

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور

عنوان:

شناسایی مسیرهای مولکولی، طبقه‌بندی و
آنالیز بیوانفورماتیک خانواده ژنی
هورمون آزادکننده گنادوتروپین (GnRH)
در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان

مجری:

مهدی گلشن

شماره ثبت

۶۳۱۴۰

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور

عنوان طرح/پروژه: شناسایی مسیرهای مولکولی، طبقه بندی و آنالیز بیوانفورماتیک خانواده ژنی هورمون آزادکننده گنادوتروپین (GnRH) در ماهی قزل آلابی رنگین کمان
کد مصوب: ۹۹۱۲۶۵-۹۹۰۴۹-۹۹۰۵۴-۱۲-۱۲-۱۲۴

نام و نام خانوادگی نگارنده: مهدی گلشن

نام و نام خانوادگی مجری مسئول (اختصاص به پروژه ها و طرحهای ملی و مشترک دارد): -

نام و نام خانوادگی مجری: مهدی گلشن

نام و نام خانوادگی همکار(ان): سجاد نظری، سیدامین مرتضوی، محمود بهمنی، همایون حسین زاده صحافی، خلیل اسلاملو، هادی غفاری، مریم میربخش، داود ضرغام، شکوفه نصیری

نام و نام خانوادگی مشاور(ان): -

نام و نام خانوادگی ناظر(ان): -

محل اجرا: استان تهران

تاریخ شروع: ۱۳۹۹/۰۷/۰۱

مدت اجرا: ۱ سال و ۹ ماه

ناشر: موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور

تاریخ انتشار: سال ۱۴۰۱

حق چاپ برای مؤلف محفوظ است. نقل مطالب، تصاویر، جداول، منحنی ها و نمودارها با ذکر مأخذ بلامانع است.

«سوابق طرح یا پروژه و مجری مسئول / مجری»

طرح/پروژه: شناسایی مسیرهای مولکولی، طبقه‌بندی و آنالیز
بیوانفورماتیک خانواده ژنی هورمون آزادکننده گنادوتروپین
(GnRH) در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان

کد مصوب: ۹۹۱۲۶۵-۹۹۰۴۹-۰۵۴-۱۲-۱۲-۱۲۴

شماره ثبت (فروست): ۶۳۱۴۰ تاریخ: ۱۴۰۱/۱۲/۱۴

با مسئولیت اجرایی جناب آقای مهدی گلشن دارای مدرک
تحصیلی دکتری تخصصی در رشته تکثیر و پرورش آبزیان
می‌باشد.

پروژه توسط داوران منتخب بخش زیست‌فناوری و فرآوری آبزیان
در تاریخ ۱۴۰۱/۱۲/۱ مورد ارزیابی و با رتبه عالی تأیید گردید.

در زمان اجرای پروژه، مجری در:

ستاد ■ پژوهشکده □ مرکز □ ایستگاه □

با سمت عضو هیئت علمی در موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور
(ستاد-تهران) مشغول بوده است.

عنوان	«فهرست مندرجات»	صفحه
چکیده		۱
۱-مقدمه		۳
۱-۱- قزل آلائی رنگین کمان		۳
۱-۲- بلوغ جنسی در ماهیان		۵
۱-۲-۱- هورمون آزادکننده گنادوتروپین (GnRH)		۵
۱-۳- اندروژن ها		۶
۱-۳-۱- نقش فیزیولوژیک GnRH و اندروژن در تولیدمثل ماهیان		۷
۱-۴- ژنتیک و بیوانفورماتیک در آبریان		۸
۱-۴-۱- فناوری ریزآرایه DNA		۱۰
۱-۵- بازسازی ساختار شبکه با استفاده از روش های متداول		۱۳
۱-۵-۱- شبکه بیزی		۱۳
۱-۵-۲- شناسایی ژن های علی و ماژول ها		۱۴
۱-۶- هستی شناسی و غنی سازی ژن های متفاوت بیان شده، درون ماژولی و هاب		۱۵
۲- روش کار		۱۷
۱-۲- پژوهش هورمون آزادکننده گنادوتروپین (GnRH)		۱۷
۱-۲-۱- استخراج داده ها		۱۷
۲-۱-۲- ORF و ترجمه توالی های بدون پروتئین		۱۷
۳-۱-۲- طبقه بندی و مطالعات فیلوژنتیک		۱۷
۴-۱-۲- آنالیز هستی شناسی (انتولوژی)		۱۸
۲-۲- پژوهش اندروژن		۱۸
۱-۲-۲- استخراج داده ها		۱۸
۲-۲-۲- داده های ریزآرایه GSE16030		۱۸
۳-۲-۲- شرح کلی داده های مورد استفاده		۱۹
۴-۲-۲- شناسایی ژن های متفاوت بیان شده		۱۹
۵-۲-۲- نگاشت اسامی کاوشگری به اسامی ژنی		۱۹
۳-۲-۳- هستی شناسی و غنی سازی مجموعه ژنی		۲۰

