Journal of Ilam University of Medical Sciences

P-ISSN: 1563-4728
E-ISSN: 2588-3135

Bioinformatic Prediction of Non-Coding Genes related to the Mouse FGF8, NOG, and BMP4 Ectodermal Differentiation Pathway Genes and Mapping of Related Network

Somayeh Moghaddam[1], **Esmaeil Babaei**[1*]

[1] Dept of Animal Biology, School of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran

Article Info

Article type:
Research article

Article History:
Received: 08 March 2021
Revised: 05 May 2021
Accepted: 11 October 2021

**** Correspondence to:***
Esmaeil Babaei
Dept of Animal Biology, School of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran
Email: babaei@tabrizu.ac.ir

A B S T R A C T

Introduction: Long non-coding RNAs (lncRNAs) and miRNAs belong to a class of non-coding RNAs (ncRNAs) that play important roles and functions in the regulation of the expression of genes in main biological processes, such as cell proliferation, apoptosis, and differentiation. LncRNAs can potentially affect miRNAs in the forms of cis/trans to modulate their regulatory role. In this study, mRNA, miRNA, and lncRNA gene networks were predicted by web-based programs for three ectodermal pathway markers (BMP4, NOG, FGF8) in the mouse embryonic stem cells.

Material & Methods: In this theoretical bioinformatics study, the miRNAs of the target genes (BMP4, NOG, and FGF8) were extracted and examined by MirWalk and TARGETSCAN databases to finally obtain the common miRNAs of these three genes. Following that, the target lncRNAs for common miRNAs were then extracted from the DIANA-Tool database.
(Ethic code: 100/21560/2/پ)

Findings: MiRs mmu-miR-92a-2-5p, mmu-miR-129b-5p, mmu-miR-130b-5p, mmu-miR-692, mmu-miR-7009-3P, mmu-miR-7116-3p, and mmu-miR-7689-3p may affect the function of lncRNAs, including Kcnq1ot1, Gm26812, Gm4117, Gm11837, 4930423MO2Rik, Malat1, Gm12594, Gm3414, 5830444B04Rik, Gm2464, and NEAT1.

Discussion & Conclusion: Due to the mutual relationships among lncRNA, miRNA, and mRNA, our results provided a novel perspective on lncRNAs for future research and experimental studies on ectodermal differentiation pathways and molecular mechanisms.

Keywords: Bioinformatics, Biological system, BM4, Ectoderm, FGF8, Non-coding RNAs

➢ **How to cite this paper**

Moghaddam S, Babaei E. Bioinformatic Prediction of Non-Coding Genes related to the Mouse FGF8, NOG, and BMP4 Ectodermal Differentiation Pathway Genes and Mapping of Related Network. Journal of Ilam University of Medical Sciences. 2022;30(1): 29-41.

© The Author(s)

Publisher: Ilam University of Medical Sciences

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]

[DOR: 20.1001.1.15634728.1401.30.1.2.1]
[DOI: 10.52547/sjimu.30.1.29]

مجله دانشگاه علوم پزشکی ایلام

JIUMS

P-ISSN: ۱۵۶۳-۴۷۲۸

E-ISSN: ۲۵۸۸-۳۱۳۵

پیشگویی بیوانفورماتیکی ژن‌های غیرکدکنندهٔ مرتبط با ژن‌های مسیر تمایز اکتودرمی FGF8، NOG و BMP4 موشی و ترسیم شبکهٔ ارتباطی آن‌ها

سمیه مقدم [۱]، اسماعیل بابایی [*۱]

[۱] گروه علوم جانوری، دانشکدهٔ علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۲/۱۸

تاریخ داوری: ۱۴۰۰/۱۲/۱۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۷/۱۹

نویسنده مسئول:

اسماعیل بابایی

گروه علوم جانوری، دانشکدهٔ علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

Email: babaei@tabrizu.ac.ir

چکیده

مقدمه: lncRNAها و miRNAها دسته‌ای از RNAهای غیرکدکننده هستند که نقش و عملکردهای مهمی در تنظیم بیان ژن‌ها و فرایندهای اصلی بیولوژیکی ازجمله تکثیر سلولی، آپوپتوز و تمایز دارند. lncRNAها می‌توانند به‌طور بالقوه روی miRNAها، در جهت همسو و یا معکوس بر فعالیتشان تأثیر بگذارند تا از این طریق، نقش تنظیم‌کنندگی آن‌ها را تعدیل کنند. در این مطالعه، شبکه‌های ژنی mRNA-miRNA-lncRNA با استفاده از برنامه‌های آنلاین برای سه مارکر مسیر اکتودرمی (BMP4,NOG,FGF8) در سلول‌های بنیادی جنینی موشی ترسیم شد.

مواد و روش ها: این مطالعه از نوع تئوریکال بیوانفورماتیکی است و micRNAهای هدف ژن‌های BMP4، NOG و FGF8 توسط پایگاه‌های داده‌ای MirWalk و TARGETSCAN استخراج و بررسی گردید تا درنهایت، بتوان miRNAهای مشترک این ۳ ژن را تهیه کرد؛ سپس از پایگاه داده‌ای DIANA-Tools، lncRNAهای هدف برای miRNAهای مشترک به‌دست آمد.

یافته‌ها: ژن‌های mmu-miR-92a-2-5p، mmu-miR-129b-5p، mmu-miR-130b-5p، mmu-miR-692، mmu-miR-7009-3P، mmu-miR-7116-3p و mmu-miR-7689-3p ممکن است بر فعالیت lncRNAهای Kcnq1ot1، Gm26812، Gm4117، Gm11837.4930423MO2Rik، Malat1، Gm12594، Gm3414.5830444B04Rik، Gm2464 و NEAT1 اثر بگذارند.

بحث و نتیجه‌گیری: با توجه به ارتباط متقابل lncRNA، miRNA و mRNA، مطالعهٔ ما یک نقش جدید از lncRNAها را برای تحقیقات آینده و مطالعات تجربی دربارهٔ مسیر تمایز اکتودرمی و سازوکارهای مولکولی فراهم می‌کند.

واژه‌های کلیدی: بیوانفورماتیک، سامانهٔ بیولوژی، BMP4، FGF8، اکتودرم، RNAهای غیرکدکننده

استناد: مقدم، سمیه؛ بابایی، اسماعیل. پیشگویی بیوانفورماتیکی ژن‌های غیرکدکنندهٔ مرتبط با ژن‌های مسیر تمایز اکتودرمی FGF8، NOG و BMP4 موشی و ترسیم شبکهٔ ارتباطی آن‌ها. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی ایلام، اردیبهشت ۱۴۰۱؛۳۰(۱): ۴۱-۲۹.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]

[DOR: 20.1001.1.15634728.1401.30.1.2.1]

[DOI: 10.52547/sjimu.30.1.29]

CC BY NC

حق‌مؤلف © نویسندگان

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]

[DOR: 20.1001.1.15634728.1401.30.1.2.1]
[DOI: 10.52547/sjimu.30.1.29]

مقدمه

ازآنجاکه ژن‌ها به‌طور جداگانه عمل نمی‌کنند، می‌توان آن‌ها را بر اساس فعل و انفعالات در «شبکه»ها دسته‌بندی کرد. این یک فرضیهٔ جدید، معروف به فرضیهٔ CeRNA است که سالمنا و همکارانشان در سال ۲۰۱۱ ارائه کردند. شبکه‌های CeRNA از mRNAهای رمزگذار پروتئین و ncRNAهایی مانند miRNA و lncRNAها تشکیل‌شده است (۱).

