

# بررسی بیوانفورماتیکی نقش احتمالی RNAهای کوچک ویروسی در بیماری زایی ویروس SARS-CoV-2

انسیه خادم الحسینی<sup>۱</sup>، امیرحسین احمدی<sup>۱\*</sup>، سیدجواد حسینی<sup>۲</sup>

(۱) گروه علوم و فناوری های زیستی، دانشکده علوم، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ایران

(۲) گروه بیوتکنولوژی، پژوهشکده خلیج فارس، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ایران

## چکیده:

از زمان ظهور کووید-۱۹ در نوامبر ۲۰۱۹ میلادی، این بیماری به بزرگترین چالش جهان تبدیل شده است، بویژه در زمانی که همچنان واکسن موثری برای مقابله با آن وجود ندارد. شناخت مکانیسم های بیماری زایی ویروس SARS-CoV-2 به شناخت درمان های مناسب برای آن کمک می کند. اخیراً نقش RNAهای کوچک ویروسی (svRNA) در بیماری زایی ویروس SARS-CoV مورد توجه قرار گرفته است. با توجه به مشابهت بالای ژنوم ویروس های SARS-CoV-2 و SARS-CoV مطالعه بیوانفورماتیکی حاضر با هدف بررسی حضور این svRNAها در ژنوم SARS-CoV-2 و یافتن ژن های هدف آنها در انسان انجام گرفت.

از روش BLASTN برای یافتن مشابهت بین توالی سه svRNA مربوط به ویروس SARS-CoV با توالی احتمالی آنها در ژنوم SARS-CoV-2 و MERS-CoV استفاده شد. برای پیش بینی ژن های هدف svRNA از نرم افزار آنالین TargetScanHuman custom version 5.2 استفاده شد. همچنین از وبسایت Enrichr برای بررسی غنی شدن ژن های هدف svRNA در مسیرهای KEGG استفاده گردید. شبکه برهمکنش های پروتئین-پروتئین ژن های هدف با نرم افزار Cytoscape رسم و از افزونه های MCODE و Cytohubba به ترتیب برای تعیین ماژول ها و ژن های مرکزی شبکه استفاده شد.

از میان سه svRNA شناخته شده در ژنوم ویروس SARS-CoV، توالی svRNA-N در ژنوم SARS-CoV-2 و MERS-CoV به میزان زیادی حفاظت شده است. همچنین پیش بینی گردید که svRNA-N قادر به هدف قرار دادن ۱۳۰ ژن مختلفی که در مسیر پیام رسانی Rap1 بیشتر تمرکز دارند می باشد. همچنین ژن های مربوط به ماژول های پروتئینی بیشتر در مسیر پیام رسانی TGF- $\beta$  تمرکز می یابند.

داده های حاصل از مطالعه حاضر مطالعه بیشتری بر روی نقش svRNA-N در روند بیماری زایی SARS-CoV-2 و امکان استفاده از مولکول آنتی سنس علیه آن به عنوان راهکاری در کاهش آسیب های ریوی کووید-۱۹ را پیشنهاد می دهد.

**واژگان کلیدی:** کووید-۱۹، RNAهای کوچک ویروسی، SARS-CoV-2، مسیر پیام رسانی Rap1

\* نویسنده مسئول:

دکتر امیرحسین احمدی، گروه علوم و فناوری های زیستی، دانشکده علوم، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ایران، پست الکترونیک: [ahahmadi@pgu.ac.ir](mailto:ahahmadi@pgu.ac.ir)

**مقدمه:**

از زمان پیدایش ویروس SARS-CoV-2، عامل بیماری کووید-۱۹ در اواخر سال ۲۰۱۹، جهان با بحرانی جدید در حوزه سلامت رو به رو شده است [۱]. ویروس SARS-CoV-2 هفتمین ویروس شناسایی شده از خانواده کروناویروس است که قادر به بیماری‌زایی در انسان است. ویروس‌های کرونا منجر به ایجاد سرماخوردگی با علائمی مانند تب و گلودرد ناشی از التهاب آدنوئیدها<sup>۲</sup>، به خصوص در فصل زمستان و اوایل بهار می‌شوند [۲]. همچنین ویروس‌های کرونا می‌توانند باعث ایجاد ذات‌الریه و یا برنشیت شوند [۳]. تا پیش از سال ۲۰۰۲ چهار نوع ویروس کرونای HCoV-229E، HCoV-OC43، HKU1 و HCoV-NL63 شناخته شده بودند که عموماً عفونت‌های تنفسی خفیف ایجاد می‌کردند [۴]. در سال ۲۰۰۲ در گوانجو<sup>۴</sup> در جنوب چین ویروس کرونای جدیدی با نام SARS-CoV گزارش شد که تا سال ۲۰۰۳ فعال بود و در این مدت حدود ۸۰۰۰ نفر را مبتلا کرد که ۷۷۴ نفر از آنها جان خود را از دست دادند [۵]. بعد از آن در سپتامبر ۲۰۱۲ گونه‌ی جدیدی از ویروس کرونا برای اولین بار در عربستان سعودی با نام MERS-CoV شناسایی شد که عامل سندروم حاد تنفسی خاورمیانه بود. این ویروس حدود ۲۰۰۰ نفر را مبتلا کرد که ۸۶۶ نفر از آنها جان خود را از دست دادند [۵]. در حال حاضر که جهان با چالش کووید-۱۹ روبه‌روست، تلاش برای شناخت بیشتر مکانیسم‌های بیماری‌زایی ویروس SARS-CoV-2 به منظور یافتن راه‌های مقابله با آن از اهمیت به‌سزایی برخوردار است.

