مقاله علمی – پژوهشی:

اثرات تنظیمی سیس و ترانس LncRNA در بیان افتراقی ژن‌ها طی آلودگی ویروس سپتی سمی خونریزی‌دهنده (Viral Hemorrhagic Septicemia) در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhyncus mykiss*)

محمود توکلی الموتی[۱]، قدرت رحیمی میانجی[۱]، اردشیر نجاتی جوارمی[۲]، الهام یونسی[۳]، ایوب فرهادی*[۱]

*Ayoub_farhadi@ymail.com

۱- گروه مهندسی علوم دامی، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

۲- گروه مبارک اندیش، تهران، ایران

۳- موسسه ژنتیک و بیوتکنولوژی کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

تاریخ دریافت: خرداد ۱٤۰۱ تاریخ پذیرش: مرداد ۱٤۰۱

چکیده

در این مطالعه با استفاده از فناوری RNA-seq اثر تنظیمی سیس و ترانس ژن‌های غیر کد شونده بلند (lncRNA) در بیان ژن‌ها در ماهیان آلوده به ویروس سپتی سمی هموراژیک خونریزی‌دهنده (VHS) مورد بررسی قرار گرفت. در پایان دوره آزمایشی (روز سی و پنجم)، RNA کل از بافت طحال (گروه تیمار شده با ویروس) و سرم فیزیولوژی (گروه شاهد) و برای آماده‌سازی کتابخانه برای mRNA-seq، مورد استفاده قرار گرفت. نتایج آنالیز RNA-seq، نشان داد که تعداد ۶۳ ژن lncRNA دارای بیان افتراقی بوده است که با ۹۲ ژن کد شونده به صوت سیس در محدوده ۲۰ هزار باز بالا دست و پایین دست ژن‌های مورد نظر ارتباط داشتند. از میان جفت ژن‌های کد شونده و lncRNA، آنهایی که همبستگی بیانی بیشتر از مثبت ۹۰ درصد و کمتر از منفی ۹۰ درصد داشتند به‌ترتیب به عنوان جفت ژن‌های با بیان هم‌راستا و غیر هم راستا مورد ارزیابی قرار گرفتند. ژن‌های کد شونده Interlukin10، BHLHE41، RBP47، gastrotropin، synaptopodin، OX2 و SMC2 با ۸ و ۱۳ ژن lncRNA به‌ترتیب دارای ارتباط سیس و ترانس بودند. ژن‌های Interlukin10، gastrotropin، synaptopodin، OX2، SMC2 و دو ژن RBP47 و BHLHE41 به‌ترتیب در گروه تیمار ویروسی و گروه شاهد بیان بالاتری نشان دادند. تجزیه و تحلیل هستی‌شناسی ژن‌ها نشان‌دهنده فعالیت ژن‌های سایتوکینی از جمله ژن اینترلوکین ۱۰ بود که در پاسخ‌های التهابی در سیستم ایمنی نقش مهمی دارد.

لغات کلیدی: ماهی قزل آلای رنگین‌کمان، ویروسVHS، RNAseq، lncRNA، سیس و ترانس

*نویسنده مسئول

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-10]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.4.1.9]

مقدمه

ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) نقش بسیار حیاتی در راستای امنیت غذایی و اقتصاد جهانی دارد. این ماهی از ماهیان سرد آبی خانواده Salmonidae و راسته آزاد ماهی شکلان Salmoniformes می‌باشد (FAO, 2020). در ایران، میزان تولید آبزیان (صید و آبزی پروری) از ۴۲۴۵۰۰ تن در سال ۱۳۹۷ به ۱۲۶۸۷۱۹ تن در سال ۱۳۹۹ رسیده است که نشان‌دهنده رشد بالایی می‌باشد (سالنامه آماری شیلات ایران، ۹۹-۱۳۹۳). در صنعت آبزی‌پروری، عوامل بیماری‌زا از تهدیدهای جدی بر کارکرد اقتصادی این صنعت به‌حساب می‌آیند. به‌علاوه، شیوع بیماری میان جمعیت‌های ماهیان وحشی نیز یک نگرانی بسیار مهم به‌شمار به‌خصوص محیط‌های آبی به دلیل فعالیت‌های غیر مسئولانه انسانی و تغییرات آب و هوایی، باعث تأثیر بر سلامتی ماهیان می‌شوند. به منظور کاهش اثر بیماری‌ها بر جمعیت ماهیان، بالا بردن دانش و آگاهی بشر در ارتباط با درک مکانیسم‌های ایمنی دفاعی در ماهیان علیه عوامل بیماری‌زا ضروری است (Huang *et al.*, 2015).

سپتی سمی خونریزی دهنده ویروسی (VHS)، یکی از بیماری‌های بسیار مسری است که عامل آن ویروسی از Rhabdoviridae و جنس *Novirhabdovirus* به نام ویروس VHSV است که ماده وراثتی آن از نوع RNA می‌باشد. این ویروس دارای چهار ژنوتیپ اصلی و سه سروتیپ است (Emmenegger *et al.*, 2013). این بیماری ماهی قزل‌آلا پرورشی را در تمام سنین مبتلا می‌کند و یکی از مهم‌ترین بیماری‌های این ماهیان در سرتاسر دنیاست (He *et al.*, 2014). به دلیل ماهیت عفونی و اثرات زیان بار اقتصادی آن، این بیماری در فهرست بیماری‌های اخطارکردنی سازمان جهانی بهداشت دام قرار گرفته است (OIE, 2016; Hafezieh *et al.*, 2022).

در سلول‌های جانوری، بخش عمده‌ای از فراورده‌های RNA تولیدی، RNA غیر کدکننده پروتئین یا ncRNAهستند که ظاهراً هیچ پروتئینی را کد نمی‌کنند و دارای نقش‌های مهم تنظیمی در سطوح مختلف از جمله رونویسی، ویرایش و بیان ژن دارند (Carninci *et al.*, 2005). در سال‌های اخیر با ظهور فناوری‌های توالی‌یابی نسل جدید، همزمان با توسعه روش‌ها و نرم‌افزارهای بیوانفورماتیک، تجزیه و تحلیل ترانسکریپتوم مبتنی بر توالی‌یابی RNA، (RNA-seq) در تحقیقات بیولوژیک رواج بیشتری یافته است (Sudhagar *et al.*, 2018). این فناوری با استفاده از فناوری‌های نوین توالی‌یابی، باعث شناسایی ترانسکریپت‌ها شده و به این طریق رفتار سلول را مورد ارزیابی قرار می‌دهد. احمدی‌وند و همکاران (۲۰۱۶) میزان مرگ و میر ناشی از VHS در کشور را حدود ۷۰-۳۰ درصد گزارش کردند (Ahmadivand *et al.*, 2016).