ژن‌های کدکنندهٔ پروتئین تنها بخش کوچکی از ژنوم انسان را تشکیل می‌دهند و بخش اعظمی از توالی‌های ژنومی از نظر رونویسی خاموش هستند؛ اما مشاهدات اخیر نشان‌دهندهٔ وجود توالی‌های عملکردی مهمی شامل RNAهای غیرکدکننده است که دسته‌ای از RNAها هستند که به پروتئین‌های عملکردی ترجمه نمی‌شوند. اکنون به‌طور گسترده پذیرفته‌شده است که بخش غیرکدکنندهٔ ژنوم نقش مهمی در توسعهٔ زیست‌شناسی، تعیین سرنوشت سلول و درمان بیماری‌ها دارد (۲). RNAهای غیرکدکننده یا ncRNAها (non-coding RNA) را می‌توان به انواع مختلف long non-coding RNA، circular RNA، snRNA، miRNAها و... تقسیم‌بندی کرد. lncRNAها یا RNAهای غیرکدکنندهٔ طولانی، رونوشت‌های ترجمه‌نشده‌ای به طول ۲۰۰ نوکلئوتید هستند که بسیاری از مشخصات ساختاری mRNAها ازجمله یک دم پلی A، کلاهک ′5 و یک ساختار پروموتر دارند. این RNAها مختص به بافت ویژه‌ای هستند و عملکرد تخصصی مختص به همان بافت را دارند که در حین رشد بیان می‌شوند و تنظیم‌کننده‌های اصلی پرتوانی رویانی (Embryonic pluripotency)، تمایز (Differentiation)، الگوسازی محورهای بدنی، جلوگیری از محورهای تکوینی، تغییرات هیستونی، خاموشی ژن، سیگنال‌های آدنیلاسیون و در فاکتورهای مؤثر بر رونویسی تأثیر دارند (۳, ۴).

سلول‌های pluripotent (پرتوان)، نوعی از سلول‌های بنیادی هستند که توانایی تمایز یافتن به بافت‌های موجود در لایه‌های سه‌گانهٔ جنینی، لایهٔ اکتودرمی، اندودرمی و مزودرمی را دارند؛ اما توانایی به وجود آوردن یک موجود زندهٔ کامل را ندارند و این امر از طریق فرایندی به نام تغییرات بیان ژن‌ها رخ می‌دهد. تنظیم بیان ژن از طریق سیگنال‌های مشخصی در داخل و خارج از سلول‌ها رخ می‌دهد (۵). در فرایند تمایز سلول‌های بنیادی جنینی به لایهٔ زایای اکتودرم، ژن‌های بسیاری دخیل هستند که در این مقاله ژن‌های BMP4، NOG و FGF8 بررسی شده‌اند که در ریخت‌زایی، رگ‌زایی، رشد و تکامل بسیاری از بافت‌های بدن و ساخت برخی سلول‌های تخصصی مشتق‌یافته از لایهٔ زایا نقش دارند. BMP4 (پروتئین مورفولوژیک استخوانی) عضوی از خانوادهٔ بزرگ تبدیل‌کنندهٔ فاکتور رشد (TGF- β) است که پروتئین‌های درون‌سلولی Smad (واسطه‌های داخل سلولی BMPها) را فعال می‌کنند و سپس از این طریق، بیان ژن را تنظیم می‌نمایند (۶). Noggin یکی از آنتاگونیست‌های خارج سلولی مسیر سیگنالینگ پروتئین BMP است که با اتصال محکم به BMP، مانع اتصال BMPها به گیرنده‌هایشان در سطح سلولی می‌شود و از این طریق، از فعال شدن گیرنده‌های آن‌ها جلوگیری می‌کند (۷). FGF8 به‌عنوان یک عامل منشأ سلول‌های اپی‌تلیالی (بافت پوششی) در نظر گرفته‌شده است که بیان ژن را تنظیم می‌نماید (۸). در تنظیم بیان این ژن‌ها عوامل مختلفی دخیل هستند؛ ازجمله می‌توان به lncRNAها و miRNAها اشاره کرد. به‌تازگی مشخص‌شده است که نواحی غیرکدکننده یا RNAهای غیرکدکنندهٔ پروتئین نقش اساسی در سازوکارهای مختلف تنظیم بیان ژن‌ها ایفا می‌کنند. miRNAها نقش چشم‌گیری در تمایز سلول‌های بنیادی جنینی دارند. میکرو RNAها ریبونوکلئیک‌اسید غیرکدکننده‌ای هستند که طولی برابر ۱۸–۲۵ نوکلئوتید دارند. به‌سبب توانایی microRNA در هدف قرار دادن تعداد بسیاری از mRNAها، این دسته از اولیگونوکلئوتیدها تقریباً در همهٔ پدیده‌های بیولوژیکی شامل تنظیم چرخهٔ سلولی، رشد

سلولی و آپوپتوزیس، تمایز سلولی و پاسخ به استرس و بیان ژن‌ها را پس از رونویسی از طریق تجزیهٔ mRNA یا مهار ترجمهٔ آن‌ها کنترل می‌کنند(۳). سامانهٔ بیولوژی علمی است که به‌منظور پیوند اطلاعات پیچیدهٔ ژنی و پروتئینی به داده‌های متابولیکی تلاش می‌نماید تا یک سامانهٔ جامع نرم‌افزاری در زمینهٔ بیوانفورماتیکی به‌وجود بیاورد. امروزه، با تولد این شاخه از علم در زمینهٔ سلامت و بیماری‌های ژنتیکی و سرطان، پژوهشگران امیدوارند بتوانند همهٔ اتفاقاتی را که در سلول‌های بیمار و سالم اتفاق می‌افتد، الگوسازی و باهم مقایسه کنند تا به علت اصلی بیماری‌ها و درمان آن‌ها پی ببرند. بیماری‌های پیچیده نتیجهٔ هم‌افزایی‌های ژن‌های متعدد و ارتباط آن‌ها با RNAها است؛ بنابراین، ما باید سازوکار بیماری‌ها را در سطح سامانهٔ بیولوژی بررسی کنیم(۹). سامانهٔ بیولوژی شامل موضوع‌هایی ازجمله آنالیز شبکه‌های مختلف است که از مهم‌ترین این شبکه‌ها می‌توان به شبکه‌های ژنی، شبکه‌های برهم‌کنش پروتئین‌ها، شبکه‌های متابولیسمی و شبکه‌های سیگنالی اشاره کرد. برای الگوسازی هرکدام از این شبکه‌ها، با توجه به ویژگی‌هایی که هرکدام از آن‌ها دارند، از روش‌ها و الگوریتم‌های خاصی استفاده می‌کنند؛ اما نکتهٔ مهم این است که درنهایت، هدف سامانهٔ بیولوژی رسیدن به یک الگوی واحد و کشف ارتباطات میان این شبکه‌ها و نقش آن‌ها در حیات سلولی، ارتباطات بین‌سلولی، شرایط محیطی و درنهایت، پاسخ موجودات به تغییرات محیطی است (۱۰)؛ بنابراین، هدف از این تحقیق استفاده از داده‌های منتشرشده در پایگاه داده و سایت‌های پیش‌بینی مختلف و با بهره‌گیری از سامانهٔ بیولوژی است تا بتوان به ترسیم و آنالیز شبکه‌های مولکولی mRNA-miRNA-lncRNA اقدام کرد.