یکی از ابزارهایی که برخی ویروس‌ها برای تاثیر گذاشتن بر میزبان خود به کار می‌گیرند، RNAهای کوچک غیرکدکننده<sup>۵</sup> (ncRNA) هستند [۶، ۷]. امروزه، مشخص شده است که ویروس‌هایی با ژنوم DNA و همچنین ویروس‌هایی با ژنوم RNA، مانند رتروویروس‌ها که در هسته وارد می‌شوند، ncRNAهایی را به شکل میکروRNAها<sup>۶</sup> کدگذاری می‌کنند که در اکثر

یوکاریوت‌ها ترانسکریپتوم میزبان را عموماً از طریق اتصال به توالی محل نشست<sup>۷</sup> (مکانی که نوکلئوتیدهای ۲ تا ۸ میکروRNAها به آن متصل می‌شود) در ناحیه‌ی ترجمه نشدنی<sup>۸</sup> (3'-UTR) در mRNAها به خوبی تنظیم می‌کنند [۷]. علاوه بر miRNAهایی که توسط ژنوم ویروس کدگذاری می‌شوند، افزایش حساسیت فناوری‌های توالی‌یابی باعث شناسایی ncRNAهای کوچک ویروسی شده است که از RNA ویروس‌ها در سیتوپلاسم تولید می‌شوند [۸]. در حالی که ویروس‌های هسته‌ای می‌توانند از مسیر مرسوم تولید میکروRNAها در سلول استفاده کنند، اکثر ویروس‌هایی که ژنوم آن‌ها از RNA است از مسیرهای سیتوپلاسمی جایگزین برای بیان ncRNAهای خود استفاده می‌کنند که برای تمایز از میکروRNAها، RNAهای کوچک ویروسی<sup>۹</sup> (svRNA) نامگذاری می‌شوند [۹]. svRNAها هم در تنظیم چرخه‌ی زندگی ویروس و هم در بیماری‌زایی ویروس نقش ایفا می‌کنند [۸-۱۰]. svRNAها در ویروس‌های کرونا نیز می‌توانند نقش ایفا کنند. اخیراً در ویروس SARS-CoV وجود سه svRNA با نام‌های svRNA-N (واقع در ناحیه‌ی کدکننده‌ی N ویروس)، svRNA-nsp3.1 (واقع در ناحیه کدکننده‌ی nsp3.1) و svRNA-nsp3.2 (واقع در ناحیه کدکننده‌ی nsp3.2) گزارش شده است [۶]. از آنجا که ژنوم SARS-CoV-2 شباهت زیادی به ژنوم ویروس SARS-CoV دارد، هدف از مطالعه‌ی حاضر بررسی بیوانفورماتیکی حضور احتمالی این svRNAها در ژنوم ویروس SARS-CoV-2 و پیش‌بینی ژن‌های هدف و مکانیسم اثرگذاری آن‌ها در سلول میزبان است.

**مواد و روش‌ها:**

### شناسایی توالی‌های مشابه با svRNAهای ویروس SARS-CoV در ژنوم ویروس‌های SARS-CoV-2 و MERS-CoV

به منظور شناسایی توالی‌های مشابه svRNAهای شناخته شده‌ی ویروس SARS-CoV در ژنوم ویروس‌های SARS-CoV-2 و MERS-CoV از بلست نوکلئوتیدی (BLASTN) درگاه NCBI که

<sup>7</sup> Seed sequence<sup>8</sup> 3'-UTR<sup>9</sup> Small viral RNAs<sup>1</sup> COVID-19<sup>2</sup> Coronaviridae<sup>3</sup> Adenoid inflammation<sup>4</sup> Guangzhou<sup>5</sup> Non-coding RNAs<sup>6</sup> miRNAs

رسم شود. افزونه‌ی MCODE برای شناسایی ماژول‌ها<sup>۷</sup> (کمپلکس‌های متشکل از چند پروتئین) در شبکه PPI با معیارهای  $k\text{-core}=2$ ,  $\text{degree cutoff}=2$ ,  $\text{maximum depth}=100$  و  $\text{score cutoff}=0.2$  استفاده شد [۱۳]. همچنین ژن‌های مرکزی در شبکه‌ی PPI با استفاده از افزونه‌ی CytoHubba و بر اساس درجه<sup>۸</sup> شناسایی شدند [۱۴].