مطالعات مختلفی در رابطه با نقش lncRNA در رابطه با بیماری در ماهیان انجام شده است که می‌توان به پژوهش‌های Wang و همکاران (۲۰۱۷) و Marancik و همکاران (۲۰۱۵) اشاره کرد (Marancik *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2017). به طور کلی، نوع اثرگذاری lncRNA بر mRNA به دو شکل CIS (lncRNA بر ژن‌های نزدیک یا همسایه اثر بیشتری دارند (Gil and Ulitsky, 2020) و Trans (lncRNA بدون در نظر گرفتن فاصله از ژن مورد نظر بر ژن هدف اثر می‌گذارند (Ulitsky and Bartel, 2013) صورت می‌گیرد. lncRNA های سیس یک توالی RNA اولیه هستند که اغلب یک ساختار ثانویه متمایز دارند (برای مثال، عناصر غنی از AU (ARE)، جایگاه ورودی داخلی ریبوزوم (IRES) و به این شکل، سرنوشت و فعالیت خود RNA را از طریق تعامل با سایر مولکول‌های RNA، DNA یا پروتئین‌های متصل‌شونده به RNA (RBPs) تنظیم می‌کند). هنگامی که در اینترون‌های پیش سازه RNA پیام‌رسان (pre-mRNA) و مناطق ترجمه نشده mRNA (UTRs) بالغ قرار داشته باشند، بر پردازش mRNA، پایداری mRNA، ترجمه، انتقال و فروپاشی آن اثر می‌گذارند. یکپارچگی ساختاری عناصر سیس و ترانس، قدرت و نتایج فیزیولوژیک برهمکنش‌های آنها را تعیین می‌کند و یک لایه اضافی از کنترل بیان ژن را ارائه

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-10]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.4.1.9]

می‌دهد (Pertea, 2012; Elcheva and Spiegelman, 2020). توانایی lncRNA برای تنظیم سطح بیان ژن‌های مجاور (CIS) ممکن است به رونوشت lncRNA بالغ مرتبط باشد یا آنها به lncRNA ها برای ایفاء نقش تنظیمی متکی نیستند (تاثیر ثانویه آنها). در lncRNAها ترانس، ثابت شده است که پروتئین‌ها یا سایر مولکول‌های RNA برای تنظیم بیان ژن‌های هدف نقش ایفاء می‌کنند (Kopp and Mendell, 2018).

با توجه به رشد فزاینده دانش بشر از اهمیت lncRNA ها در مسیرهای بیولوژیک در موجودات مختلف و با توجه به اهمیت بیماری VHS در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان، هدف از این پژوهش بررسی الگوی اثر سیس و ترانس lncRNAهای حاصل از داده‌های RNA-seq بر بیان افتراقی ژن‌های کد شونده بوده است.

مواد و روش کار

چالش ویروسی و نمونه‌برداری

ماهیان قزل آلای رنگین‌کمان (نژاد تروتلاج آمریکایی) به تعداد ۱۲۰ عدد با میانگین وزن گرم ۸±۳۸/۳ بعد از ۱۸ روز پرورش در تانک‌های استریل شده، گروه‌های تیمار ویروسی با غلظت $۴/۵\times۱۰^{۴}$ pfu/mL به‌ترتیب با دزهای ۰/۰۶ و ۰/۰۳ میلی‌لیتر (از مرکز ملی تشخیص، آزمایشگاه‌های مرجع و مطالعات کاربردی سازمان دامپزشکی کل کشور در اختیار این مطالعه قرار گرفته بود) و دو گروه دیگر هم با دزهای ۰/۰۶ و ۰/۰۳ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی، تزریق داخل صفاقی شدند (Ghaderzadeh *et al.*, 2021). تزریق به ماهیان هنگام بیهوشی آنها صورت گرفته (PI222) و بلا فاصله بعد از تزریق ماهیان به داخل تانک بازیابی منتقل شدند. بافت‌های مفید برای ارزیابی تشخیصی این بیماری عبارتند از طحال، کلیه قدامی، قلب و مغز (MacLachlan and Dubovi, 2017). در پایان دوره آزمایش (پایان هفته پنجم)، RNA کل از بافت طحال استخراج و بعد از انجام کنترل کمی و کیفی در ادامه جهت توالی‌یابی مورد استفاده قرار گرفت (Ghaderzadeh *et al.*, 2021).

استخراج RNA و آماده سازی کتابخانه

جهت استخراج RNA از نمونه‌های بافت طحال (۱۰۰ میلی گرم) استفاده شد. سی نمونه بافت طحال تزریق شده با سرم فیزیولوژی ۶ صدم میلی لیتر (گروه شاهد) و سی نمونه بافت طحال تزریق شده با ویروس ۶ صدم میلی لیتر (گروه بیمار) جهت استخراج RNA کل انتخاب شدند. هر ده نمونه بافتی در قالب یک نمونه بافتی ادغام شدند و با پروتکل کیت تجاری ترایزول استخراج RNA انجام گرفت. کنترل کیفی نمونه‌های RNA استخراج شده در ژل آگارز یک درصد انجام شد. از شرکت چینی نوواژن در مجموع شش نمونه کتابخانه RNA-seq با استفاده از کیت آماده سازی نمونه TruSeq™مطابق دستورالعمل شرکت ایلومینا تهیه شد. در ادامه نمونه‌ها به صورت دو انتهای قطعات (Paired end) با استفاده از پلت فرم illumina hiseq 2500 توالی‌یابی شدند

کنترل کیفی توالی‌ها

پس از دریافت نتایج توالی‌یابی هر نمونه، ابتدا کنترل کیفیت خوانش‌ها با استفاده از نرم افزار FastQC ورژن ۰.۱۱.۵ .انجام شد. این آنالیز کیفیت میلیون‌ها خوانش را مورد بررسی قرار می‌دهد. در این مرحله، خوانش‌ها از نظر بازهای با اطمینان پایین، اریب در ترتیب نوکلئوتیدها، آداپتورها، محتوای GC، مضاعف شدگی‌ها و ... مورد بررسی قرار گرفتند.

همترازی و استخراج lncRNA

سپس هریک از کتابخانه‌های توالی یابی شده با استفاده از نرم افزار HISAT2 ورژن ۲.۲.۰ (Kim *et al.*, 2019) روی ژنوم مرجع ماهی[1] قزل آلای رنگین‌کمان از داده بانک NCBI هم‌تراز شدند. در ادامه جهت ارزیابی کمی و هویت‌یابی خوانش‌های همتراز شده از نرم‌افزار Stringtie ورژن ۲.۱.۴ (Kovaka *et al.*, 2019) استفاده شد. سپس از نرم افزار FEELnc ورژن ۰.۲ (Wucher *et al.*, 2017) با تنظیمات پیش فرض جهت استخراج ژن‌های کد

[1] GCF_013265735.2_USDA_OmykA_1.1_genomic

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-10]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.4.1.9]

شونده و غیر کد شونده استفاده شد. این نرم‌افزار همه مراحل فیلتراسیون lncRNA که شامل ترانسکریپت‌های با طول بیشتر از ۲۰۰ نوکلئوتید و تعداد اگزون بیشتر از یک می‌باشد، مورد ارزیابی قرار داده و ترانسکریپت‌های coding و non-coding و نوع ارتباط بین آنها را مشخص کرده است.

آنالیز بیان ژن و شناسایی موقعیت های CIS و Trans در lncRNA

آنالیز بیان ژن‌ها با بسته آماری Deseq2 در نرم افزار R 4.1.2 صورت گرفت (Love *et al.*, 2014). ژن‌های با FDR[1] کوچکتر از ۰/۰۵ و Log2FC[2] بزرگتر مساوی ۱ یا کوچکتر مساوی ۱- به عنوان ژن‌های با بیان افتراقی (DE) شناخته شدند (Kim *et al.*, 2013; Anders *et al.*, 2015). پس از شناسایی همه ژن‌ها با بیان افتراقی، ژن‌های کد شونده پروتئین و ژن‌های مرتبط با lncRNA ها از یکدیگر تفکیک شدند. براساس فاصله نوکلئوتیدی این دو گروه ژنی روی ژنوم مرجع، رابطه سیس و ترانس بر مبنای فواصل ۱۰ کیلو باز (در محدوده ۲۰ کیلو باز بالا دست و پایین‌دست‌ژن‌ها) در نظر گرفته شد. در ادامه تجزیه و تحلیل همبستگی بین دو گروه ژن‌های کد شونده و غیر کد شونده براساس میزان تغییر بیان به‌دست آمد. حداقل میزان همبستگی مثبت و منفی به‌ترتیب ۹۰ درصد در نظر گرفته شد.

