پلی‌آدینسیون، 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 می‌باشند. RNA مداخله‌گر شامل RNA های دورشته‌ای کوچک در قارچ‌ها می‌باشد که با 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 ایمنوتراپی عفونت‌های قارچی مورد استفاده قرار گیرند پرداخته است.

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

مقدمه

(Candida) یک نوعی از این پروتئین‌ها بنام She3 در انتقال RNA پیامبر (RNA(mRNA) Mesenger) وابسته به اکتین در طول عفونت کاندیدا آلبیکنس (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 فرایندهای 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

هسته‌ای و انتقال سیتوپلاسمی، تخریب سیتوپلاسمی و هسته‌ای (Nuclear/Cytoplasmic degradation) ترجمه. برخی از RNA غیر کد شونده پلی‌آدنیل شده (polyadenylation Non-coding RNA) باید به سیتوپلاسم جایی که عملکردهایشان را انجام می‌دهند منتقل شوند.

پروتئین‌های متصل به RNA یک کمپلکس ریونوکلئوپروتئینی (RNPs) را تشکیل می‌دهند که شبکه RNA پیچیده (networks Intricate RNA) در داخل سلول را کنترل می‌نماید (6).

RNA مداخله‌گر (RNA interference) (RNAi)

یک مکانیسم محافظت‌شده خاموش‌کننده ژن (Conserved eukaryotic gene silencing) در یوکاریوت‌ها می‌باشد. MicroRNA های غیرکدشونده (non-coding RNAs)، حدود بیست تا سی نوکلئوتید به‌عنوان تنظیم‌کننده‌های پروسه‌های سلولی (توسعه و تکوین (Development)، ثبات (RNA stability) پردازش (Processing)، دفاع میزبان (Host defense)، تفکیک کروموزومی (Chromosome segregation)، نسخه‌برداری (Transcription) و ترجمه (Translation) فعالیت می‌کنند (3). در واقع تنظیم بیان ژن و بروز تغییرات مؤثر و گسترده در بیان محصول نهایی ژن نقش بارز این توالی‌های تک‌رشته‌ای به شدت محافظت‌شده می‌باشد (4).

خاموشی ژن به‌واسطه MicroRNA به روش‌های مختلف نیازمند Argonaute protein

به‌عنوان جز مرکزی کمپلکس خاموش‌کننده القاء شده توسط RNA (RISC) (RNA-induced silencing complex) می‌باشد (3).

تاریخچه و نقش RNA مداخله‌گر در قارچ‌ها
پس از کشف RNA مداخله‌گر در سال 1998 تلاش‌هایی 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 رشته‌ای (dsRNA) و یا یک سیستم مرتبط با بیان RNA دو رشته‌ای، در بسیاری از گونه‌های قارچی در

بیولوژی MicroRNA در قارچ‌ها و نقش آن در فعالیت‌هایی 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 قارچ‌ها (Bioglyin RNA) (Fungi)

فرآیندهای های وابسته به RNA برای سنتز مؤثر پروتئین‌های سلول بسیار حائز اهمیت می‌باشند. در یوکاریوت‌ها این فرآیندها 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 فرآیند پروتئین‌سازی مراحل مختلفی از جمله، پوشش 5' (5' capping)، پردازش (Splicing)، پلی‌آدنیلاسیون (poly adenylation)، خروج هسته‌ای (Nuclear export) و انتقال سیتوپلاسمی (Cytoplasmic transport) اتفاق می‌افتد که تماماً بایستی کنترل و تنظیم گردد تا یک بیان به‌موقع صورت گیرد.

کنترل پس از ترجمه در سطح پردازش پلی‌آدنیلاسیون، ترجمه و ثبات، ابزارهای تنظیمی مهم برای پاتوژنز قارچ‌ها جهت هماهنگ کردن عفونت می‌باشند. انتقال RNA پیامبر اندوزومال در طول میکروتوبول‌ها یک جنبه بدیع از بیولوژی RNA می‌باشد و این پروسه پس از نسخه‌برداری (Posttranscriptional) به‌طور ویژه‌ای در طی عفونت اولیه با اهمیت می‌باشد. پروتئین‌های متصل به RNA (RNA – binding proteins) به‌عنوان فاکتورهای کلیدی در هر مرحله از کنترل پس از نسخه‌برداری ضروری می‌باشند. RNA های کوچک فاکتورهای اضافی (Additional) هستند که یا ترجمه را مهار می‌کنند 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 قارچ‌ها به شدت به پروسه‌های وابسته به RNA جهت کنترل عفونت متکی باشد (5).