### یافته‌ها:

#### توالی svRNA-N در ژنوم SARS-CoV-2 و

MERS-CoV به میزان زیادی حفاظت شده است. نتایج BLASTN نشان داد که در ویروس SARS-CoV-2 توالی مشابه با svRNA-nsp3.1 در ۱۳ نوکلئوتید با آن شباهت دارد (شکل ۱) که این رقم در MERS-CoV برابر ۷ نوکلئوتید بود (شکل ۲). با این حال نوکلئوتیدهای ۲ تا ۸ در این ویروس‌ها کاملاً حفاظت شده نبودند (شکل ۱ و شکل ۲). در مورد svRNA-nsp3.2 توالی مشابه با آن در ویروس SARS-CoV-2 شانزده نوکلئوتید با آن شباهت داشت (شکل ۱)، که این عدد در ویروس MERS-CoV هفت نوکلئوتید بود. با این حال نوکلئوتیدهای ۲ تا ۸ این نوکلئوتیدها نیز که به seed sequence متصل می‌شوند بین این ویروس‌ها کاملاً حفاظت شده نبودند. نتایج BLASTN مربوط به svRNA-N بسیار جالب بود، به طوری که توالی این svRNA تنها در ۳ و ۷ نوکلئوتید به ترتیب در ویروس SARS-CoV-2 و MERS-CoV تفاوت داشت. با این حال توالی نوکلئوتیدهای ۲ تا ۸ در آن‌ها در هر سه ویروس کاملاً حفاظت شده بود (شکل ۱ و شکل ۲).

#### svRNA-N احتمالاً قادر به هدف قرار دادن ۱۳۰

#### ژن از طریق ناحیه‌ی ترجمه نشدنی<sup>۳</sup> است

پیش‌بینی ژن‌های هدف با فرض اتصال نوکلئوتیدهای ۲ تا ۸ توالی svRNA-N به توالی محل نشست نشان داد که ۱۳۰ ژن مختلف از طریق این مکانیسم می‌توانند هدف svRNA-N واقع شوند. نام کامل ژن‌ها در جدول ۱ ارائه شده است.

برای توالی‌های بسیار مشابه بهینه شده بود با شرایط زیر استفاده شد: حدآستانه‌ی مورد انتظار<sup>۱</sup>: ۱۰، اندازه‌ی کلمه<sup>۲</sup>: ۲۸، حداکثر انطباق در دامنه‌ی توالی مورد جستجو<sup>۳</sup>: صفر، امتیاز نسبت انطباق/عدم انطباق<sup>۴</sup>: ۱/۲ و فیلتر: نواحی با پیچیدگی کم. توالی هر یک از svRNA ها در مقابل سی ویروس توالی‌یابی شده در نقاط مختلف دنیا از هریک از ویروس‌های SARS-CoV-2 و MERS-CoV مورد BLASTN قرار گرفت.

#### پیش‌بینی ژن‌های هدف svRNA

با توجه به اینکه svRNA ها همچون miRNA های سلول‌های یوکاریوتی قادرند با هدف قرار دادن ناحیه‌ی ترجمه نشدنی<sup>۳</sup> ژن‌ها، بیان آن‌ها را تحت تاثیر قرار دهند، برای پیش‌بینی ژن‌های هدف svRNA در سلول میزبان، نوکلئوتید ۲ تا ۸ توالی svRNA به عنوان seed sequence در نظر گرفته شد و ژن‌های هدف svRNA با استفاده از ابزار آنالین TargetScanHuman custom version 5.2 پیش‌بینی شدند [۱۱].

#### تجزیه و تحلیل آنتومسیرهای زیستی ژن‌های هدف svRNA

تجزیه و تحلیل بر روی مسیرهای سلولی‌ای که ژن‌های هدف پیش‌بینی شده بیشتر در آن غنی می‌شوند<sup>۵</sup>، با استفاده از ابزار Enrichr به عنوان سرور اینترنتی جامعی که دانش زیستی را برای کشف یافته‌های بیشتر جمع‌آوری می‌کند، انجام شد [۱۲].

#### تجزیه و تحلیل شبکه‌ی برهمکنش‌های پروتئین-پروتئین<sup>۶</sup> (PPI) ژن‌های هدف svRNA، انتخاب

#### ماژول‌ها و شناسایی ژن‌های مرکزی

برای درک برهمکنش بین پروتئین‌هایی که ژن‌های آن‌ها هدف svRNA هستند شبکه‌ی PPI با استفاده از پایگاه داده‌ی STRING (<http://string-db.org/>) رسم شد. برهمکنش‌هایی با سطح اطمینان امتیاز ترکیبی بیش از ۰/۴ وارد نرم‌افزار Cytoscape شد تا شبکه PPI