مواد و روش ها

به‌طورکلی، پژوهش انجام‌گرفته از نوع تئوری بیوانفورماتیک است. در طول ۱۵ سال اخیر، بر اساس معیارهای زیستی مشخصی، بسیاری از ابزارهای بیوانفورماتیک برای پیش‌بینی برهم‌کنش mRNA:miRNA، mRNA:lncRNA ایجاد شدند. این ابزارها به‌منظور تشخیص سریع و صحیح هدف‌های miRNAها با lncRNAها و نقش‌های مهم سلولی ایجاد گردیدند و این امر را ممکن ساختند که عملکرد این اهداف شناخته و در الگوهای زیستی تأیید شود.

پایگاه دادهٔ TargetScan: در TargetScan می‌توان از علامت ژن و یا نام اختصاصی گونه برای جستجو استفاده کرد. برای هر رونوشت ژنی، مکان‌هایی با احتمال اتصال بالاتر و پایین‌تر برای اتصال به miRNA نمایش داده می‌شود. از سویی، جستجو کردن نام miRNA دربردارندهٔ نتایجی است که نشان می‌دهد که کدام رونوشت از کدام ژن می‌تواند هدف miRNA مزبور قرار گیرد(۱۱). در سال ۲۰۰۹، الگوریتمی به نام PCT طراحی شد که درواقع، یک روش تقویت‌شده برای بررسی کمی میزان حفاظت شدگی سایت بود و میزان آن برای هریک از انواع match Seedها محاسبه‌شده است. درواقع، PCT عددی بین ۰ و ۱ است و با میزان ناپایداری mRNA ارتباط دارد و یک معیار مناسب برای ارزیابی فراوانی زیستی برهم‌کنش‌های پیش‌بینی‌شده به‌شمار می‌رود(۱۲). در نسخهٔ نهایی، ۱۴ ویژگی مهم اساس بررسی‌ها قرار گرفت و تحت عنوان «مدل Context++ از میزان هدف گیری miRNA» نامیده شد که مقادیری بین ۱ و ۱- دارد(۱۳). این ویژگی‌ها در Context ++ Score و PCT مکمل یکدیگرند. بر اساس همین، در TargetScan معیار انتخاب محتمل‌ترین برهم‌کنش معمولاً مقادیر Context Score ++ و PCT است و در مواردی که میزان برابری از هرکدام از این الگوریتم‌ها برای یک برهم‌کنش گزارش‌شده باشد، الگوریتم دیگری باید ملاک انتخاب قرار گیرد (۱۱)؛ بنابراین، از این سایت برای پیدا کردن miRNAهای هدف ژن‌های BMP4، NOG، FGF8 در Mus_musculus استفاده شد.

پایگاه دادهٔ MirWalk: MirWalk ابزار بیوانفورماتیکی است که وسیع ترین مجموعه از برهم‌کنش های

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.15634728.1401.30.1.2.1]
[DOI: 10.52547/sjimu.30.1.29]

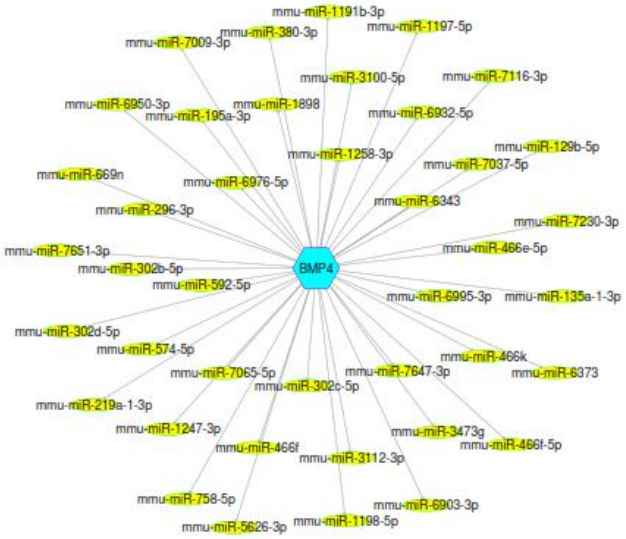
پیش‌بینی‌شده و تأییدشده میان miRNA و هدف‌های آن‌ها (۹۴۹ میلیون برهم‌کنش) را نمایش می‌دهد. اطلاعات این پایگاه همهٔ ژن‌های شناسایی‌شدهٔ انسان، موش و رت را پوشش می‌دهد و شامل یک الگوریتم جدید به نام MirWalk و ۱۲ برنامهٔ ازپیش‌طراحی‌شده است. در این پایگاه، با واردکردن نام ژن یا miRNA و انتخاب اندامواره مدنظر می‌توان به اطلاعات پیش‌بینی‌شده دسترسی پیدا کرد(۱۴). بر اساس مطالب یادشده و با توجه به این امر که بسیاری از پایگاه‌های داده بدون اطلاعات برهم‌کنش مرتبط با اندامواره موش هستند، دو پایگاه TargetScan و MirWalk به‌عنوان دو پایگاه جامع و برگزیده برای انتخاب miRNAهای مناسب بررسی شدند.

پایگاه DIANA-TOOLS: پس از استخراج miRNAهای هدف از دو پایگاه داده‌ای MirWalk و TargetScan، miRNAهای مشترک میان دو پایگاه داده برای بررسی بیشتر انتخاب گردیدند. به‌منظور یافتن lncRNAهای هدف برای miRNAهای منتخب، از پایگاه داده‌ای DIANA-TOOLS استفاده کردیم که یک سرور وب است و میزبان برنامه‌های کاربردی و پایگاه داده‌های پیشرفته برای تحقیقات کاربردی miRNA است. برنامه‌های در دسترس دامنهٔ وسیعی از نیازهای مختلف و سناریوهای تحقیق را پوشش می‌دهند. وب‌سایت DIANA به‌صورت یک مرحله‌ای برای تجزیه‌وتحلیل miRNAها آماده‌شده است. فرد با استفادهٔ ترکیبی از برنامه‌های مختلف از مجموعهٔ DIANA می‌تواند به بسیاری از جنبه‌های مختلف تنظیم miRNA و عملکردهای نظارتی، بدون نیاز به تخصص گستردهٔ بیوانفورماتیکی یا زیرساخت‌های محاسباتی بپردازد(۱۵).

ترسیم شبکهٔ ژنی: در این مرحله، بر اساس ارتباط ژن‌های یادشده با miRNAهای هدف خود، با استفاده از مجموعه داده‌های حاصل از سایت‌های Target Scan و MirWalk، شبکهٔ برهم‌کنش ژن‌های mRNA-miRNA-lncRNA با استفاده از نرم‌افزار Cytoscape ترسیم شد.