RNA پیامبر توسط پروتئین‌های متصل به RNA کنترل می‌شود. این پروتئین‌ها نقش حیاتی را در مراحل مختلف بین نسخه‌برداری و سنتز پروتئین ایفا می‌کند همانند پوشش 5'، پردازش، پلی‌آدنیلاسیون، خروج

دارای عملکردهای متعددی می‌باشد. در نروسپورا 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 نروسپورا 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 نروسپورا 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 بر مکانیسم خاموشی ژن مسلط شده و ژن های ایمنی میزبان را سرکوب نماید.

شاخه‌های مختلف نظیر آسکومایکوتا (*Ascomycota*)، بازیدیومایکوتا (*Basidiomycota*)، زایگومایکوتا (*Zygomycota*) و همینطور در المایکوتای 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 آ (*Magnaporthe oryzae*) و نروسپورا کراسا (*Neurospora crassa*) و پیدایش MicroRNA مداخله‌گر (SiRNA) در آسپرژیلوس نیدولانس، موکور سیرسینلوئیدس (*Mucor circinelloides*)، نروسپورا کراسا و شیزوساکارومایسس 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 رشته‌ای نروسپورا کراسا و مخمر شیزوساکارومایسس 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 مسیراجدادی 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 رشته‌ای پاتوژن می‌باشد که در مقایسه با سایر قارچهای کپکی عفونت‌های بیشتری را در سطح جهانی ایجاد می‌کند. مطالعاتی که بر روی RNA های کوچک غیرکدشونده این قارچ‌ها تحت شرایط مختلف و متنوع انجام شده و تولید کتابخانه‌های cDNA از گونه‌های 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 هسته‌ای کوچک (Small nuclear RNAs (SnRNAs) طبقه بندی شده اند؛ بنابراین ncRNA ها تحت تاثیر مراحل تکوینی (Developmental stages) قارچ‌ها و شرایط محیطی قرار می‌گیرند. مقایسه ژنومی نشان داده است که حضور snoRNA ها در آسپرژیلوس فومیگاتوس در بین استرین‌های قارچی حفاظت شده است. این مطالعه همچنین تعدادی ترادف‌های tRNA نیمه تمام (tRNA sequences Partial) در داخل کتابخانه cDNA را که با نیمه‌های 5' و 3' مولکولهای tRNA مطابقت دارد آشکار نموده است. این tRNA های نیمه تمام به نظر می‌رسد که توسط شکافت یا گسستگی اندونوکلویتیک در داخل لوپ آنتی‌کدن ایجاد شده اند. گزارش شده که این tRNA های نیمه تمام از سنتز پروتئین جلوگیری می‌کنند هر چند برای پی بردن به عملکرد دقیق آنها نیاز به مطالعات بیشتری است (9). عملکردهای ژن‌های Non-coding نظیر ژنهای tRNA در کاندیدا آلبیکنس بطور وسیعی نادیده گرفته شده است هر چند در بسیاری از موارد دریافتند که آنها نقش مهمی را در تنظیم بیان ژن ایفا می‌کنند. از آنجائیکه عملکرد tRNA بعنوان مولکول آداپتور در انتقال اطلاعات ژنتیکی از RNA پیامبر به ترادف پروتئینی می‌باشد کاملاً مشخص است که یک نقش حیاتی و مؤثر را در سنتز پروتئین بازی می‌کنند (10). اخیراً خاموشی ژنی القایی میزبانی (HIGS) - host-induced gene silencing) به‌عنوان یک استراتژی امیدبخش جهت کنترل بیماریهای قارچی مورد توجه قرار گرفته است. در این مطالعات بیان مولکول‌های