<sup>1</sup> Expected Threshold

<sup>2</sup> Word Size

<sup>3</sup> Max matches in a query range

<sup>4</sup> Match/Mismatch Scores

<sup>5</sup> Pathway enrichment analysis

<sup>6</sup> Protein-Protein interaction

<sup>7</sup> Modules

<sup>8</sup> Degree

## جدول ۱- فهرست ژن‌های هدف پیش‌بینی شده برای svRNA-N با استفاده از پایگاه داده‌ی Targetscan

| نشانه ژن | نام کامل ژن                                                                       | نشانه ژن | نام کامل ژن                                                           |
|----------|-----------------------------------------------------------------------------------|----------|-----------------------------------------------------------------------|
| DIP2B    | DIP2 disco-interacting protein 2 homolog B (Drosophila)                           | MEG1     | macrophage expressed gene 1                                           |
| FABP3    | fatty acid binding protein 3, muscle and heart (mammary-derived growth inhibitor) | NUFIP2   | nuclear fragile X mental retardation protein interacting protein 2    |
| KLF13    | Kruppel-like factor 13                                                            | OPCML    | opioid binding protein/cell adhesion molecule-like                    |
| ACVR2A   | activin A receptor, type IIA                                                      | PDCD6IP  | programmed cell death 6 interacting protein                           |
| ACVR2B   | activin A receptor, type IIB                                                      | PLEKHB2  | pleckstrin homology domain containing, family B (evectins) member 2   |
| AJAP1    | adherens junctions associated protein 1                                           | POLDIP2  | polymerase (DNA-directed), delta interacting protein 2                |
| BASP1    | brain abundant, membrane attached signal protein 1                                | POM121C  | POM121 membrane glycoprotein C                                        |
| BRD4     | bromodomain containing 4                                                          | PPARGC1A | peroxisome proliferator-activated receptor gamma, coactivator 1 alpha |
| C12orf23 | chromosome 12 open reading frame 23                                               | RAB35    | RAB35, member RAS oncogene family                                     |
| CACNB4   | calcium channel, voltage-dependent, beta 4 subunit                                | RBM33    | RNA binding motif protein 33                                          |
| CAMTA1   | calmodulin binding transcription activator 1                                      | RNF144A  | ring finger protein 144A                                              |
| CSDM1    | CUB and Sushi multiple domains 1                                                  | SCRNI    | secrecin 1                                                            |
| CYP20A1  | cytochrome P450, family 20, subfamily A, polypeptide 1                            | SH2D5    | SH2 domain containing 5                                               |
| DDX6     | DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 6                                          | SH3PXD2A | SH3 and PX domains 2A                                                 |
| DNAJB2   | DnaJ (Hsp40) homolog, subfamily B, member 2                                       | SLC12A8  | solute carrier family 12 (potassium/chloride transporters), member 8  |
| EIF5B    | eukaryotic translation initiation factor 5B                                       | SLC39A14 | solute carrier family 39 (zinc transporter), member 14                |
| FAM178A  | family with sequence similarity 178, member A                                     | SNCA     | synuclein, alpha (non A4 component of amyloid precursor)              |
| FGF7     | fibroblast growth factor 7 (keratinocyte growth factor)                           | SYPL2    | synaptophysin-like 2                                                  |
| FRMD7    | FERM domain containing 7                                                          | TNNI1    | tropoin 1 type 1 (skeletal, slow)                                     |
| GABPB2   | Gα binding protein transcription factor, beta subunit 2                           | UBE2R2   | ubiquitin-conjugating enzyme E2R 2                                    |
| GRSF1    | G-rich RNA sequence binding factor 1                                              | ZHX4     | zinc finger homebox 4                                                 |
| HGF      | hepatocyte growth factor (hepatopoietin A; scatter factor)                        | ZKSCAN1  | zinc finger with KRAB and SCAN domains 1                              |
| HTRA2    | HtrA serine peptidase 2                                                           | ZNF608   | zinc finger protein 608                                               |
| KIAA1244 | KIAA1244                                                                          | ACIN1    | apoptotic chromatin condensation inducer 1                            |
| KIF24    | kinesin family member 24                                                          | ADCY6    | adenylate cyclase 6                                                   |