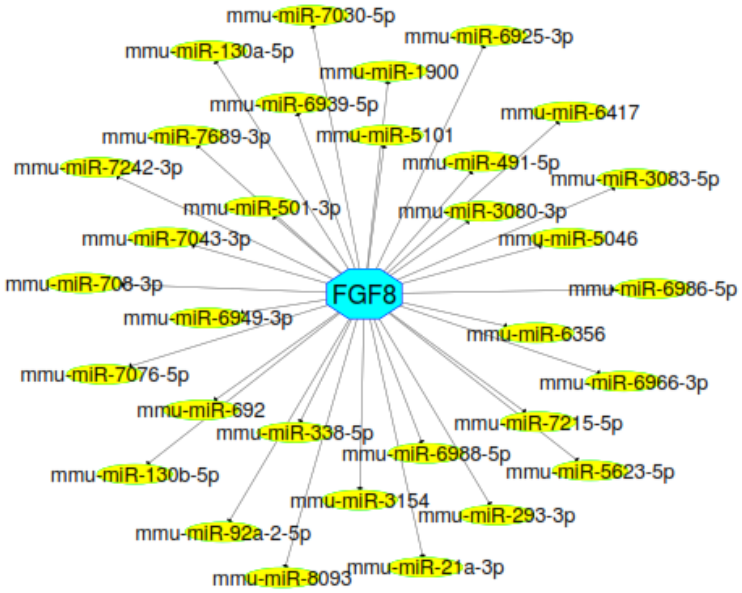
یافته ها

برای انجام این بررسی، در ابتدا نتایج پیش‌بینی برای BMP4 در دو پایگاه (TargetScanو MirWalk) بررسی گردید. در مرحلهٔ اول، همهٔ miRNAهای هدف برای ژن Bmp4 در سایت TargetScan و MirWalkانتخاب شد؛ سپس miRNAهای مشترک میان دو پایگاه داده با استفاده از نرم‌افزار Cytoscape انتخاب و شبکهٔ ژنی مربوطه ترسیم گردید (شکل شمارهٔ ۱).



شکل شمارهٔ ۱. شبکهٔ ژنی میان BM4 و miRNAهای هدف آن. miRNAهای هدف ژن BMP4 از پایگاه داده‌ای MirWalk و TargetScan استخراج شد؛ سپس miRNAهای مشترک میان دو پایگاه داده‌ای انتخاب و با استفاده از نرم‌افزار Cytoscape، شبکهٔ ژنی mRNA –miRNA برای ژن BMP4 رسم گردید.

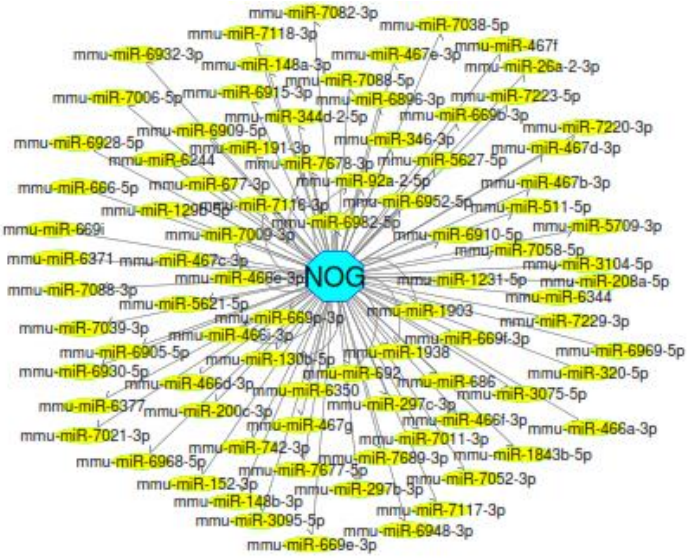
[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.15634728.1401.30.1.2.1]
[DOI: 10.52547/sjimu.30.1.29]



شکل شمارهٔ ۲. شبکهٔ ژنی میان FGF8 و miRNAهای هدف آن. miRNAهای هدف ژن FGF8 از پایگاه دادهای MirWalk و TargetScan استخراج شد؛ سپس miRNAهای مشترک میان دو پایگاه دادهای انتخاب و با استفاده از نرمافزار Cytoscape، شبکهٔ ژنی mRNA –miRNA برای ژن FGF8 رسم گردید.

در مرحلهٔ بعدی، همهٔ miRNAهای هدف برای ژن FGF8 در سایت TargetScan و MirWalk انتخاب شد؛ سپس miRNAهای مشترک میان دو پایگاه داده با استفاده از نرمافزار Sytoscape انتخاب و شبکهٔ ژنی مربوطه ترسیم گردید (شکل شمارهٔ ۲).

سپس، همهٔ miRNAهای هدف برای ژن NOG در سایت TargetScan و MirWalk انتخاب شد؛ پس از آن، miRNAهای مشترک میان دو پایگاه داده با استفاده از نرمافزار Sytoscape انتخاب و شبکهٔ ژنی مربوطه ترسیم گردید (شکل شمارهٔ ۳).



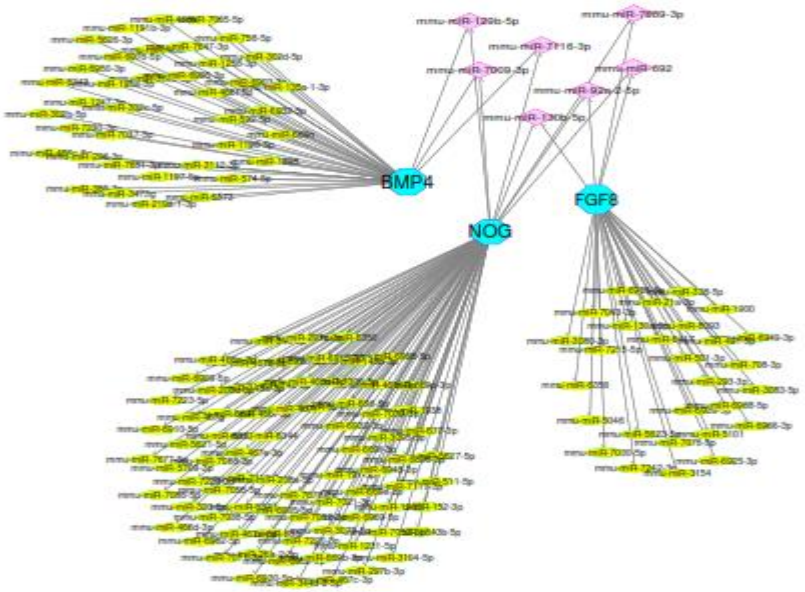
شکل شمارهٔ ۳. شبکهٔ ژنی میان NOG و miRNAهای هدف آن. miRNAهای هدف ژن BMP4 از پایگاه دادهای MirWalkو TargetScan استخراج شد؛ سپس miRNAهای مشترک میان دو پایگاه دادهای انتخاب و با استفاده از نرمافزار Cytoscape، شبکهٔ ژنی mRNA –miRNA برای ژن BMP4 رسم گردید.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.15634728.1401.30.1.2.1]
[DOI: 10.52547/sjimu.30.1.29]