آنالیز ژن آنتولوژی و شبکه ژنی

آنالیز آنتولوژی ژن و شبکه ژنی با نرم افزار String 11.5 صورت گرفت و حداقل مقدار FDR، ۵ درصد در نظر گرفته شد. از مشخصه‌های ژن‌هایی که به صورت سیس و ترانس با lncRNA ها دارای ارتباط بودند، جهت بررسی آنتولوژی ژن و ترسیم شبکه ژنی استفاده شد. از آن‌جایی‌که اطلاعات حاشیه نویسی ژنوم ماهی نسبت به انسان بسیار پایین می‌باشد، با توجه به اورتولوگ بودن فعالیت ژن‌ها در گونه از همان مشخصه‌ها برای ایجاد شبکه ژنی در انسان استفاده شد.

نتایج

در پژوهش حاضر تعداد ۶۳ ژن lncRNA (۴۴ ژن کاهش بیان و ۱۹ ژن افزایش بیان نسبت به تیمار کنترل و ۹۲ ژن کدشونده (۶۰ ژن کاهش بیان و ۳۲ ژن افزایش بیان) نسبت به گروه کنترل،) دارای بیان افتراقی بودند. در جدول ۱ ژن‌های کد شونده دارای ارتباط سیس با lncRNA بیان شده ارائه شده است. در جدول ۲، جفت ژن‌های در موقعیت سیس که بیان آنها هم‌راستا (همبستگی مثبت) یا غیر هم‌راستا بودند (همبستگی منفی)، گزارش شده‌اند. بنابراین، ژن‌های کدشونده Interlukin10، BHLHE41[3]، RBP47[4]، gastrotropin، synaptopodin، OX2 و SMC2 به عنوان ژن‌هایی شناسایی شده‌اند که دارای ارتباط سیس با lncRNA بوده‌اند (جدول ۱). شایان ذکر است، در پژوهش Afzali و همکاران (۲۰۲۱) در رابطه با نقش سیتوکین‌ها و کموکین‌های کبدی که در پاسخ به آلودگی ویروسی VHS در ماهی قزل آلای رنگین‌کمان انجام گرفته بود، بیان ژن‌های اینترلوکین ۱۰ و *TNFα* در تیمار ویروسی در مقایسه با گروه شاهد افزایش معنی‌داری داشت.

در جدول ۲ ژن‌های کد شونده‌ای که به صورت سیس با lncRNA ها دارای همبستگی منفی و مثبت هستند، ارائه شده است. بعضی ژن‌ها با چند lncRNA هم‌کنش داشتند که تکرار شدند. همچنین بیان هر ژن در شکل ۱ به صورت گراف نشان داده شد. در جدول ۲ از چپ به‌ترتیب ستون مربوط به ژن lncRNA، log2fc[5] آن، نام ژن کد شونده و log2fc ژن کد شونده، جهت lncRNA نسبت به ژن کد شونده، نوع lncRNA، فاصله از ژن، زیر

[1] False Discovery Rate

[2] کمیتی که مقدار تفاوت در شکل دو ماده اصلی و فرعی را نشان می‌دهد (Fold Change value)

[3] Basic helix-loop-helix family e41

[4] RNA-binding protein 47

[5] log2fc منفی به معنای کاهش بیان نسبت به تیمار کنترل و log2fc مثبت برعکس آن می‌باشد.

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-10]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.4.1.9]

گروه و محل lncRNA نسبت به ژن ارائه شده است. از آن‌جایی‌که ژن‌های lncRNA در مطالعات قبلی کشف و حاشیه نویسی نشده بودند، نرم افزار Stringtie به آنها کد پیش‌فرض MSTRG می‌دهد که هر کدام نشان‌دهنده مشخصه ژن یک lncRNA هستند.

جدول ۱: ژن‌های کد شونده با رابطه تنظیمی CIS
Table 1: Coding genes with CIS regulatory action

نوع ژن کد شونده	عملکرد ژن
CD200 یا OX2 (LOC118936384)	این ژن گلیکوپروتئین غشایی نوع یک را که شامل دامنه‌های ایمونوگلوبولین خارج سلولی، دامنه‌ی غشایی و دامنه‌ی سیتوپلاسمی است را کد می‌کند. این ژن توسط سلول‌های متفاوتی مانند سلول‌های B، زیر مجموعه‌هایی از سلول‌های T، تایموسیت‌ها، سلول‌های اندوتلیال‌ها و نورون‌ها بیان می‌شوند. مطالعات انسانی نشان دهنده‌ی آن است که پروتئین کد شده‌ی این ژن نقش مهمی در سرکوب سیستم ایمنی و تنظیم فعالیت ضد توموری دارد (Moreaux *et al.*, 2008).
Interlukin10 (Il10)	اینترلوکین ۱۰ (*IL10*) یک سایتوکین پلی‌مورفیک با اثرات متنوع فنوتیپی است. در ابتدا به عنوان یکی از محصولات سلول‌های T Helper2 در نظر گرفته که از فعال شدن سلول‌های T Helper1 جلوگیری می‌کند، اما در حال حاضر به عنوان محصول تقریبا همه‌ی گونه‌های با سلول‌های فعال شامل سلول‌های B، سلول‌های ماست، گرانولوسیت (مانند نوتروفیل‌ها، بازوفیل‌ها، آئوزینوفیل‌ها)، ماکروفاژها، سلول‌های دندریتی، و انواع زیر مجموعه‌های سلول T محسوب می‌شود (O'Garra *et al.*, 2008).
BHLHE41	این ژن یک پروتئین پایه helix-loop-helix را کد می‌کند که در بافت های مختلف بیان می‌شود. پروتئین حاصله می‌تواند با ژن ARNTL (یکی از ژن‌های تنظیم کننده‌ی ریتم خواب) تعامل کند یا برای اتصال به مکان‌های E-box در پروموتر PER1 رقابت کرده و فعال سازی CLOCK/ARNTL را سرکوب کند. (Fujimoto *et al.*, 2007).
RBP47 (LOC118948728)	پروتئین‌های متصل شونده به RNA (*RBPs*) وظایف مهمی در تنظیم بیان ژن دارند. *RBP* ها نقش کلیدی در فرآیندهای پسارونویسی در یوکاریوت‌ها، مانند تنظیم پیرایش، انتقال mRNA و mRNA modulation ترجمه و فروپاشی ایفا می‌کنند (Oliveira *et al.*, 2017).
Gastrotropin (LOC110504792)	پروتئین‌های متصل شونده به اسید چرب (FABPs) متعلق به خانواده بزرگ چند ژنی پروتئین‌های پیوند دهنده به لیپید داخل سلولی (iLBPs) هستند. به اسیدهای صفراوی متصل می‌شود و در متابولیسم اسید صفراوی انتروهپاتیک نقش دارد. (Schroeder *et al.*, 2008).
Synaptopodin (LOC110489230)	Synaptopodin، یک پروتئین ۱۰۰ کیلو دالتونی، مرتبط با اسکلت سلولی اکتین چگالی پسا سیناپسی و خارهای دندریتیک، تصور می‌شود که در تعدیل شکل مبتنی بر اکتین و حرکت خارهای دندریتیک در طول تشکیل یا حذف تماس های سیناپسی نقش دارد (Roth *et al.*, 2001).
SMC2 (LOC110516074)	Structural maintenance of chromosomes2 (SMC2) کمپلکس‌های کندانسین را رمزگذاری می‌کند که برای جداسازی مناسب کروموزوم‌ها و حفظ ثبات کروموزومی مورد نیاز است (Je *et al.*, 2014).

lncRNAهای sense از همان رشته (نسبت به ژن کد شونده) و در همان جهت رونویسی می‌شوند. آنها می‌توانند چند اگزونیک و اینترونیک باشند. lncRNAهای آنتی‌سنس از رشته مخالف ژن‌های کدکننده پروتئین رونویسی می‌شوند که می‌توانند چند گزونیک و اینترونیک باشند (Dhanoa *et al.*, 2018).