## ادامه جدول ۱- فهرست ژن های هدف پیش بینی شده برای svRNA-N با استفاده از پایگاه داده‌ی Targetscan

| نشانه ژن  | نام کامل ژن                                                                                    | نشانه ژن | نام کامل ژن                                          |
|-----------|------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|------------------------------------------------------|
| MAP1B     | microtubule-associated protein 1B                                                              | ADRB2    | adrenergic, beta-2-, receptor, surface               |
| MECP2     | methy CpG binding protein 2 (Rett syndrome)                                                    | BBS12    | Bardet-Biedl syndrome 12                             |
| MEEN1     | multiple endocrine neoplasia 1                                                                 | BCL11A   | B-cell CLL/lymphoma 11A (zinc finger protein)        |
| MIER3     | mesoderm induction early response 1, family member 3                                           | BMP8A    | bone morphogenetic protein 8a                        |
| C14orf101 | chromosome 14 open reading frame 101                                                           | TNRC6A   | trinucleotide repeat containing 6A                   |
| CD44      | CD44 molecule (Indian blood group)                                                             | TUB      | tubby homolog (mouse)                                |
| COQ9      | coenzyme Q9 homolog (S. cerevisiae)                                                            | WNK3     | WNK lysine deficient protein kinase 3                |
| CUL3      | cullin 3                                                                                       | YES1     | v-yes-1 Yamaguchi sarcoma viral oncogene homolog 1   |
| ETV5      | ets variant gene 5 (ets-related molecule)                                                      | ZEB2     | zinc finger E-box binding homeobox 2                 |
| FXR1      | fragile X mental retardation, autosomal homolog 1                                              | ZNF280C  | zinc finger protein 280C                             |
| GABRE     | gamma-aminobutyric acid (GABA) A receptor, epsilon                                             | ZNF346   | zinc finger protein 346                              |
| GALNT2    | UDP-N-acetyl-alpha-D-galactosamine:polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase 2 (GalNAc-T2) | C11orf57 | chromosome 11 open reading frame 57                  |
| GATAD2B   | GATA zinc finger domain containing 2B                                                          | C12orf12 | chromosome 12 open reading frame 12                  |
| GNL3L     | guanine nucleotide binding protein-like 3 (nuclear)-like                                       | C1orf144 | chromosome 1 open reading frame 144                  |
| IGSF22    | immunoglobulin superfamily, member 22                                                          | C2orf67  | chromosome 2 open reading frame 67                   |
| KIF3B     | kinesin family member 3B                                                                       | C6orf106 | chromosome 6 open reading frame 106                  |
| LASS6     | LAG1 homolog, ceramide synthase 6                                                              | CALM1    | calmodulin 1 (phosphorylase kinase, delta)           |
| LOC387856 | similar to expressed sequence A1836003                                                         | CAP2     | CAP, adenylate cyclase-associated protein, 2 (yeast) |
| LPHN1     | latrophilin 1                                                                                  | CDC4     | coiled-coil domain containing 4                      |
| NABP3     | Nedd4 binding protein 3                                                                        | DGKI     | diacylglycerol kinase, iota                          |
| NAV1      | neuron navigator 1                                                                             | DOCK4    | dedicator of cytokinesis 4                           |
| PDYN      | Prodynorphin                                                                                   | FAM166B  | family with sequence similarity 166, member B        |
| SLC30A7   | solute carrier family 30 (zinc transporter), member 7                                          | FAM70A   | family with sequence similarity 70, member A         |
| SOC56     | suppressor of cytokine signaling 6                                                             | GATAD2A  | GATA zinc finger domain containing 2A                |

## ادامه جدول ۱- فهرست ژن‌های هدف پیش‌بینی شده برای svRNA-N با استفاده از پایگاه داده‌ی Targetscan

| نشانه ژن         | نام کامل ژن                                                               | نشانه ژن   | نام کامل ژن                                                                   |
|------------------|---------------------------------------------------------------------------|------------|-------------------------------------------------------------------------------|
| SPIN1            | spindlin 1                                                                | GPRC5B     | G protein-coupled receptor, family C, group 5, member B                       |
| ST7L             | suppression of tumorigenicity 7 like                                      | HLF        | hepatic leukemia factor                                                       |
| TEAD1            | TEA domain family member 1 (SV40 transcriptional enhancer factor)         | KAT2B      | K(lysine) acetyltransferase 2B                                                |
| TM9SF4           | transmembrane 9 superfamily protein member 4                              | KCNK1      | potassium voltage-gated channel, Shaw-related subfamily, member 1             |
| KDEL R2          | KDEL (Lys-Asp-Glu-Leu) endoplasmic reticulum protein retention receptor 2 | PTPRD      | protein tyrosine phosphatase, receptor type, D                                |
| KIAA1688         | KIAA1688 protein                                                          | RAP2B      | RAP2B, member of RAS oncogene family                                          |
| KLHL28           | kelch-like 28 (Drosophila)                                                | SEC14L5    | SEC14-like 5 (S. cerevisiae)                                                  |
| LOC129881        | hypothetical LOC129881                                                    | SENP1      | SUMO1/sentrin specific peptidase 1                                            |
| MAF <sup>1</sup> | v-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homolog (avian)            | SORCS1     | sortilin-related VPS10 domain containing receptor 1                           |
| MAP4K5           | mitogen-activated protein kinase kinase kinase 5                          | TET1       | tel oncogene 1                                                                |
| NCOA1            | nuclear receptor coactivator 1                                            | TFAP2A     | transcription factor AP-2 alpha (activating enhancer binding protein 2 alpha) |
| NDNL2            | necdin-like 2                                                             | TP53INP2   | tumor protein p53 inducible nuclear protein 2                                 |
| NPEPPS           | aminopeptidase puromycin sensitive                                        | ZBTB1      | zinc finger and BTB domain containing 1                                       |
| NUAK1            | NUAK family, SNF1-like kinase, 1                                          | ZFP90      | zinc finger protein 90 homolog (mouse)                                        |
| PACGIN1          | protein kinase C and casein kinase substrate in neurons 1                 | tcag7.1228 | hypothetical protein FLJ25778                                                 |
| PIK3R1           | phosphoinositide-3-kinase, regulatory subunit 1 (alpha)                   | PPM1H      | protein phosphatase 1H (PP2C domain containing)                               |