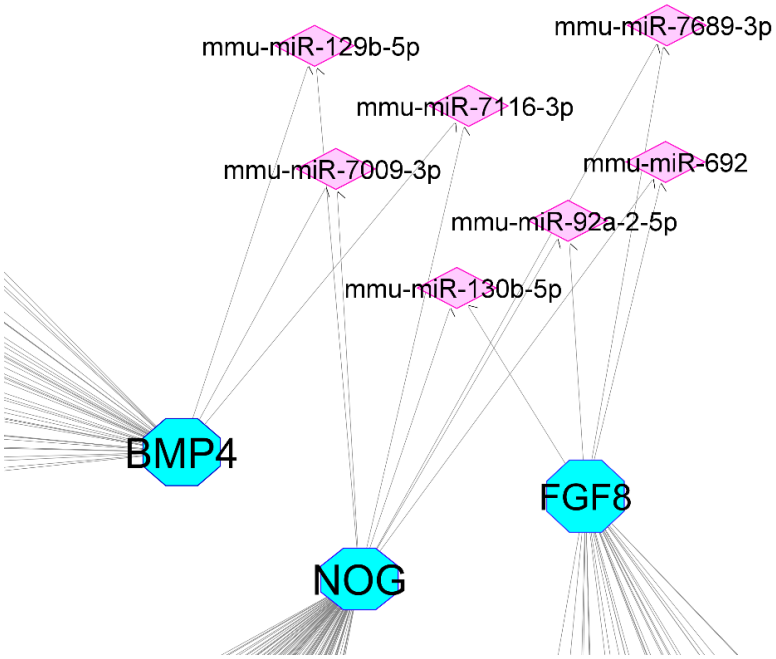
در مرحلهٔ نهایی، miRNAهایی که در دو پایگاه داده‌ای TargetScan و MirWalk میان ژن‌های BMP4، NOG و FGF8 مشترک بودند، به‌عنوان mirRNAهایی انتخاب شدند که به احتمال بسیار ژن‌های مدنظر را هدف قرار می‌دهند (شکل شمارهٔ ۴).

در مرحلهٔ بعدی، lncRNAهای مربوط به هرکدام از miRNAها با استفاده از پایگاه داده‌ای DIANATOOLS که امتیاز مناسب >۰/۹۵ داشتند، انتخاب و با استفاده از نرم‌افزار sytoscape شبکهٔ miRNA:lncRNA آن‌ها ترسیم شد. در مرحلهٔ پایانی، lncRNAهای مشترک میان miRNAها برای بررسی بیشتر انتخاب گردید (شکل شمارهٔ ۵ و ۶).

.a

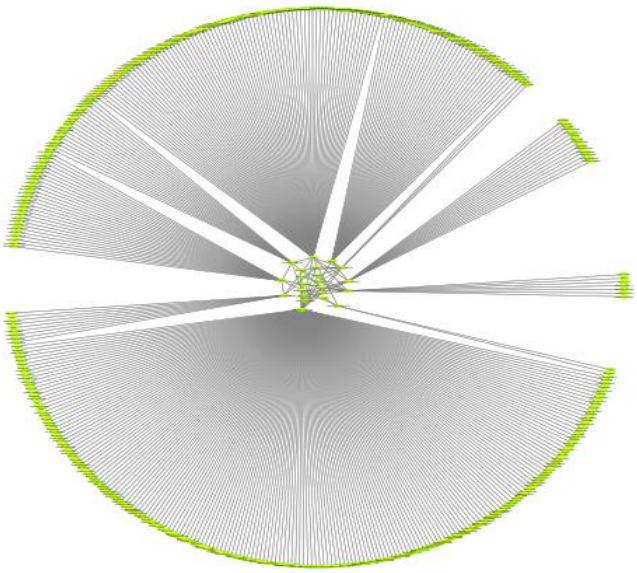


.b

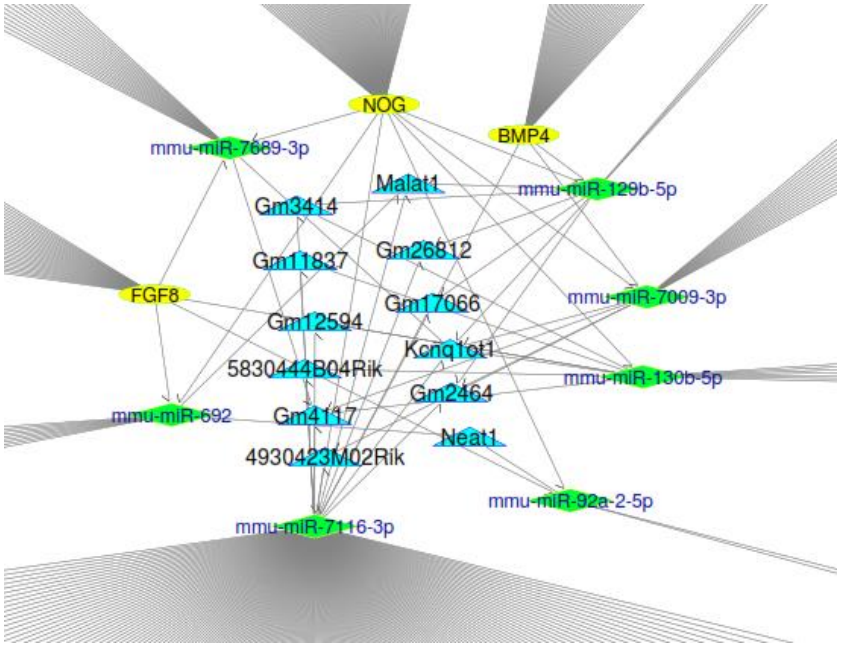


شکل شمارهٔ ٤. miRNAهای مشترک میان سه ژن BMP4,NOG و FGF8. پس از ترسیم شبکهٔ ژنی mRNA-miRNA برای سه ژن BMP4، NOG و FGF8، miRNAهای مشترک انتخاب شدند. تصویر a شماتیک کلی است. تصویر b جزئی از شکل a است که برای نمایش جزئیات بیشتر آورده شده است. پنج‌ضلعی‌های آبی mRNA و لوزی‌های بنفش miRNA هستند.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.15634728.1401.30.1.2.1]
[DOI: 10.52547/sjimu.30.1.29]



شکل شمارهٔ ۵. شبکهٔ mRNA-miRNA-lncRNA. شبکهٔ ژنی CeRNA (mRNA-miRNA-lncRNA) برای سه ژن یادشدهٔ BMP4، NOG و FGF8 با استفاده از نرم‌افزار Cytoscape رسم گردید.



شکل شمارهٔ ٦. lncRNAهای مشترک میان miRNAها. lncRNAهای هدف برایmiRNA های منتخب از سایت DIANATOOLS که امتیاز >۰/۹۵ داشتند، استخراج و شبکهٔ ژنی lncRNA-miRNA با استفاده از نرم‌افزار Cytocape ترسیم شد. دایره‌های زردرنگ نشان‌دهندهٔ mRNA، لوزی‌های سبزرنگ miRNAهای مشترک و مثلث‌های آبی نشان‌دهندهٔ lncRNAها است.

درنهایت، شبکهٔ mRNA-miRNA-lncRNA برای ژن‌های مدنظر ترسیم گردید. طبق مطالعات صورت‌گرفته، از میان lncRNAهای مشترک، تنها MALAT1، NEAT1 و KNCQOT1 نقش‌های مهمی داشتند که برای بررسی بیشتر انتخاب شدند.