در جدول ۳ ارتباط اثر ترانس lncRNA-mRNA بررسی شده است. ژن اینترلوکین ۱۰ و *Gastrotropin* در این پژوهش دارای بیان بالا در گروه تیمار شده با ویروس

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-10]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.4.1.9]

بودند. بیان ژن اینترلوکین ۱۰ با ژن‌های lncRNA *MSTRG.35245* و *MSTRG.35245* هم‌سو نبود، اما با ژن lncRNA *MSTRG.37474* دارای ارتباط بیانی مثبت داشت. با توجه به جدول ۲ برای مثال، lncRNA *MSTRG.59500* در فاصله ۹ باز از ژن *bhlhe41* به صورت اینترژنیک و آنتی سنس (رشته مخالف) قرار دارد و بیانش با ژن *bhlhe41* هم‌سوست (شکل‌های ۱ و ۲).

جدول ۲: جفت ژن‌های lncRNA – mRNA با الگوی تنظیمی سیس و بیان هم راستا (پایین) و غیر هم راستا (بالا)

Table 2: Pairs of lncRNA-mRNA genes with positive cis-regulatory pattern (below) and negative expression action (top)

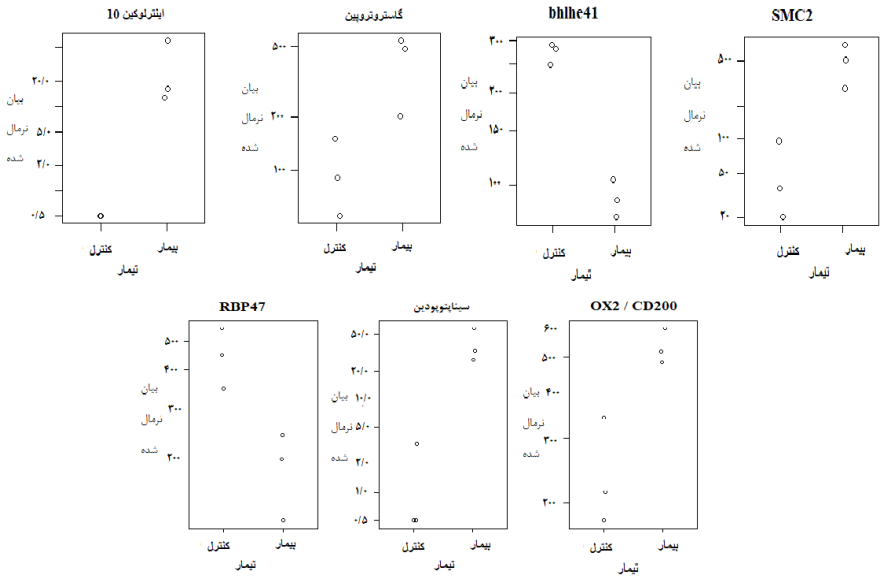
lncRNA	log2fc	نام ژن	Log2fc	جهت	نوع	فاصله	زیر مجموعه	جایگاه	همبستگی
MSTRG.36908	+۲/۰	*SMC2*	-۳/۲	سنس	اینترژنیک	۲۸۴۸	same strand	پایین دست	-۰/۹۶
MSTRG.35246	+۲/۱	*gastrotropin*	-۲/۰	آنتی سنس	اینترژنیک	۱۹۳۲۵	convergent	پایین دست	-۰/۹۴
MSTRG.35245	+۱/۲	*gastrotropin*	-۲/۰	سنس	اینترژنیک	۷۸۲۱	same strand	پایین دست	-۰/۹۸
MSTRG.8586	+۳/۵	*OX2*	-۱/۲	آنتی سنس	اینترژنیک	۱۳۵۸۵	convergent	پایین دست	-۰/۹۱
MSTRG.37155	+۱/۸	*RBP47*	+۱/۳	سنس	اینترژنیک	۹۱	same strand	پایین دست	+۰/۹۶
MSTRG.19779	-۱/۴	*synaptopodin*	-۵/۲	سنس	اینترژنیک	۱۳۷۶	same strand	پایین دست	+۰/۹۹
MSTRG.9784	-۱/۴	*IL10*	-۷/۲	آنتی سنس	اینترژنیک	۳۱	convergent	پایین دست	+۰/۹۷
MSTRG.59500	+۱/۸	*bhlhe41*	+۱/۶	آنتی سنس	اینترژنیک	۹	convergent	پایین دست	+۰/۹۵

جدول ۳: جفت ژن‌های lncRNA – mRNA با الگوی تنظیمی ترانس و بیان هم راستا (سمت چپ) و غیر هم راستا (سمت راست)

Table 3: Pairs of lncRNA-mRNA genes with positive trans-regulatory pattern (left) and negative expression action (right)

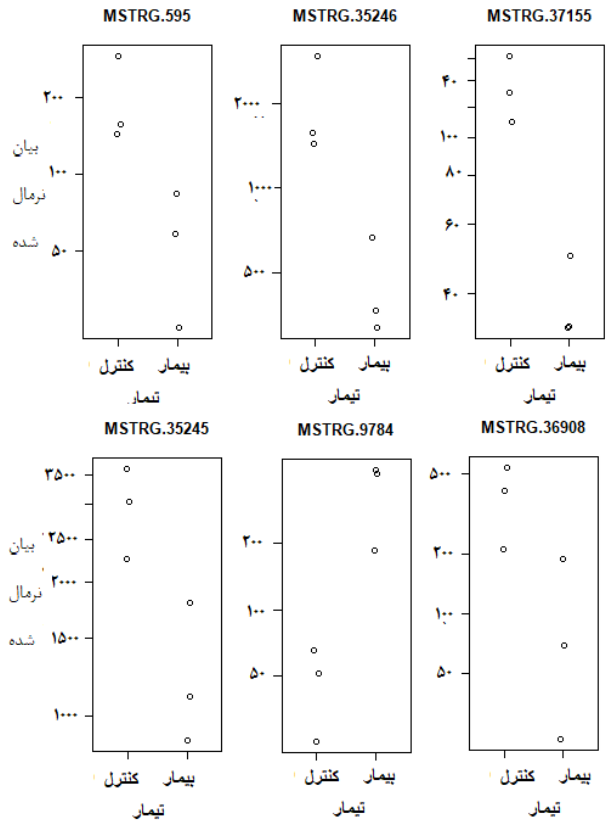
همبستگی	Log2fc	lncRNA	Log2fc	ژن کد شونده	همبستگی	Log2fc	lncRNA	Log2fc	ژن کد شونده
+۰/۹۹	-۵/۴	*MSTRG.37474*	-۷/۲	*il10*	-۰/۹۷	۱/۳	*MSTRG.35245*	-۷/۲	*il10*
+۰/۹۸	-۵/۴	*MSTRG.37474*	-۲/۰	*Gastrotropin*	-۰/۹۹	۲/۱	*MSTRG.35246*	-۷/۲	*il10*
+۰/۹۷	-۶/۰	*MSTRG.23217*	-۲/۰	*Gastrotropin*	-۰/۹۹	-۲/۹	*MSTRG.9784*	۱/۶	*bhlhe41*
+۰/۹۹	۵/۲	*MSTRG.11251*	۱/۳	*RBP47*	-۰/۹۸	-۱/۶	*MSTRG.17050*	۱/۶	*bhlhe41*
+۰/۹۹	۷/۸	*MSTRG.22382*	۱/۳	*RBP47*	-۰/۹۷	۲/۱	*MSTRG.35246*	-۲/۰	*Gastrotropin*
+۰/۹۶	۶/۱	*MSTRG.33550*	۱/۳	*RBP47*	-۰/۹۹	۱/۳	*MSTRG.35245*	-۲/۰	*Gastrotropin*
+۰/۹۵	-۶/۰	*MSTRG.23217*	-۲/۰	*Gastrotropin*	-۰/۹۳	-۲/۹	*MSTRG.9784*	۱/۳	*RBP47*
+۰/۹۸	-۶/۰	*MSTRG.23217*	-۵/۲	*Synaptopodin*	-۰/۹۲	-۱/۲	*MSTRG.25175*	۱/۳	*RBP47*
+۰/۹۷	-۵/۴	*MSTRG.37474*	-۵/۲	*Synaptopodin*	-۰/۹۷	-۶/۳	*MSTRG.31383*	۱/۳	*RBP47*