| Accession number | توالی svRNA-N       | توالی svRNA-nsp3.1 | توالی svRNA-nsp3.2     |
|------------------|---------------------|--------------------|------------------------|
| * NC_004718.3    | AGGAACTGGCCAGAGCTTC | GAGGAAGAAGAGGACGAT | GAGGAAGAAGAAGAGGAGACT  |
| 1 MT671827.1     | AGGAACTGGCCAGAGCTGG | GAAGAAGAAGAGTTTGAG | GAGGATGAAGAAGAAGGTGATT |
| 2 MT666099.1     | AGGAACTGGCCAGAGCTGG | GAAGAAGAAGAGTTTGAG | GAGGATGAAGAAGAAGGTGATT |
| 3 MT665028.1     | AGGAACTGGCCAGAGCTGG | GAAGAAGAAGAGTTTGAG | GAGGATGAAGAAGAAGGTGATT |
| 4 MT661524.1     | AGGAACTGGCCAGAGCTGG | GAAGAAGAAGAGTTTGAG | GAGGATGAAGAAGAAGGTGATT |
| 5 MT655135.1     | AGGAACTGGCCAGAGCTGG | GAAGAAGAAGAGTTTGAG | GAGGATGAAGAAGAAGGTGATT |
| 6 MT653108.1     | AGGAACTGGCCAGAGCTGG | GAAGAAGAAGAGTTTGAG | GAGGATGAAGAAGAAGGTGATT |
| 7 MT646036.1     | AGGAACTGGCCAGAGCTGG | GAAGAAGAAGAGTTTGAG | GAGGATGAAGAAGAAGGTGATT |
| 8 MT644268.1     | AGGAACTGGCCAGAGCTGG | GAAGAAGAAGAGTTTGAG | GAGGATGAAGAAGAAGGTGATT |
| 9 MT641775.1     | AGGAACTGGCCAGAGCTGG | GAAGAAGAAGAGTTTGAG | GAGGATGAAGAAGAAGGTGATT |
| 10 MT641761.1    | AGGAACTGGCCAGAGCTGG | GAAGAAGAAGAGTTTGAG | GAGGATGAAGAAGAAGGTGATT |
| 11 MT635445.1    | AGGAACTGGCCAGAGCTGG | GAAGAAGAAGAGTTTGAG | GAGGATGAAGAAGAAGGTGATT |
| 12 MT630427.1    | AGGAACTGGCCAGAGCTGG | GAAGAAGAAGAGTTTGAG | GAGGATGAAGAAGAAGGTGATT |
| 13 LC553270.1    | AGGAACTGGCCAGAGCTGG | GAAGAAGAAGAGTTTGAG | GAGGATGAAGAAGAAGGTGATT |
| 14 LC553270.1    | AGGAACTGGCCAGAGCTGG | GAAGAAGAAGAGTTTGAG | GAGGATGAAGAAGAAGGTGATT |
| 15 MT612303.1    | AGGAACTGGCCAGAGCTGG | GAAGAAGAAGAGTTTGAG | GAGGATGAAGAAGAAGGTGATT |
| 16 MT510700.1    | AGGAACTGGCCAGAGCTGG | GAAGAAGAAGAGTTTGAG | GAGGATGAAGAAGAAGGTGATT |
| 17 MT607604.1    | AGGAACTGGCCAGAGCTGG | GAAGAAGAAGAGTTTGAG | GAGGATGAAGAAGAAGGTGATT |
| 18 MT605818.1    | AGGAACTGGCCAGAGCTGG | GAAGAAGAAGAGTTTGAG | GAGGATGAAGAAGAAGGTGATT |
| 19 MT479225.1    | AGGAACTGGCCAGAGCTGG | GAAGAAGAAGAGTTTGAG | GAGGATGAAGAAGAAGGTGATT |
| 20 MT582497.1    | AGGAACTGGCCAGAGCTGG | GAAGAAGAAGAGTTTGAG | GAGGATGAAGAAGAAGGTGATT |
| 21 MT499218.1    | AGGAACTGGCCAGAGCTGG | GAAGAAGAAGAGTTTGAG | GAGGATGAAGAAGAAGGTGATT |
| 22 MT576584.1    | AGGAACTGGCCAGAGCTGG | GAAGAAGAAGAGTTTGAG | GAGGATGAAGAAGAAGGTGATT |
| 23 MT576645.1    | AGGAACTGGCCAGAGCTGG | GAAGAAGAAGAGTTTGAG | GAGGATGAAGAAGAAGGTGATT |
| 24 MT569474.1    | AGGAACTGGCCAGAGCTGG | GAAGAAGAAGAGTTTGAG | GAGGATGAAGAAGAAGGTGATT |
| 25 MT568643.1    | AGGAACTGGCCAGAGCTGG | GAAGAAGAAGAGTTTGAG | GAGGATGAAGAAGAAGGTGATT |
| 26 MT558703.1    | AGGAACTGGCCAGAGCTGG | GAAGAAGAAGAGTTTGAG | GAGGATGAAGAAGAAGGTGATT |
| 27 MT510744.1    | AGGAACTGGCCAGAGCTGG | GAAGAAGAAGAGTTTGAG | GAGGATGAAGAAGAAGGTGATT |
| 28 MT407659.1    | AGGAACTGGCCAGAGCTGG | GAAGAAGAAGAGTTTGAG | GAGGATGAAGAAGAAGGTGATT |
| 29 MT536184.1    | AGGAACTGGCCAGAGCTGG | GAAGAAGAAGAGTTTGAG | GAGGATGAAGAAGAAGGTGATT |
| 30 MT534285.1    | AGGAACTGGCCAGAGCTGG | GAAGAAGAAGAGTTTGAG | GAGGATGAAGAAGAAGGTGATT |