بحث و نتیجه‌گیری

در این مطالعه که بر اساس داده‌های مارکرهای مسیر اکتودرمی و با استفاده از روش‌های بیوانفورماتیکی صورت گرفت، یک شبکهٔ ژنی mRNA-miRNA-lncRNA با استفاده از نرم‌افزار Cytoscape ترسیم گردید

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.15634728.1401.30.1.2.1]
[DOI: 10.52547/sjimu.30.1.29]

که از ۴۱۵ گره و ۴۳۹ لبه تشکیل‌شده است و نمایانگر شبکهٔ پیچیده‌ای از آثار تنظیمی میان lncRNA و miRNAها با ژن‌های هدف BMP4، NOG و FGF8 است. تمایز اکتودرمال به شبکه‌ای از مسیرهای سیگنالینگ نیاز دارد که از نظر زمانی و مکانی بسیار پویا هستند. علاوه بر این، ماهیت سلولی تنها در اثر یک مولکول سیگنالینگ تعیین نمی‌شود، بلکه به‌شدت و ترکیب سیگنال‌ها و قابلیت سلول برای پاسخ دادن به این سیگنال‌ها بستگی دارد؛ بنابراین تصور می‌شود که مشخصات بافت در چند مرحله اتفاق می‌افتد و توسط یک شبکهٔ پویا از مسیرهای سیگنالینگ بیان می‌شود. در بخش زیر، مسیرهای اصلی سیگنالینگ درگیر در الگوی خارج رحمی، به‌ویژه سیگنالینگ FGF، BMP و NOG بررسی شد که یکی از آنتاگونیست‌های خارج سلولی مسیر سیگنالینگ پروتئین BMP است.

میکروRNAها بیان ژن‌ها را پس از رونویسی از طریق تجزیهٔ mRNA یا مهار ترجمهٔ آن‌ها کنترل می‌کنند. این فرایند از طریق اتصال آن‌ها از ناحیهٔ 5′-UTR(Un-translated region) خود، تحت عنوان سید (Seed)، به ناحیهٔ ترجمه‌نشدنی انتهای 3′ مربوط mRNA (3′-UTR) مورد هدف انجام می‌دهند. میکروRNAهای هدف برای ژن BMP4 که در شکل شمارهٔ ۱ نشان داده‌شده است، از ناحیهٔ 3′-UTR به mRNA متصل می‌شود و در بسیاری از فرایندهای بیولوژیکی مانند تکثیر سلولی، تمایز و... نقش ایفا می‌کنند. طبق تحقیقات، miRNAهایی مانند miR-19b و miR24 و miR-378 در مسیر سیگنالینگ TGF-B اثر می‌گذارند و بیان نابه‌جای آن‌ها با بسیاری از بیماری‌ها ارتباط نزدیکی دارد(۱۶–۱۸).

شبکهٔ ژنی ژن FGF8 و miRNAهای هدف آن در شکل شمارهٔ ۲ آورده شده است. همهٔ miRNAها از ناحیهٔ 3′-UTR با mRNA، seed می‌شوند و وظایف معینی دارند؛ به‌عنوان‌مثال، mmu-miR-293-3p احتمالاً از طریق فعال‌سازی مسیر سیگنالینگ PI3K در تمایز ESCها (۱۹) و mmu-miR-92a-2-5p در آپاپتوز سلولی، همانندسازی (۲۰)، mmu-miR-708-3P در روند سامانهٔ ایمنی بدن و همچنین miR-501-3P در تمایز میوبلاست‌ها نقش ایفا می‌کند(۲۱).

از میان میکروRNAهای هدف NOG که در شکل شمارهٔ ۳ نشان داده‌شده است، چندین میکروRNA بررسی شد که نشان داد طبق پیش‌بینی‌ها، این ژن در تمایز سامانهٔ عصبی نقش دارد؛ مثلاً mmu-miR-346-3P در توسعهٔ سامانهٔ عصبی ازجمله تمایز نورون‌ها و دندریت‌ها، mmu-miR-200-3p در مسیر پاسخ‌های ایمنی و mmu-miR-148b-3p در فرایندهای بیولوژیکی متعددی مانند التهاب، متابولیسم و مرگ سلولی تأثیر بسزایی دارند(۲۱).

پس از بررسی‌ها مشخص شد که نواحی 3 کاندیدای قوی برای miRNAها هستند و در ادامه، میکروRNAهای مشترک میان سه ژن از لحاظ عملکرد بررسی شد. بر اساس نتایج، احتمالاً mmu-miR-7689-3p در سامانهٔ عصبی و تمایز استخوان‌ها (۲۲) و mmu-miR-7116-3p در تنظیم ترجمه، پاسخ سلولی به دارو، سامانهٔ عصبی (۲۳) و mmu-miR-7009-3p در رونویسی (۲۴)و mmu-miR-692 در رونویسی، تمایز، چرخه و تکثیر سلولی (۲۵) و mmu-miR-130b-5p در پاسخ‌های سلولی به عامل LIF، درک حس صدا و mmu-miR-129b-5p در تکثیر و تمایز و mmu-miR-92a-2-5p در بسیاری از فرایندها ازجمله تنظیم بیان ژن، پاسخ سلولی به عامل LIF، سامانهٔ عصبی و درک حس صدا نقش دارند(۱۶, ۲۶).

در تنظیم بیان ژن علاوه بر miRNA، مؤلفه‌های دیگری همچون lncRNAها نیز نقش ایفا می‌کنند. در سلول‌های پستانداران، بخش عمده‌ای از فرایندهای RNA تولیدشده، RNAهای غیرکدکنندهٔ پروتئین یا ncRNAها هستند که ظاهراً هیچ پروتئینی را کد نمی‌کنند. بسیاری از ncRNAها برای تولید RNAهای فعال کوچک مانند miRNA، siRNA، piRNA، tiRNA و snoRNA را پردازش مولکولی می‌کنند. علاوه بر این، رده‌های متفاوت از ncRNAها، از طریق میان‌کنش‌های مولکولی با DNA، RNA و نیز پروتئین‌ها، در فرایندهای حیاتی مانند کنترل

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.15634728.1401.30.1.2.1]
[DOI: 10.52547/sjimu.30.1.29]

بیان ژن و نیز کنترل فرایندهای ترجمه نقش مهمی دارند(۳).

طبق تحقیقات انجام‌شده، نقش lncRNAها در تنظیم الگوی بیان ژن نشان‌دهندهٔ پیچیده بودن سازوکار کنترلی آن‌ها است، به‌نحوی‌که این مولکول‌ها در سطوح متفاوتی از تنظیم بیان ژن، مشتمل بر تنظیم در سطح رونویسی و نیز پس از رونویسی درگیر هستند. lncRNAها با miRNAها همکاری دارند، بدین‌صورت که تعدادی از lncRNAها در جهت همسو و یا معکوس با فعالیت مولکول‌های miRNAها عمل می‌کنند و از این طریق، در فعال‌سازی و یا مهار بیان ژن نقش مهمی دارند؛ به‌طور مثال، lncRNAی Kcnq1ot1 به‌صورت cis عمل می‌کند و Malat1 که اولین بار در ارتباط با متاستاز شناخته شد، یک lncRNA است که نقش کلیدی در پردازش متناوب pre-mRNA ایفا می‌کند(۲۶).