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.4.1.9]



شکل ۱: بیان ژن‌های کد شونده در دو تیمار سالم (control) و بیمار (patient)

Figure 2: Expression of coding genes in both control and patient groups



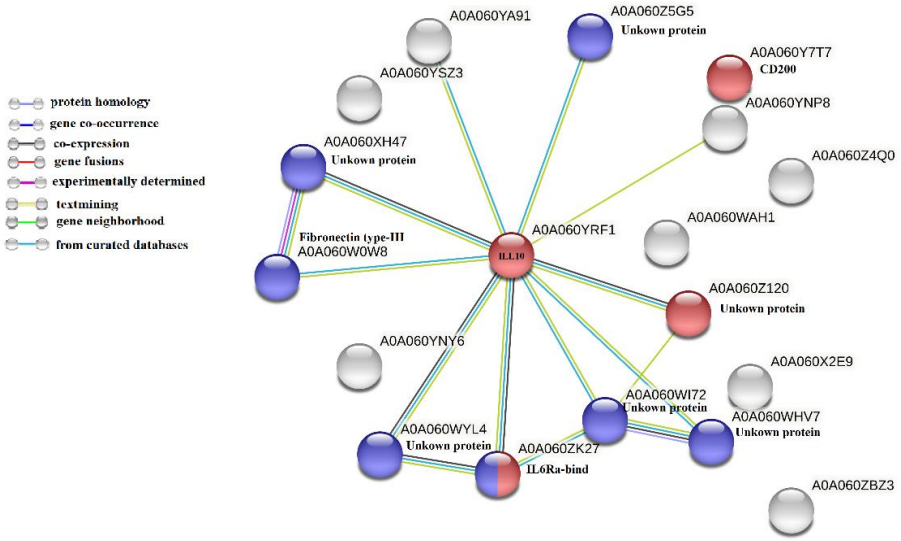
شکل ۲: بیان تعدادی از ژن‌های lncRNA در دو تیمارسالم (control) و بیمار(patient)

Figure 2: Expression of lncRNA genes in both control and patient groups.

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-10]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.4.1.9]

آنالیز GO نشان‌دهنده ارتباط مشترک بین همه ژن‌ها نبود، اما با افزایش تعداد ژن‌های درگیر (به منظور بررسی ارتباط احتمالی بین ژن‌ها) نقش ژن اینترلوکین ۱۰ به‌وضوح نشان داده شد (شکل ۳). این ژن در فرایند Cytokine-cytokine receptor interaction نقش داشت. ژن‌های آبی رنگ ($FDR=۲/۶\times۱۰^{-۱۴}$) و ژن‌های قرمز ($FDR= ۷/۲\times۱۰^{-۴}$) در تنظیم بیان اینترلوکین ۶ و تنظیم بیان سایتوکین‌ها نقش دارند.



شکل ۳: شبکه‌ی محصول ژن‌های کد شونده با استفاده از نرم افزار String11.5

Figure 3: Gene networking by coding genes proteins by String11.5 software

بحث

اینترلوکین ۶ (از جمله ژن‌های با بیان بالا نسبت به تیمار شاهد) و *FNDC4* (یک فاکتور ضد التهابی) (Bosma *et al.*, 2016)، در این شبکه با اینترلوکین ۱۰ و سایر ژن‌هایی که احتمالاً مرتبط با سیستم ایمنی هستند، ارتباط زیادی دارند. یکی از دلایل پائین بودن تعداد ژن‌های شناسایی شده در آنالیز شبکه ژنی، فقدان اطلاعات کامل حاشیه‌نویسی در ارتباط با ژن‌های مورد بررسی در این گونه است (شکل ۳).

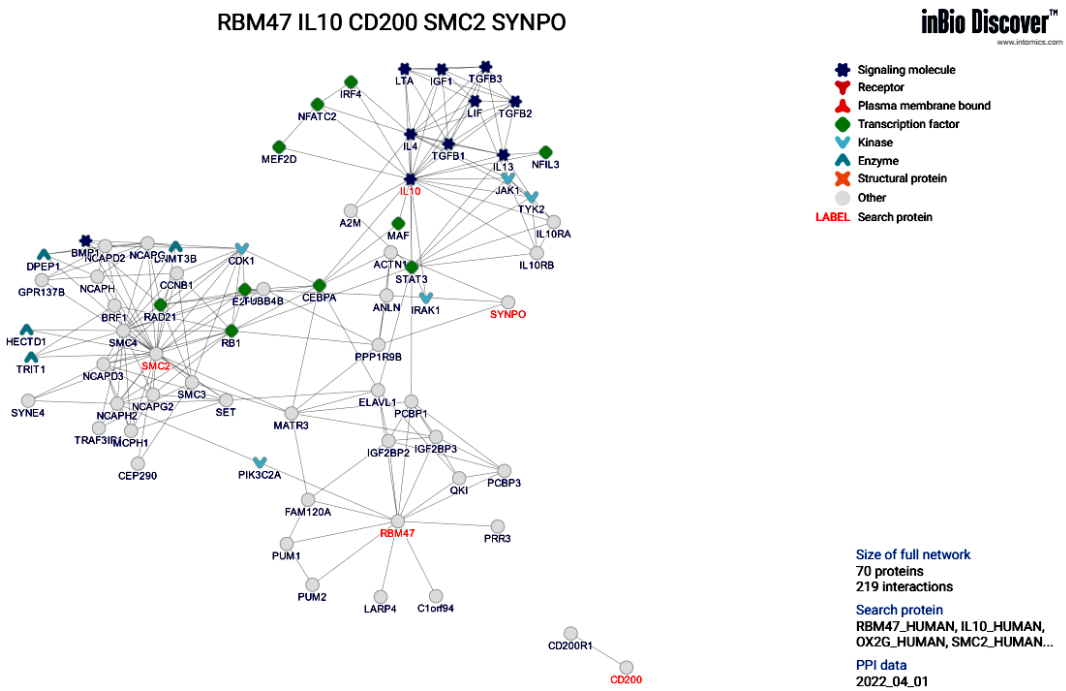
از دیگر ژن‌هایی که در پژوهش حاضر دارای بیان بالا در گروه تیمار با ویروس بودند، می‌توان به ژن‌های *OX2* یا *CD200*، سیناپتوپودین و گاستروتروپین اشاره نمود. ژن *CD200* یک گلیکوپروتئین غشای سلولی نوع ۱ از خانواده سوپرژن ایمونوگلوبولینی و مرتبط به پاسخ‌های ایمنی است. *CD200* یک گلیکوپروتئین غشایی از خانواده ایمونوگلوبولین‌ها، در سلول‌های B، زیر مجموعه‌ای از سلول‌های T و در طیفی از اختلالات لنفوپرولیفراتیو (تولید بیش از اندازه لنفوسیت‌ها) سلول B بیان می‌شود. در مطالعات انسانی از *CD200* به عنوان یک بیومارکر جهت تشخیص انوع سرطان‌ها استفاده می‌شود (Dorfman and Shahsafaei, 2011).