شکل ۱ - توالی svRNA های شناخته شده در ویروس SARS-CoV و نتایج BLASTN علیه ۳۰ ویروس SARS-CoV-2. ردیفی که با ستاره نشان داده شده است توالی های مربوط به ویروس SARS-CoV می باشد. پس زمینه ی زرد نوکلئوتیدهای حفاظت شده را نشان می دهد. نوکلئوتیدهای حفاظت نشده در توالی های svRNA با رنگ قرمز مشخص شده اند.

شد (ماژول ۱ تا ۳ در شکل ۴). ماژول اول شامل ۴ ژن، ماژول دوم شامل ۳ ژن و ماژول سوم شامل ۱۱ ژن بود. همانطور که در شکل ۳ قسمت ج مشاهده می شود بررسی مسیر KEGG با استفاده از Enrichr بر روی این سه ماژول نشان داد که ژن های این سه ماژول (*ACVR2A* و *ACVR2B*، *BMP8A*) بیشتر در مسیر TGF- $\beta$  تمرکز می یابند ( $P\text{-value}=0.00006$ ). بررسی مسیر KEGG بر روی ۱۰ ژن مرکزی شبکه PPI نیز نشان داد ژن های این شبکه بیشتر در مسیر پروتئولیکان در سرطان ( $P\text{-value}=0.00011$ )، مسیر پیام رسانی Rap1 ( $P\text{-value}=0.00012$ ) و عفونت ویروس نوع یک لوسمی سلول های T انسانی<sup>۱</sup> ( $P\text{-value}=0.00014$ ) تمرکز می یابند (شکل ۳ قسمت ب).

ژن های هدف svRNA-N بیشتر در مسیر پیام رسانی Rap1 نقش آفرینی می کنند بررسی زیست شناسی سیستمی ژن های هدف با استفاده از ابزار آنالین Enrichr در میان مسیرهای KEGG نشان داد که ژن های هدف svRNA-N (*DOCK4*، *ADCY6*، *CALM1*، *PIK3R1*، *HGF*، *FGF7*) بیشتر در مسیر پیام رسانی Rap1 نقش آفرینی می کنند ( $P\text{-value}=0.002$ ) (شکل ۳-الف). پس از آن ژن های *ADCY6* و *PIK3R1* در مسیر تنظیم لیپولیز در آدیپوسیت ها ( $P\text{-value}=0.005$ ) هستند. همچنین در میان مسیرهای مختلف مسیر پیام رسانی TGF- $\beta$  نیز مشاهده می شود ( $P\text{-value}=0.002$ ). سه ماژول پروتئینی اول در شبکه PPI بیشتر در مسیر TGF- $\beta$  نقش آفرینی می کنند.

پس از ترسیم شبکه PPI (شکل ۴) با استفاده از افزونه ی MCODE سه ماژول پروتئینی در این شبکه شناسایی