فعالیت lncRNAها در کنترل انتقال مولکول‌ها میان هسته و سیتوپلاسم بررسی‌شده است و طبق مطالعات، ساختارهای هسته‌ای پویا تحت عنوان Paraspeckleها، از طریق بقای mRNAهای پردازش‌شده در هسته قادرند بیان ژن را در سطح پس از رونویسی تنظیم کنند. به‌طورکلی، هر هسته شامل چندین Paraspeckle است که برای پیشبرد رونویسی توسط RNA پلی‌مرازII ، Paraspeckle ناپدید می‌شوند. تشکیل و حفظ ساختارهای Paraspeckle نیازمند وجود یک lncRNA به نام NEAT1 است که منحصراً در Paraspeckleها مشاهده‌شده است. Paraspeckleها در سلول‌های بنیادی جنینی دیده نمی‌شوند؛ اما پس از تمایز این سلول‌ها پدید می‌آید که مطابق با زمان بیان و فعالیت NEAT1 است. علاوه بر این، تخلیهٔ NEAT1 یک عملکرد با کفایت برای نبودِ Paraspeckle در هسته و افزایش بیان NEAT1 است و اما به افزایش پروتئین‌های سازندهٔ Paraspeckle منجر می‌شود. این امر نشان‌دهندهٔ نقش ضروری و کلیدی NEAT1 در تشکیل و یا تمامیت ساختاری Paraspeckleها است (۲۷)؛ همچنین این lncRNAها در فرایندهای سلولی دیگر نیز دخیل هستند که در جدول شمارهٔ ۱ آورده شده است.

جدول شمارهٔ ۱. بعضی از نقش‌های lncRNAهای MALAT1، NEAT1 و Kncq1ot1

نام lncRNA	نقش lncRNA
MALAT1	سازمان‌بندی اجزای هسته‌ای تنظیم رشد و نمو، چرخهٔ سلولی، تکثیر سلولی و مهاجرت سلولی تنظیم مثبت تکثیر میوبلاست تنظیم MRNA Splicing از طریق اسپلیکوزوم تنظیم سیناپس (۲۸)
NEAT1	حفاظت سلولی تنظیم‌کنندهٔ ترجمهٔ چندین ژن ازجمله ژن‌های درگیر در سرطان حفظ حالت پایدار عملکردی یا ساختاری سلول سازمان‌بندی هسته پاسخ به محرک‌ها در مقابل آسیب‌های ارگانیسم شرکت در ساختمان nuclear body و paraspeckles (۲۹)
Kcnq1ot1	خاموش کردن ژن هایپرمتیلاسیون جزایر CPG حفظ متیلاسیون DNA تنظیم بیان ژن توسط پدیدهٔ برداشت ژنومی اتصال کروماتین و اتصال پروتئین (۳۰)

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.15634728.1401.30.1.2.1]
[DOI: 10.52547/sjimu.30.1.29]

در رابطه با lncRNAها اطلاعات کافی در دسترس نیست؛ اما استفاده از ابزارهای پیشگویی‌کنندهٔ بیوانفورماتیکی و تأیید هدف‌های ژنی miRNA:lncRNA نقش مهمی در انتخاب صحیح، سریع و کم‌هزینه‌تر نسبت به روش‌های آزمایشگاهی دارد که بعدها می‌توان آن را به‌طور تجربی نیز تأیید کرد. تعداد فراوانی از این ابزارها به‌وجود آمده است؛ اما یک چالش مهم در استفاده از آن‌ها این است که هریک از ابزارها، با الگوریتم خاص خود، نتایج مجزایی را پیش‌بینی می‌کنند و انتخاب miRNA و lncRNAهای مناسب از طریق بیوانفورماتیک را مشکل می‌سازند.

در بررسی حاضر، در رهیافتی نوین و به‌منظور صرف‌نظر کردن از هزینه‌های گزاف microarray و روش‌های مشابه، اساس انتخاب miRNAها بر پیش‌بینی برهم‌کنش‌های قوی آن‌ها با ژن‌های مهمی همچون BMP4، NOG و FGF8 قرار گرفت. بر اساس همین، در این مطالعه پس از انتخاب ژن‌های هدف، تعدادی از miRNAهای اثرگذار بر این ژن‌ها با استفاده از پایگاه‌های دادهٔ جستجوشده بدین منظور، ابتدا با استفاده از الگوریتم‌های MirWalk و TargetScan، miRNAهای مؤثر بر ژن‌های BMP4، NOG و FGF8 بررسی شدند. از میان آن‌ها، miRNAهای مؤثر و مشترک بر هر سه ژن برای بررسی بیشتر انتخاب گردیدند؛ زیرا طبق نتایج حاصل از پایگاه‌ها، این miRNAها توانایی ایجاد برهم‌کنش قوی با ژن‌های BMP4، NOG و FGF8 داشتند؛ بنابراین انتخاب شدند تا در مرحلهٔ بعدی، lncRNAهای هدف این miRNAها با استفاده از پایگاه داده‌ای DIANATOOLS استخراج گردد که درنهایت، از میان lncRNAهای هدف، lncRNAهای MALAT1، NEAT1 و Kcnq1ot1 که قوی‌ترین برهم‌کنش را داشتند و همچنین از آن‌ها اطلاعات کم‌وبیشی در دسترس بود، برای ادامهٔ مطالعه و نیز پی بردن به نقش احتمالی آن‌ها در مهار و یا افزایش بیان ژن‌های دخیل در تمایز اکتودرمی بررسی شدند.

با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از پایگاه‌ها می‌توان اذعان داشت که احتمالاً miRNAهای mmu-miR-92a-2-5p، mmu-miR-129b-5p، mmu-miR-130b-5p، mmu-miR-692، mmu-miR-7009-3P، mmu-miR-7116-3p و mmu-miR-7689-3p برهم‌کنش قوی با ژن‌های BMP4، NOG و FGF8 داشتند که در مسیر تمایز سلول‌های بنیادی جنینی به لایهٔ زایای اکتودرمی نقش دارند. طبق پایگاه‌های DIANATOOLS، lncRNAهای MALAT، NEAT1 و KNCQ0T1 دخیل‌اند و از این طریق، در سازوکارهای مختلف سلولی ازجمله تنظیم بیان ژن‌ها، متابولیسم‌های سلولی، ساختار اجزای هستهٔ سلول و همچنین در رشد و نمو طبیعی سلول‌ها و در برخی موارد در رشد تومور و پیشرفت سرطان می‌توانند نقش داشته باشند. اگرچه تأیید این پیش‌بینی‌های محاسباتی منوط به بررسی بیان این miRNAها و به‌تبع آن، بررسی ارتباط میان این دسته از miRNAها و lncRNAهای هدف آن‌ها است.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از زحمات عزیزانی که در نگارش این مقاله همکاری داشتند، تشکر و قدردانی می گردد.

تعارض منافع

نویسندگان مقاله هیچ‌گونه تعارض منافعی ندارند.

کد اخلاق: طرح مذکور با شماره پ/۲/۲۱۵۶۰/۱۰۰ در دانشگاه تبریز تصویب شده است.