۲۰	۴-۲- بازسازی شبکه تعاملی پروتئینی.....
۲۰	۵-۲- بازسازی شبکه بیزی.....
۲۱	۶-۲- شناسایی ژن های علی.....
۲۲	۳- نتایج.....
۲۲	۱-۳- ساختار هورمون آزادکننده گنادوتروپین.....
۳۰	۲-۳- فرآیند هستی شناسی.....
۳۰	۳-۳- هورمون های آندروژنی.....
۳۰	۱-۳-۳- شناسایی ژن های متفاوت بیان شده.....
۳۶	۴-۳- مسیرهای متابولیک و غنی سازی ژن های متفاوت بیان شده.....
۳۷	۵-۳- غنی سازی ژن های یونیک و مشترک در مقایسه دو گروه تیماری.....
۳۹	۶-۳- غنی سازی ژن های متفاوت بیان شده برای تمامی ژن ها در هر سه دسته مقایسه تیماری.....
۳۹	۱-۶-۳- غنی سازی در دسته فرآیندهای زیستی.....
۳۹	۲-۶-۳- غنی سازی در دسته فعالیت مولکولی.....
۴۰	۳-۶-۳- غنی سازی در دسته اجزای سلولی.....
۴۰	۷-۳- مطالعات Overrepresentation از پهنای متفاوت بیان شده هر سه دسته تیماری.....
۴۱	۸-۳- بازسازی شبکه بیزی.....
۴۱	۱-۸-۳- پارامترهای شبکه بیزی.....
۴۵	۹-۳- شناسایی عوامل تنظیمی موثر بر ژن های علی موثر بر بلوغ جنسی در ماهی.....
۴۶	۱۰-۳- بازسازی شبکه علی با استفاده از اطلاعات تنظیمی ژنی.....
۴۹	۱۱-۳- شناسایی ژن های علی حاصل از شبکه ژنی + miRNAها + SNP.....
۴۹	۱۲-۳- شناسایی ژن های علی نهایی با تلفیق ژن های ماژولی.....
۵۱	۴- بحث.....
۵۱	۱-۴- هورمون آزادکننده گنادوتروپین.....
۵۱	۱-۱-۴- بررسی فایلوژنی.....
۵۴	۲-۴- آندروژن.....
۵۴	۱-۲-۴- ژن های متفاوت بیان شده.....
۵۴	۲-۲-۴- مسیرهای متابولیکی و غنی سازی ژن های متفاوت بیان شده.....
۵۵	۳-۲-۴- بازسازی شبکه تعاملی پروتئینی.....

۵۶۴-۲-۴- بازسازی شبکه بیزی
۶۰۴-۲-۵- شناسایی ژن‌های هاب
۶۰۴-۲-۶- نقش عملکردی ژن‌های علی
۶۴منابع
۷۰چکیده انگلیسی

چکیده

عوامل کنترل کننده و تنظیم کننده بلوغ جنسی ماهیان در بالادست (مغز و هیپوفیز) و پایین دست (بیضه) با استفاده از هورمون های جنسی می باشند. هدف از پژوهش حاضر، شناسایی مسیرهای مولکولی، طبقه بندی و آنالیز بیوانفورماتیک خانواده ژنی هورمون آزادکننده گنادوتروپین و شناسایی رابط علی-معلولی ژن های کنترل کننده هورمون اندروژن در هنگام شروع بلوغ جنسی در ماهی قزل آلا صورت پذیرفت. به این منظور، با استفاده از داده های جمع آوری شده در پایگاه های داده جستجو برای ژن GnRh قزل آلا انجام شد. تمام توالی نوکلئوتیدی و پروتئینی اعضای خانواده ی ژن GnRh ثبت شد. دمین های حفاظت شده تمامی زیرگروه های خانواده GnRh قزل آلا ی رنگین کمان توسط نرم افزار MEGA نسخه ۱۱ هم ردیف شده و درخت فیلوژنتیک براساس روش اتصال همسایه neighbor-joining رسم شد. آنالیزهای فیلوژنی نشان می دهد توالی های اسیدآمین نشان می دهد سه فرم مختلف GnRH در کلاسترهای کاملاً مجزا و در کنار سایر گونه ها قرار می گیرند. در مغز ماهیان حداقل ۲ فرم از GnRH وجود دارد (GnRH2 به همراه GnRH1 یا GnRH3). ارزیابی هستی شناسی ژن GnRH در پایگاه اطلاعات داده های سامانه های زیستی نشان می دهد، ژن مذکور باعث فعالیت گیرنده ها در سطح سلولی و فعال سازی مسیرهای انتقال سیگنال می شود همچنین، آنالیز هستی شناسی ژن نشان داد GnRH به صورت مستقیم یا غیرمستقیم در بروز صفات مختلفی همچون رفتارهای تولیدمثلی نقش دارند.