یک شکل خاص RNA کوچک در این قارچ پاتوژن، ژن‌های میزبان را مورد هدف قرار می‌دهد و مطالعات بیشتر نشان داده که این ژن‌ها در طی عفونت سرکوب می‌شوند. در پر سلولی‌ها یک زیر مجموعه از این مولکول‌ها به داخل میکرووزیکول‌ها یا اگزوزوم‌هایی که به فضای خارجی ترشح می‌گردند رانده می‌شوند، یک مکانیسم مشابه می‌تواند منجر به حرکت MicroRNA ها از قارچ‌های رشته‌ای به داخل سلول‌های میزبان گردد. باتوجه به این یافته‌ها نقش گسترده RNA های کوتاه درون زاد قارچی (Fungal RNAs Endogenous short) در پروسه‌های ویرولانسی و پروسه‌های تکوینی در قارچ‌ها بسیار حائز اهمیت می‌باشد. 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) می‌باشند. مطالعاتی که بر روی قارچ پاتوژن انسانی کریپتوکوکوس نئوفورمنس (*Cryptococcus neoformans*) انجام شده تنوع مسیرهای RNA مداخله‌گر را در قارچ‌ها نشان می‌دهد (6). این RNA های کوچک 20 تا 30 نوکلئوتیدی در سال‌های اخیر بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند. آنها بطور گسترده‌ای در پروسه‌های بیولوژی مختلف دخیل هستند (8). نقش و هدف MicroRNA ها در قارچ‌های رشته‌ای بیشتر ناشناخته می‌باشد تا به امروز بیشتر اطلاعات در رابطه با RNA های کوچک در قارچ‌های رشته‌ای 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 رشته‌ای به ویژه در نوروسپورا کراسا هنوز بطور کامل مشخص نیست. در سایر گونه‌های قارچی از جمله قارچ‌های پاتوژن گیاهی، خاموشی ژن وابسته به RNA های کوچک هنوز در مرحله جستجوی آغازینش می‌باشد. 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 یافته‌ها بطور قطعی استفاده از مولکول‌های مصنوعی را به‌عنوان یک وسیله مؤثر برای مطالعه RNA silencing در شرایط طبیعی (in vivo) پیشنهاد می‌

به RNA و شبه دایسر 2 (Dicer like 2 (DCL2) تولید می‌شود. آنها مسئول 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 شبه 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 اوتائه (Arthroderma otae) فاقد آن می‌باشند. miRNAs شناخته شده ترین کلاس small RNA ها در یو کاریوت ها می‌باشند گر چه تا به امروز تلاش ها جهت تشخیص miRNA استاندارد و متعارف در قارچ ها به نتیجه نرسیده است (11). جایی که دستاوردهای اخیر برای بیشتر قارچ ها 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 کریپتو کوکوس 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 نئوروسپورا کراسا شناسایی شده و از تخریب DNA تولید می‌گردند این مولکولهای حیاتی خاموشی ژن را با استفاده از ترجمه پروتئین مهار کننده میانجی گری می‌کنند. از دیگر RNA های کوچک غیر کدشونده که در نئوروسپورا 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.