ژن *SMC2* در حفظ ساختار کروموزومی دخیل است و تصور می‌شود که عدم کارکرد مناسب این ژن ناهنجاری‌های کروموزومی را به‌دنبال خواهد داشت. اگرچه در ارتباط با اثر این ژن با آلودگی‌های پاتولوژیک گزارش‌های چندانی وجود ندارد، اما از نقش آن در بیماری سرطان دستگاه گوارشی در انسان گزارش شده است (Je *et al.*, 2014). *Rbm47* باعث افزایش تولید *IL-10* در سلول‌های B می‌شود. محققان دریافته‌اند که *Rbm47*، پایداری mRNA *IL-10* را افزایش می‌دهد. در رابطه با

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.4.1.9]

ژن *bhlhe41* و ارتباط آن با سیستم ایمنی نشان داده شد که سلول‌های B-1a اولین خط دفاعی ذاتی در برابر پاتوژن‌ها هستند. در این تحقیق گزارش شده است که فاکتور رونویسی *Bhlhe41* در تمایز سلولی B-1a نقش دارد (Kreslavsky *et al.*, 2017). تا کنون ارتباطی میان ژن‌های سیناتوپودین و گاستروپودین با سیستم ایمنی گزارش نشده است.

در مطالعه حاضر، بیان بالای ژن اینترلوکین ۱۰ در تیمار ویروسی، نشان‌دهنده درگیری سیستم ایمنی ماهی با ویروس بوده است. اینترلوکین ۱۰ (*IL-10*) یک سایتوکین با خواص ضد التهابی قوی است که نقشی محوری در محدود کردن پاسخ ایمنی میزبان به پاتوژن‌ها ایفاء می‌کند و در نتیجه از آسیب به میزبان جلوگیری و به حفظ هموستاز بافت طبیعی بدن کمک می‌کند (Iyer and Cheng, 2012). با توجه با این‌که ژن‌های *bhlhe41*، *Rbm47*، *SMC2* و اینترلوکین ۱۰ در مطالعات قبلی در انسان با سیستم ایمنی دارای ارتباط بوده‌اند، اما وجود این ارتباط در ماهی تا به‌حال گزارش نشده است. لذا، برای بررسی وجود ارتباطات احتمالی به دلیل در دسترس بودن منابع حاشیه‌نویسی شده برای این ژن‌ها از آن‌جایی‌که این ژن‌ها اورتولوگ (کنش یکسان به دلیل جد مشترک گونه‌ها) هستند، از گزارش‌های مربوط به مطالعات انسانی به عنوان مرجع استفاده شد (شکل ۴).



شکل ۴: شبکه ژنی بین ژن‌های *RBM47*، اینتروکین ۱۰، سیناپتوپودین و ژن *BHLHE41*

Figure 4: Gene networking between *BHLHE41, ILL10, Synaptopodin* and *RBM47*

نتایج این بررسی نشان داد که ژن اینترلوکین ۱۰ با سیگنالینگ مولکول‌هایی نظیر *IGF1*، *TGFB1*، *TGFB2*، *IL4*، *IL13* مرتبط است که این امر حکایت از نقش تنظیمی سایتوکینی این جایگاه ژنی دارد. این ژن با فاکتورهای تنظیمی *CEBPA* و *RB1* که یک سرکوب کننده تومور به‌حساب می‌آید (Dyson, 2016)، به ژن *SMC2* مرتبط است. در این مطالعه ژن‌های سیناپتوپودین و گاستروتروپین نیز در ماهیان گروه تیمار شده با ویروس نسبت به گروه شاهد بیان بالاتری داشتند. اگر چه ژن سیناپتوپودین در این شبکه مشخص است، اما برای ژن

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-10]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.4.1.9]

CD200 در این شبکه ارتباطی نشان داده نشده است. در ارتباط با بیان بالاتر ژن‌های *bhlhe41* و *Rbm47* در گروه شاهد نسبت به گروه تیمار شده با ویروس می‌توان به یکی از مهم‌ترین نقش‌های این ژن (تمایز سلولی)، اشاره کرد که می‌تواند به دلیل سرکوب شدن این ژن به‌وسیله lncRNA ها در تیمار آلوده با ویروس باشد. از آن‌جایی‌که تنظیم ژن *Rbm47* به‌شدت به میکرو- محیط اطراف وابسته است، به‌شدت در شرایط استرس یا بیماری، میل ترکیبی آن تحت تاثیر قرار می‌گیرد. به عبارتی، سرکوب این ژن یکی از علائم بیماری‌زایی به‌شمار می‌آید (Kelaini *et al.*, 2021). همچنین ژن *SMC2* بیان بالاتری را در ماهیان آلوده نشان داد تا احتمالاً بتواند ساختار DNA سلولی را در برابر تنش بیش از پیش حفظ کند.

در تحقیق پانرو و همکاران (۲۰۱۶) lncRNA های با بیان افتراقی در پاسخ به *F.psychrophilum* در بین سه لاین (مقاوم، کنترل و حساس) ماهی شناسایی شدند. مقایسه RNAهای غیر کد شونده در گروه تیمار باکتریایی در بین لاین‌های مختلف، تعداد ۵۵۶ lncRNA با بیان افتراقی را آشکار ساخت. در بین برخی از lncRNAها و ژن‌های کد شونده پروتئینی از جمله سیتوکین‌ها، کموکین‌ها و سایر ترکیبات مولکولی درگیر در سیستم ایمنی، همبستگی مثبت و منفی وجود داشت (Paneru *et al.*, 2016).

در تحقیق Wang و همکاران (۲۰۱۶) نشان داده شد که lncRNAهای اینترژنیک در ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان دارای ویژگی‌های متفاوتی در مقایسه با سایر گونه‌های پستانداران هستند. برای مثال، در مقایسه با ژن‌های کد شونده پروتئین، این توالی‌ها، کوتاه‌تر، از نظر تعداد اگزون کمتر و سطح بیان پائین‌تری دارند. همان‌طوری‌که ذکر شد، lncRNAها در ماهیان نسبت به پستانداران الگوی بیان منحصربه‌فرد بافتی دارند و معمولاً با ژن‌های کناری خود، هم‌بیانی نشان می‌دهند. تجزیه و تحلیل هم‌بیانی ژن‌ها با استفاده از مدل شبکه، وجود تعداد زیاد lncRNAهای مرتبط با پاسخ ایمنی، افتراق عضلانی و توسعه عصبی را نشان داد (Wang *et al.*, 2016).