References

1. Zhou R-S, Zhang E-X, Sun Q-F, Ye Z-J, Liu J-W, Zhou D-H, et al. Integrated analysis of lncRNA-miRNA-mRNA ceRNA network in squamous cell carcinoma of tongue. BMC cancer. 2019;19:1:1-10. doi: 10.1186/s12885-019-5983-8.
2. Huang R, Wu J, Zheng Z, Wang G, Song D, Yan P, et al. The construction and analysis of ceRNA

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.15634728.1401.30.1.2.1]
[DOI: 10.52547/sjimu.30.1.29]

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.15634728.1401.30.1.2.1]
[DOI: 10.52547/sjimu.30.1.29]

network and patterns of immune infiltration in mesothelioma with bone metastasis. Front Bioeng Biotechnol. 2019;7:257. doi: 10.3389/ fbioe.2019.00257.
3. He J-H, Han Z-P, Zou M-X, Wang L, Lv YB, Zhou JB, et al. Analyzing the LncRNA, miRNA, and mRNA regulatory network in prostate cancer with bioinformatics software. J Comput Biol. 2018;25:2:146-57. doi: 10.1089/cmb.2016.0093.
4. Zhang X, Wang W, Zhu W, Dong J, Cheng Y, Yin Z, et al. Mechanisms and functions of long non-coding RNAs at multiple regulatory levels. Int J Mol Sci. 2019;20:22:5573. doi: 10.3390/ijms20225573.
5. Menolfi D, Zha S. ATM, ATR and DNA-PKcs kinases—the lessons from the mouse models: inhibition≠ deletion. Cell Biosci. 2020;10:1:1-15. doi:10.1186/s13578-020-0376-x.
6. Schmierer B, Hill CS. TGFβ–SMAD signal transduction: molecular specificity and functional flexibility. Nat rev Mol cell bio. 2007;8:12:970-82. doi: 10.1038/nrm2297.
7. Gerrard L, Rodgers L, Cui W. Differentiation of human embryonic stem cells to neural lineages in adherent culture by blocking bone morphogenetic protein signaling. Stem cells. 2005;23(9):1234-41. doi: 10.1634/stemcells.2005-0110.
8. Britton G, Heemskerk I, Hodge R, Qutub AA, Warmflash A. A novel self-organizing embryonic stem cell system reveals signaling logic underlying the patterning of human ectoderm . Development. 2019;146:20:dev179093. doi: 10.1242/dev.179093.
9. Zhang Y, Yu F, Bao S, Sun J. Systematic characterization of circular RNA-associated CeRNA network identified novel circRNA biomarkers in Alzheimer's disease. Front Bioeng Biotechnol. 2019;7:2.2.. doi: 10.3389/fbioe. 2019.00222
10. Kitano H. Systems biology: a brief overview. science. 2002;295(5560):1662-4.doi: 10.1126/ science.1069492.
11. Riffo-Campos ÁL, Riquelme I, Brebi-Mieville P. Tools for sequence-based miRNA target prediction: what to choose? Int J Mol Sci. 2016;17.۱۲:۱۹۸۷. doi: 10.3390/ijms17121987
12. Friedman RC, Farh KK-H, Burge CB, Bartel DP. Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs. Genome Res. 2009;19:1:92-105. doi: 10.1101/gr.082701.108
13. Agarwal V, Bell GW, Nam J-W, Bartel DP. Predicting effective microRNA target sites in mammalian mRNAs. elife. 2015;4:e05005. doi: 10.7554/eLife.05005.
14. Dweep H, Gretz N. miRWalk2. 0: a comprehensive atlas of microRNA-target interactions. Nature methods. 2015;12(8):697-. doi:10.1038/nmeth.3485
15. Vlachos IS, Hatzigeorgiou AG. Functional analysis of miRNAs using the DIANA tools online suite. Drug Target miRNA: Springer; 2017. p. 25-50. doi: 10.1007/978-1-4939-6563-2_2.
16. Gallo A, Agnese V, Coronnello C, Raffa GM, Bellavia D, Conaldi PG, et al. On the prospect of serum exosomal miRNA profiling and protein biomarkers for the diagnosis of ascending aortic dilatation in patients with bicuspid and tricuspid aortic valve. Int J Cardiol. 2018;273:230-6. doi: 10.1016/j.ijcard.2018.10.005.
17. Valenti MT, Deiana M, Cheri S, Dotta M, Zamboni F, Gabbiani D, et al. Physical exercise modulates miR-21-5p, miR-129-5p, miR-378-5p, and miR-188-5p expression in progenitor cells promoting osteogenesis. Cells. 2019;8:7:742. doi: 10.3390%2Fcells8070742
18. Brandon-Warner E, Benbow JH, Swet JH, Feilen NA, Culberson CR, McKillop IH, et al. Adeno-Associated Virus Serotype 2 Vector–Mediated Reintroduction of microRNA-19b Attenuates Hepatic Fibrosis. Hum gene ther. 2018;29:6:674-86. doi: 10.1089/hum.2017.035.
19. Rey F, Barzaghini B, Nardini A, Bordoni M, Zuccotti GV, Cereda C, et al. Advances in tissue engineering and innovative fabrication techniques for 3-D-structures: translational applications in neurodegenerative diseases. Cells. 2020;9:7:1636. doi: 10.3390/cells9071636.
20. Gu Q-H, Yu D, Hu Z, Liu X, Yang Y, Luo Y, et al. miR-26a and miR-384-5p are required for LTP maintenance and spine enlargement. Nat Commun. 2015;6:1:1-15.doi: 10.1038%2Fncomms7789
21. Duarte Ramos Matos G. Free Energy Calculations in Action: Theory, Applications and Challenges of Solvation Free Energies: UC Irvine; 2018.
22. Weng J, Zhang P, Yin X, Jiang B. The whole transcriptome involved in denervated muscle atrophy following peripheral nerve injury. Front Bioeng Biotechnol. 2018;11:69. doi: https://doi.org/10.3389/fnmol.2018.00069
23. He Q, Wang Q, Yuan C, Wang Y. Downregulation of miR-7116-5p in microglia by MPP+ sensitizes TNF-α production to induce dopaminergic neuron damage. Glia. 2017; 65:8:1251-63. doi: 10.1002/glia.23153.
24. Pei W, Tao L, Zhang LW, Zhang S, Cao J, Jiao Y, et al. Circular RNA profiles in mouse lung tissue induced by radon. Environ Health Prev Med. 2017;22:1:1-10. doi: 10.1186/s12199-017-0627-6.
25. Wang S, Xu Z, Wang L. Shuanghuang Shengbai granule cures myelosuppression and suppresses lung cancer progression: Mechanism and therapeutic targets from the aspect of microRNAs. Oncotarget. 2017;8:37:62154. doi: 10.18632/oncotarget.19129.
26. Bhat SA, Ahmad SM, Mumtaz PT, Malik AA, Dar MA, Urwat U, et al. Long non-coding RNAs: Mechanism of action and functional utility. Noncoding RNA Res. 2016;1. doi: 10.1016/j. ncrna.2016.11.002
27. Lin Y, Schmidt BF, Bruchez MP, McManus CJ. Structural analyses of NEAT1 lncRNAs suggest long-range RNA interactions that may contribute to paraspeckle architecture. Nucleic Acids Res. 2018;46:7:3742-52. doi: 10.1093/nar/g ky046.
28. Антонова Е. Морфометрические показатели ультраструктурных проявлений репаративной регенерации в печени черепах вида Trachemys scripta elegans после действия гипертермии. Вестник Балтийского федерального университета им И Канта Серия: Естественные и медицинские науки. 2008;7.
29. Clemson CM, Hutchinson JN, Sara SA,

Ensminger AW, Fox AH, Chess A, et al. An architectural role for a nuclear noncoding RNA: NEAT1 RNA is essential for the structure of paraspeckles. Mol Cell. 2009;33:6:717-26. doi: 10.1016/j.molcel.2009.01.026.

30. Thakur N, Tiwari VK, Thomassin H, Pandey RR, Kanduri M, Göndör A, et al. An antisense RNA regulates the bidirectional silencing property of the Kcnq1 imprinting control region. Mol cell biol. 2004;24:18:7855-62. doi: 10.1128%2FMCB.24.18.7855-7862.2004

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]

[DOR: 20.1001.1.15634728.1401.30.1.2.1]
[DOI: 10.52547/sjimu.30.1.29]