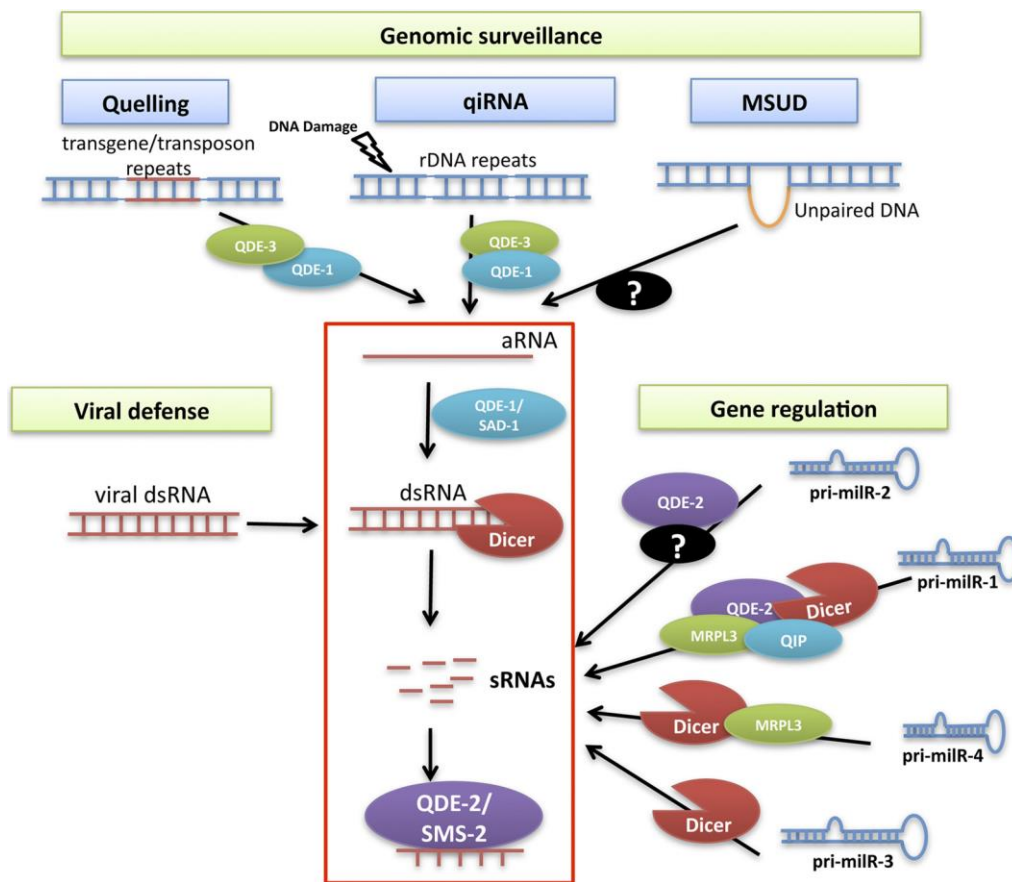
قارچ های مورد بررسی	انواع MicroRNA
نوروسپورا کراسا، بوتریتیس سینره	MicroRNA های غیر کدشونده
کریپتوکوکوس نتوفورمنس	Small Non-coding RNAs
آسپرژیلوس نیدولانس	
آسپرژیلوس فومیگاتوس	
موکور سیرسینلوئیدس	RNA های کوتاه درون زاد
	Endogenous short RNAs
	(esRNA)
مخمر ساکارومایسس کاستلی	MicroRNA های مداخله گر
مخمر کاندیدا آلیکنس	Small interfering RNAs
کریپتوکوکوس نتوفورمنس	(siRNAs)
نتوسپورا کراسا	
کریپتوکوکوس 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. الفاء 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 کریفونکتريا پارازیتیک (parasitica Cryphonectria) و آسپرژیلوس نیدولانس: نقش RNA مداخله گر قارچی در دفاع ویروسی نخستین بار در قارچ رشته ای آسکومایست کریفونکتريا 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 هایپوویروولانس می‌گردند. هایپوویروولانس در قارچ‌ها توسط کاهش کونیدی زایی، کاهش پیگماتاسیون و کاهش میزان رشد تشخیص داده می‌شود (13). در اسپرزیلوس فومیگاتوس که یک پاتوژن قارچی فرصت طلب می‌باشد آلودگی با dsRNA ویروسی موجب کاهش ویروولانس می‌گردد. به همین دلیل dsRNA ویروسی (مایکوویروس‌ها) از نظر فرض علمی می‌توانند به عنوان ابزارهای درمانی با عفونت‌های قارچی مبارزه کنند در واقع این کاهش ویروولانس ناشی از حضور dsRNA های ویروسی، منجر به طرح فرضیه ای می‌شود که dsRNA های ویروسی، می‌توانند به عنوان "عوامل کنترل کننده بیولوژیکی" در عفونت‌های قارچی انسانی ایفای نقش کنند. dsRNA های ویروسی در استرین‌های اسپرزیلوس فومیگاتوس به یک پروتئین سطحی سلولی (Cell surface protein - CSP type Mating) خاص و یا یک تایپ آمیزشی (

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).

اسپرزیلوس 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 اسپرزیلوس 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) به طور 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 کرایزونوم (*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 radicola*) 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 ارگانیسم 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

(type) 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 فنوتایپی قابل توجهی در شرایط آزمایشگاهی و همینطور کاهش رشد قارچ می گردد. همچنین تغییرات فنوتایپی 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 بر این کاهش ویروالانس در کریفونکتیریا پارازیتیکو فنوتایپهای کشنده ساکارومایسس سرویسیه (*Sacharomyces cerevisiae*) و یوستیلیاگو مایدیس (*Ustilago maydis*) مستقیماً از عفونت قارچی توسط اجزای ژنتیکی dsRNA ایجاد شده اند. هر چند ارتباط عفونت dsRNA با ویژگی های فنوتایپی 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 ویرون 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 (19 و 18) ج. TLR7 نقش مهمی را در پاسخ های سلول های دندرتیک به RNA_s 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 عفونت های 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 آسپرژیلوس فومیگاتوس نشان داده شده که DNA یا RNA قارچ سبب تحریک دندرتیک سل های پلاسما سائیتوئید (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 پلاسما سائیتوئید مشاهده شد که این موش ها بیش از حد مستعد ابتلاء به آسپرژیلوزیس 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

آسپرژیلوس سلول های 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 مسیریستم تنفسی بدن و شناسایی RNA دو رشته ای (dsRNA) ایفاء می کند و سبب فعال سازی سلول های 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، سلول های $CD8+$ 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 آسپرژیلوزیس 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 TLR9، TLR7، 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 ... می باشند 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 پروسه های وابسته به این مولکول زیستی جهت کنترل عفونت متکی می باشد و درواقع اهمیت آن جهت به کار بردن روشی مؤثر برای کنترل ژن در سلول های یوکاریوتی خصوصاً واریته های مختلف قارچی می باشد (5 و 3). به این صورت که در گونه های مختلف قارچی از این مکانیسم (به‌طور مصنوعی) جهت مهار بیان ژن استفاده می شود. در مطالعات انجام شده پیدایش MicroRNA مداخله گر در آسپرژیلوس نیدولانس، موکور سیرسیلوئیدس، نوروپورا کراسا و شیزوساکارومایسس پومبه به اثبات رسیده است که بیانگر این اصل می باشد که این مکانیسم برای بیشتر گونه های قارچی محافظت شده می باشد (7).