با انجام مطالعات بیشتر به منظور بررسی وجود چند شکلی در ژن‌های بیان شده در این پژوهش مانند اینترلوکین ۱۰ به عنوان یک مولکول سیگنال دهنده، اینترلوکین ۶ گیرنده آلفا (شبکه ژنی شکل ۳)، *FNDC4* یا lncRNA در موقعیت‌های سیس یا ترانس به عنوان جایگاه‌های تنظیم کننده بیان ژن‌ها در همان بافت به‌خصوص آنهایی که بر چند ژن اثر داشته‌اند، در مزارع آلوده به ویروس VHS (شرایط واقعی) یا عفونت‌های مشابه همانند بیمارهای ویروسی IPN و IHN می‌توان به شناسایی eQTLها دست یافت. در نتیجه، با ردیابی این دست از eQTLها می‌توان با توجه به نوع ژن در راستای انتخاب جمعیت‌های مقاوم‌تر یا در تشخیص بیماری‌ها در صنعت آبزیان بهره برد.

تشکر و قدردانی

از مسئولین هلدینگ مبارک اندیش که منابع مالی این پروژه را از ابتدا تا انتها تامین نموده‌اند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

سالنامه آماری شیلات ایران، ۹۹-۱۳۹۴. سازمان شیلات ایران. دفتر برنامه و بودجه، گروه برنامه‌ریزی و آمار، ایران، تهران

Afzali, M., Rahimi Mianji, G. and Gholizadeh, M., 2021. TNF-α and interleukin 10 genes expression in rainbow trout in response to viral hemorrhagic septicemia virus (VHSV) infection. *Veterinary Researches Biological Products*, 4(34), 194-201. DOI: 10.22092/vj.2020.343080.1725

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.4.1.9]

Ahmadivand, S., Soltani, M. Mardani, K. Shokrpoor, S., Rahmati-Holasoo, H., Mokhtari, A. and Hasanzadeh, R., 2016. Isolation and identification of viral hemorrhagic septicemia virus (VHSV) from farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Iran. *Acta Tropica*, 156, 30-36. DOI: https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2016.01.005

Anders, S., Pyl, P.T. and Huber, W., 2015. HTSeq—a Python framework to work with high-throughput sequencing data. *Bioinformatics*, 31(2), 166-169. DOI: https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu638

Bosma, M., Gerling, M., Pasto, J., Georgiadi, A., Graham, E., Shilkova, O., Iwata, Y., Almer, S., Söderman, J. and Toftgård, R., 2016. FNDC4 acts as an anti-inflammatory factor on macrophages and improves colitis in mice. *Nature Communications*, 7(1), 1-13. DOI: https://doi.org/10.1038%2Fncomms11314

Carninci, P., Kasukawa, T., Katayama, S., Gough, J., Frith, M., Maeda, N., Oyama, R., Ravasi, T., Lenhard, B. and Wells, C.J.S., 2005. The transcriptional landscape of the mammalian genome. *Science*, 309(5740), 1559-1563. DOI: https://doi.org/10.1126/science.1112014

Dhanoa, J.K., Sethi, R.S., Verma, R., Arora, J.S. and Mukhopadhyay, C.S., 2018. Long non-coding RNA: its evolutionary relics and biological implications in mammals: a review. *Journal of Animal Science*, 60(1), 1-10. DOI: https://doi.org/10.1186/s40781-018-0183-7

Dorfman, D.M. and Shahsafaei, A., 2011. CD200 (OX-2 membrane glycoprotein) is expressed by follicular T helper cells and in angioimmunoblastic T-cell lymphoma. *The American Journal of Surgical Pathology*, 35(1), 76-83. DOI: https://doi.org/10.1097/pas.0b013e31820065c9

Dyson, N.J., 2016. RB1: a prototype tumor suppressor and an enigma. *Genes Development*, 30(13): 1492-1502. DOI: https://doi.org/10.1101/gad.282145.116

Elcheva, I.A. and Spiegelman, VS., 2020. The role of cis-and trans-acting rna regulatory elements in leukemia. *Cancers*, 12(12), 3854. DOI: https://doi.org/10.3390/cancers12123854

Emmenegger, E.J., Moon, C.H., Hershberger, P.K. and Kurath, G., 2013. Virulence of viral hemorrhagic septicemia virus (VHSV) genotypes Ia, IVa, IVb, and IVc in five fish species. *Diseases of Aquatic Organisms*, 107(2), 99-111. DOI: https://doi.org/10.3354/dao02671

FAO, 2020. Sustainability in action**.** Rome. DOI: https://doi.org/10.4060/ca9229en

Fujimoto, K., Hamaguchi, H., Hashiba, T., Nakamura, T., Kawamoto, T., Sato, F., Noshiro, M., Bhawal, U.K., Suardita, K. and Kato, Y., 2007. Transcriptional repression by the basic helix-loop-helix protein Dec2: multiple mechanisms through E-box elements. *International Journal of*

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-10]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.4.1.9]

Molecular Medicine, 19(6), 925-932. DOI: https://doi.org/10.3892/ijmm.19.6.925

Ghaderzadeh, M., Rahimi Mianji, G., Nejati Javaremi, A. and Shahbazian, N., 2021. Effect of Viral Hemorrhagic Septicemia (VHS) disease on the biometric parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Veterinary Researches Biological Products*, 34(1), 111-123. DOI:https://dx.doi.org/10.22092/vj.2020.128441.1652

Gil, N., and Ulitsky, I., 2020. Regulation of gene expression by cis-acting long non-coding RNAs. *Nature Reviews Genetics*, 21(2), 102-117. DOI: https://doi.org/10.1038/s41576-019-0184-5

Hafezieh, M., Ghasemi, M., Kakoolaki. S. and Kazempour, R., 2022. Evaluation of polyclonal IgG antibody in Response to injection of viral Hemorrhagic Septicemia killed virus (VHSv) of trout fish (*Oncorhyncus mykiss*) in rabbit (*Oractulagus cuniculus*) in order to produce rapid diagnostic kit. *Isfj*, 31(1), 69-80. DOI:10.22092/ISFJ.2022.127048

He, M., Yan, X.C., Liang, Y., Sun, X.W. and Teng, C.B., 2014. Evolution of the viral hemorrhagic septicemia virus: divergence, selection and origin. *Molecular Phylogenetics Evolution.* 77, 34-40. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ympev.2014.04.002

Huang, L., Li, G., Mo, Z., Xiao, P., Li, J. and Huang, J., 2015. De novo assembly of the Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) spleen transcriptome to identify putative genes involved in immunity. *PLoS One*, 10(2), e0117642. DOI:https://doi.org/10.1371/journal.pone.0117642

Iyer, S.S. and Cheng, G., 2012. Role of interleukin 10 transcriptional regulation in inflammation and autoimmune disease. *Critical Reviews in Immunology*, 32(1): 23-63 DOI:https://doi.org/10.1615/critrevimmunol.v32.i1.30

Je, EM., Yoo, N.J. and Lee, S., 2014. Mutational and expressional analysis of SMC 2 gene in gastric and colorectal cancers with microsatellite instability. *Apmis*, 122(6), 499-504. DOI:https://doi.org/10.1111/apm.12193

Kelaini, S., Chan, C., Cornelius, V.A. and Margariti., A., 2021. RNA-binding proteins hold key roles in function, dysfunction, and disease. *Biology*, 10(5), DOI:https://doi.org/10.3390/biology10050366

Kim, D., Pertea, G., Trapnell, C., Pimentel, H., Kelley, R. and Salzberg, S.L., 2013. TopHat2: accurate alignment of transcriptomes in the presence of insertions, deletions and gene fusions. *Genome Biology*, 14(4), 1-13. DOI:https://doi.org/10.1186/gb-2013-14-4-r36

Kim, D., Paggi, J.M., Park, C., Bennett, C. and Salzberg, S.L., 2019. Graph-based genome alignment and genotyping with HISAT2 and HISAT-genotype. *Nature*

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-10]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.4.1.9]

Biotechnology, 37(8), 907-915. DOI: https://doi.org/10.1038/s41587-019-0201-4

Kopp, F., and Mendell, J., 2018. Functional classification and experimental dissection of long noncoding RNAs. *Cell*, 172(3), 393-407. DOI:https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.01.011

Kovaka, S., Zimin, A.V., Pertea, G.M., Razaghi, R., Salzberg, S.L. and Pertea, M., 2019. Transcriptome assembly from long-read RNA-seq alignments with StringTie2. *Genome Biology*, 20(1), 1-13. DOI: https://doi.org/10.1186/s13059-019-1910-1

Kreslavsky, T., Vilagos, B., Hiromi, T., Poliakova, D.K., Schwickert, T.A., Wöhner, M., Jaritz, M., Weiss, S., Taneja, R. and Rossner, M.J., 2017. Essential role for the transcription factor Bhlhe41 in regulating the development, self-renewal and BCR repertoire of B-1a cells. *Nature Immunology*, 18(4), 442-455. DOI: 10.1038/ni.3694.