داده های ریزآرایه DNA با شماره دسترسی GSE16030 با استفاده از بسته نرم افزاری GeoQuery از پایگاه GEO استخراج گردید. ژن های متفاوت بیان شده با استفاده از روش گروه بندی به سه گروه کنترل، تستسترون و ۱۱ کیتوتستسترون گروه بندی شدند و سپس از نرم افزار GEO2R ژن های متفاوت بیان شده استخراج گردید. برای شناسایی مسیرهای متابولیکی از پایگاه KEGG استفاده گردید. از ابزار برخط WEBGSALT برای شناسایی مجموعه های ژنی غنی شده در سه دسته فرآیندهای زیستی، اجزای سلولی و فعالیت های مولکولی استفاده گردید. نتایج حاصله از این پژوهش نشان داد در مقایسه گروه کنترل و در مواجهه با تستسترون، ۷۶ ژن متفاوت بیان شده و در مقایسه گروه کنترل و مواجهه شده با ۱۱ کیتوتستسترون، ۱۶ ژن متفاوت بیان شده حاصل شد؛ از این بین ۱۶ ژن بین دو دسته مشترک و ۵۳ ژن بیان منحصر به فرد داشتند. غنی سازی مجموعه ژن های منحصر به فرد و مشترک در مسیر فرآیندهای زیستی نشان داد که اکثر این ژن ها در مسیرهای فرآیندهای سلولی، فرآیندهای متابولیکی و تنظیم زیستی فعال هستند. در حالی که غنی سازی کل ژن های متفاوت بیان شده نشان داد سه دسته اصلی فرآیندهای زیستی فعال برای اکثر ژن ها به ترتیب فرآیندهای سلولی، فرآیندهای متابولیکی و پاسخ به محرک فعال بودند. هم چنین غنی سازی مجموعه ژن های متفاوت بیان شده در دسته اجزای سلولی نشان داد اکثر این ژن ها در اجزای مجتمع حاوی پروتئین، غشاء و هسته سلولی وجود دارند. در سطح اول بازسازی شبکه (فقط استفاده از اطلاعات ژن های متفاوت بیان شده) ژن های NBC، S10I، C4، GNPTG، GA45B و LOC101268926 به عنوان ژن علی موثر بر بلوغ جنسی در بافت بیضه شناسایی شدند. در مرحله دوم بازسازی

شبکه با وارد نمودن اطلاعات miRNA و SNP‌های موثر بر ژن‌های علی شناسایی شده از مرحله اول بازسازی شبکه ژن‌های NRK2، CYP17A1، GNPTG، NBC، CXCL14، LOC101268926 به عنوان ژن علی نهایی موثر بر بلوغ جنسی در بافت بیضه ماهیان قزل آلا شناسایی شدند. اطلاعات حاصل از بازسازی شبکه تعاملی پروتئینی نشان داد ژن‌های درون ماژولی *HSD3B*، *CYP11C1*، *CYP17A1*، *DMRT1* و *STAR* بر روی صفت بلوغ جنسی حائز اهمیت می‌باشند. در نهایت با تلفیق اطلاعات ژن‌های علی حاصل از ۲ روش بازسازی شبکه و ژن‌های درون ماژولی حاصل از پرازش شبکه تعاملی پروتئینی، ژن‌های *NBC*، *S10I*، *GNPTG*، *HSD3B1*، *STAR*، *CYP11C1*، *LOC101268926* و *C4* به عنوان ژن بالادستی و موثر بر بلوغ جنسی بر سایر ژن‌ها در بیضه شناخته شدند.

کلمات کلیدی: قزل آرای رنگین کمان، بلوغ جنسی، ریز آرایه DNA، شبکه بیزی