با توجه به مطالعاتی که بر روی قارچ رشته ای نوروپورا کراسا و مخمر شیزوساکارومایسس پومبه انجام گرفته اجزاء RNA مداخله گر و شناخت این اجزاء در گونه های قارچی آشکار شده است. با توجه به شناسایی سه جزء مرکزی RNA مداخله گر (آرگونئات، دایسر و RNA پلی مرز وابسته به RNA) این نتیجه گیری انجام شده که جد مشترک قارچ ها یک مسیر مداخله گر عملکردی را دارا می باشند که این مسیر اجدادی در طی تکامل قارچی دستخوش سازگاری های بسیار بوده است (3). به عنوان مثال در مخمر های جوانه زن RNA پلی مرز وابسته RNA به ناپدید گشته، این مخمرها معمولاً یا فاقد مسیر RNA مداخله گر هستند و یا دارای RNA های مداخله گر غیرمتعارف می باشند در صورتیکه در قارچ های رشته ای 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 می کند 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 برونکوالواتر 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 سلول های دندرتیک، تولید IL₁₂ و القای پاسخ های اختصاصی آنتی ژن محافظتی نسبت به کاندیدا محسوب شود. سلول های دندرتیک انسانی می توانند عوامل قارچی را پردازش نموده و علی رغم ایجاد پاسخ ایمنی اختصاصی سبب تقویت مکانیسم دفاعی نیز می شوند، این فرایند نشان می دهد که این سلول ها می توانند به عنوان واکنش های 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) می باشند این وزیکول ها حامل پروتئین ها، رنگدانه ها، پلی ساکاریدها و RNA قارچی هستند. این اجزاء به عنوان عوامل بیماریزایی شناخته می شوند، اما هنوز منشاء پیدایش آنها مشخص نشده است. وزیکول های حاوی RNA در قارچ های ساکارومایسس سرروزیه، کاندیدا آلبیکنس، کریپتوکوکوس نئوفورمنس، پاراکوکسیدیوئیدس برازیلینسیس (*Paracoccidioides brasiliensis*) حامل (sRNA_s، tRNA، RNA های بالغ و RNA های غیر کد گذاری) می باشند و در انتقال آن ها نقش داشته و از هیدرولیز آن ها توسط آنزیم های خارج سلولی جلوگیری می کنند. گرچه اطلاعات اندکی در زمینه این مولکول ها و عملکرد RNA در این وزیکول ها در قارچ ها وجود دارد، در کریپتوکوکوس نئوفورمنس جهش در ژن (Sec6) RNA (interference)، باعث انباشته شدن سطوح برخی از

همچنین مطالعات بیشتری برای توصیف جزئیات بیشتر در ارتباط با فعالیت تحریک کننده 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 بازداری 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 ارگانیسم را به یک نمونه مناسب جهت مطالعه مسیرهای RNA مداخله‌گر تبدیل نموده است (3).

در قارچ پاتوژن گیاهی بوتریتیس سینره آرگانیسم قارچی با تزریق RNA های کوچک قارچی به داخل گیاه میزبان و با استفاده از خاموشی ژن به واسطه 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 به واسطه MicroRNA در آسپرژیلوس نیدولانس در رشد، تکوین و توسعه و پاتوژن ارگانیسم 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 مکانیسم خاموشی ژن به واسطه 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 ارگانیسم قارچی قرار گرفته اند منجر به خاموشی ژن وابسته به RNA (RNA silencing) و در نهایت محدود کردن عفونت قارچی می‌گردد (6).

خاموشی ژن وابسته به RNA در dsRNA های ویروسی (مایکوبیروسها) آلوده کننده ارگانیسم های قارچی نظیر آسپرژیلوس فومیگاتوس در میزبان قارچی ویروس مثال دیگری از حضور و عملکرد با اهمیت این مکانیسم 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 سلول های 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, Seifarth 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 aflatoxicity. *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, Oncopathology Research Center, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

***Maryam Roubary**, Department of Medical Mycology, Faculty of Medical Sciences, 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