Love, M.I., Huber, W. and Anders, S., 2014. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biology*, 15: 550. DOI: http://dx.doi.org/10.1186/s13059-014-0550-8

MacLachlan, N. and Dubovi, E., 2017. Fowlpox. *Fenner's Veterinary Virology Elsevier Academic Press, Amsterdam*: 157-174. DOI: https://doi.org/10.1016/C2013-0-06921-6

Marancik, D., Gao, G. Paneru, B. Ma, H. Hernandez, A.G. Salem, M. Yao, J. Palti, Y. and Wiens, G.D., 2015. Whole-body transcriptome of selectively bred, resistant-, control-, and susceptible-line rainbow trout following experimental challenge with Flavobacterium psychrophilum. *Frontiers in Genetics*, 5, 453. DOI:https://doi.org/10.3389%2Ffgene.2014.00453

Moreaux, J., Veyrune, J.L., Reme, T., DeVos, J. and Klein, B., 2008. CD200: a putative therapeutic target in cancer. *Biochemical Biophysical Research Communications*, 366(1), 117-122. DOI: https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2007.11.103

O'Garra, A., Barrat, F.J., Castro, A.G., VicarI, A. and Hawrylowicz, C., 2008. Strategies for use of IL-10 or its antagonists in human disease. *Immunological Reviews*, 223(1), 114-131. DOI: https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.2008.00635.x

OIE, 2016. Manual of diagnostic tests for aquatic animals, Chapter 2.3.10.Viral haemorrhagic septicaemia.

Oliveira, C., Faoro, H., Alves, L.R. and Goldenberg, S., 2017. RNA-binding proteins and their role in the regulation of gene expression in Trypanosoma cruzi and Saccharomyces cerevisiae. *Genetics Molecular Biology* 40, 22-30. DOI: https://doi.org/10.1590/1678-4685-gmb-2016-0258

Panru, B., Al-Tobasei, R., Palti, Y., Wiens, G.D. and Salem, M., 2016. Differential

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-10]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.4.1.9]

expression of long non-coding. RNAs in three genetic lines of rainbow trout in response to infection with Flavobacterium psychrophilum. *Sci Rep*, 6, 36032. DOI:https://doi.org/10.1038/srep36032

Pertea, M., 2012. The human transcriptome: an unfinished story. *Genes*, 3(3), 344-360. DOI: https://doi.org/10.3390/genes3030344

Roth, S.U., Sommer, C., Mundel, P. and Kiessling, M., 2001. Expression of synaptopodin, an actin-associated protein, in the rat hippocampus after limbic epilepsy. *Brain Pathology*, 11(2), 169-181. DOI:https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.2001.tb00389.x

Schroeder, F., Petrescu, A.D., Huang, H., Atshaves, B.P., McIntosh, A.L., Martin, G.G., Hostetler, H.A., Vespa, A., Landrock, D. and Landrock, K.K., 2008. Role of fatty acid binding proteins and long chain fatty acids in modulating nuclear receptors and gene transcription. *Lipids*, 43(1), 1-17. DOI: https://doi.org/10.1007/s11745-007-3111-z

Sudhagar, A., Kumar, G. and El-Matbouli, M., 2018. Transcriptome analysis based on RNA-Seq in understanding pathogenic mechanisms of diseases and the immune system of fish: A comprehensive review. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(1), 245. Doi: https://doi.org/10.3390/ijms19010245

Ulitsky, I. and Bartel, D.P., 2013. LincRNAs: genomics, evolution, and mechanisms. *Cell*, 154(1), 26-46. Doi: https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.06.020

Wang, J., Koganti, P.P., Yao, J., Wei, S. and Cleveland, B., 2017. Comprehensive analysis of lncRNAs and mRNAs in skeletal muscle of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to estradiol. *Scientific Reports*, 7(1), 1-14. DOI: 10.1038/s41598-017-12136-6

Wang J., Fu. L, Koganti, P.P. Wang, L. Hand, J.M. Ma, H. and Yao, J., 2016. Identification and Functional Prediction of Large Intergenic Noncoding RNAs (lincRNAs) in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Mar Biotechnol (NY)*. 18(2):2 71-82. DOI: 10.1007/s10126-016-9689-5.

Wucher, V., Legeai, F., Hedan, B., Rizk, G., Lagoutte, L., Leeb, T., Jagannathan, V., Cadieu, E., David, A. and Lohi, H., 2017. FEELnc: a tool for long non-coding RNA annotation and its application to the dog transcriptome. *Nucleic Acids Research*, 45(8), e57-e57. DOI:https://doi.org/10.1093/nar/gkw1306.

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.4.1.9]

Regulatory effects of cis- and trans-LncRNAs on differential expression of genes following infection with viral hemorrhagic septicemia virus in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Tavakoli alamouti M.[1]; Rahimi Mianji Gh.[1]; Nejati Javaremi A.[2]; Younesi E.[3]; Farhadi A.[1*]

[*]Ayoub_farhadi@ymail.com

1- Department of Animal Science Engineering, Faculty of Animal Science and Fisheries, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Mazandaran

2- Mobarak Andish group, Tehran

3- Genetics and Agricultural Biotechnology Institute of Tabarestan, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Mazandaran

Abstract

In this study the cis and trans regulatory effect of long non-coding genes (lncRNA) on the expression of genes in fish infected by Viral hemorrhagic septicemia virus (VHS) was investigated using RNA-seq technology. At the end of experimental period (the thirty fifth day), total RNA was extracted from spleen tissue (group treated with virus) and physiological serum (control group) was used to prepare the library for RNA-seq. After library preparation, sequencing was carried out by Illumina High Seq 2500 platform. The results of RNA-seq analysis showed that 63 lncRNA genes had differential expression that were associated with 92 cis coding genes in the range of 20k up and downstream sites of the target genes. Among the pairs of coding and non-coding genes, those with both more than 90% and less than 90% expression correlations were considered as positive and negative co-expression genes, respectively. The coding genes such as Interlukin10, BHLHE41, RBP47, gastrotropin, synaptopodin, OX2, and SMC2 were associated with cis and trans with 8 and 13 lncRNA genes, respectively. Interlukin10, gastrotropin, synaptopodin, OX2, and SMC2 genes had higher expression in the virus-treated group. The two genes RBP47 and BHLHE41 were more expressed in the control group. Gene ontology analysis showed the activity of cytokine genes, including interleukin 10 gene, which plays an important role in inflammatory responses in the immune system.

Keywords: Rainbow trout fish, VHS virus, RNA-seq, lncRNA, Cis and trans

[*]Corresponding author

[Downloaded from isfj.ir on 2026-11-10]

[DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.4.1.9]