<sup>1</sup> Human T-cell leukemia virus type I

| Accession number | توالی svRNA-N          | توالی svRNA-nsp3.1  | توالی svRNA-nsp3.2     |
|------------------|------------------------|---------------------|------------------------|
| * NC_004718.3    | AGGAACTGGCCCAAGCTTC    | GAGGAAGAAGAGGACGAT  | GAACAAGAAGATGCTTGGTCTG |
| 1 MG596803.1     | TGGAACCTGGACCAGAAGCTAA | GAACAAGAAGATGCTTGG  | GTGCAAGAAGAAGCACAACCAG |
| 2 MF598712.1     | TGGAACCTGGACCCGAAGCAGC | TTAGAAGAAGGTGAATCA  | TCTAAAGAAGATCTACATACAT |
| 3 KJ361500.1     | TGGAACCTGGACCCGAAGCAGC | CCTAAAGAAGACGGCGAT  | GTGCAAGAAGAAGCACAACCAG |
| 4 KX108939.1     | TGGAACCTGGACCCGAAGCAGC | GTGCAAGAAGAAGCACAAC | GATAAAGAAGAACTAATATTT  |
| 5 MG021451.1     | TGGAACAGGACCAGAAGCTAA  | GATAAAGAAGAACTAAT   | GTGCAAGAAGAAGCACAACCAG |
| 6 MN481983.1     | TGGAACCTGGACCCGAAGCAGC | GTGCAAGAAGAAGCACAAC | GTGCAAGAAGAAGCACAACCAG |
| 7 MN723544.1     | TGGAACCTGGACCCGAAGCAGC | GTGCAAGAAGAAGCACAAC | GTGCAAGAAGAAGCACAACCAG |
| 8 MK280984.2     | TGGAACCTGGACCCGAAGCAGC | GTGCAAGAAGAAGCACAAC | GTGCAAGAAGAAGCACAACCAG |
| 9 MK483839.1     | TGGAACCTGGACCCGAAGCAGC | GTGCAAGAAGAAGCACAAC | GTGCAAGAAGAAGCACAACCAG |
| 10 MK129253.1    | TGGAACCTGGACCCGAAGCAGC | GTGCAAGAAGAAGCACAAC | GTGCAAGAAGAAGCACAACCAG |
| 11 MT675270.1    | TGGAACCTGGACCCGAAGCAGC | GTGCAAGAAGAAGCACAAC | GAACAAGAAGATGCTTGGTCTG |
| 12 MG596802.1    | TGGAACCTGGACCCGAAGCTAA | GTGCAAGAAGAAGCACAAC | GTGCAAGAAGAAGCACAACCAG |
| 13 MN481981.1    | TGGAACCTGGACCCGAAGCAGC | GTGCAAGAAGAAGCACAAC | GTGCAAGAAGAAGCACAACCAG |
| 14 MN723542.1    | TGGAACCTGGACCCGAAGCAGC | GTGCAAGAAGAAGCACAAC | GTGCAAGAAGAAGCACAACCAG |
| 15 MN365232.1    | TGGAACCTGGACCCGAAGCAGC | GTGCAAGAAGAAGCACAAC | GTGCAAGAAGAAGCACAACCAG |
| 16 MK462255.1    | TGGAACCTGGACCCGAAGCAGC | GTGCAAGAAGAAGCACAAC | GTGCAAGAAGAAGCACAACCAG |
| 17 MH310910.1    | TGGAACCTGGACCCGAAGCAGC | GTGCAAGAAGAAGCACAAC | GTGCAAGAAGAAGCACAACCAG |
| 18 MT675268.1    | TGGAACCTGGACCCGAAGCAGC | GTGCAAGAAGAAGCACAAC | GTGCAAGAAGAAGCACAACCAG |
| 19 MT576585.1    | TGGAACCTGGACCCGAAGCAGC | GTGCAAGAAGAAGCACAAC | GTGCAAGAAGAAGCACAACCAG |
| 20 KY688123.1    | TGGAACCTGGACCCGAAGCAGC | GTGCAAGAAGAAGCACAAC | GTGCAAGAAGAAGCACAACCAG |
| 21 KY581690.1    | TGGAACCTGGACCCGAAGCAGC | GTGCAAGAAGAAGCACAAC | GTGCAAGAAGAAGCACAACCAG |
| 22 MG011341.1    | TGGAACCTGGACCCGAAGCAGC | GTGCAAGAAGAAGCACAAC | GTGCAAGAAGAAGCACAACCAG |
| 23 KX154688.1    | TGGAACCTGGACCCGAAGCAGC | GTGCAAGAAGAAGCACAAC | GTGCAAGAAGAAGCACAACCAG |
| 24 KX108937.1    | TGGAACCTGGACCCGAAGCAGC | GTGCAAGAAGAAGCACAAC | GTGCAAGAAGAAGCACAACCAG |
| 25 KX034097.1    | TGGAACCTGGACCCGAAGCAGC | GTGCAAGAAGAAGCACAAC | GTGCAAGAAGAAGCACAACCAG |
| 26 MF598703.1    | TGGAACCTGGACCCGAAGCAGC | GTGCAAGAAGAAGCACAAC | GTGCAAGAAGAAGCACAACCAG |
| 27 MG011360.1    | TGGAACCTGGACCCGAAGCAGC | GTGCAAGAAGAAGCACAAC | GTGCAAGAAGAAGCACAACCAG |
| 28 KX108941.1    | TGGAACCTGGACCCGAAGCAGC | GTGCAAGAAGAAGCACAAC | GTGCAAGAAGAAGCACAACCAG |
| 29 KX034098.1    | TGGAACCTGGACCCGAAGCAGC | GTGCAAGAAGAAGCACAAC | GTGCAAGAAGAAGCACAACCAG |
| 30 MT576585.1    | TGGAACCTGGACCCGAAGCAGC | GTGCAAGAAGAAGCACAAC | GTGCAAGAAGAAGCACAACCAG |

شکل ۲ - توالی svRNAهای شناخته شده در ویروس SARS-CoV و نتایج BLASTN علیه ۳۰ ویروس MERS-CoV. ردیفی که با ستاره نشان داده شده است توالی‌های مربوط به ویروس SARS-CoV می‌باشد. پس‌زمینه‌ی زرد نوکلئوتیدهای حفاظت‌شده را نشان می‌دهد. نوکلئوتیدهای حفاظت‌نشده در توالی‌های svRNA با رنگ قرمز مشخص شده‌اند.

## بحث و نتیجه‌گیری:

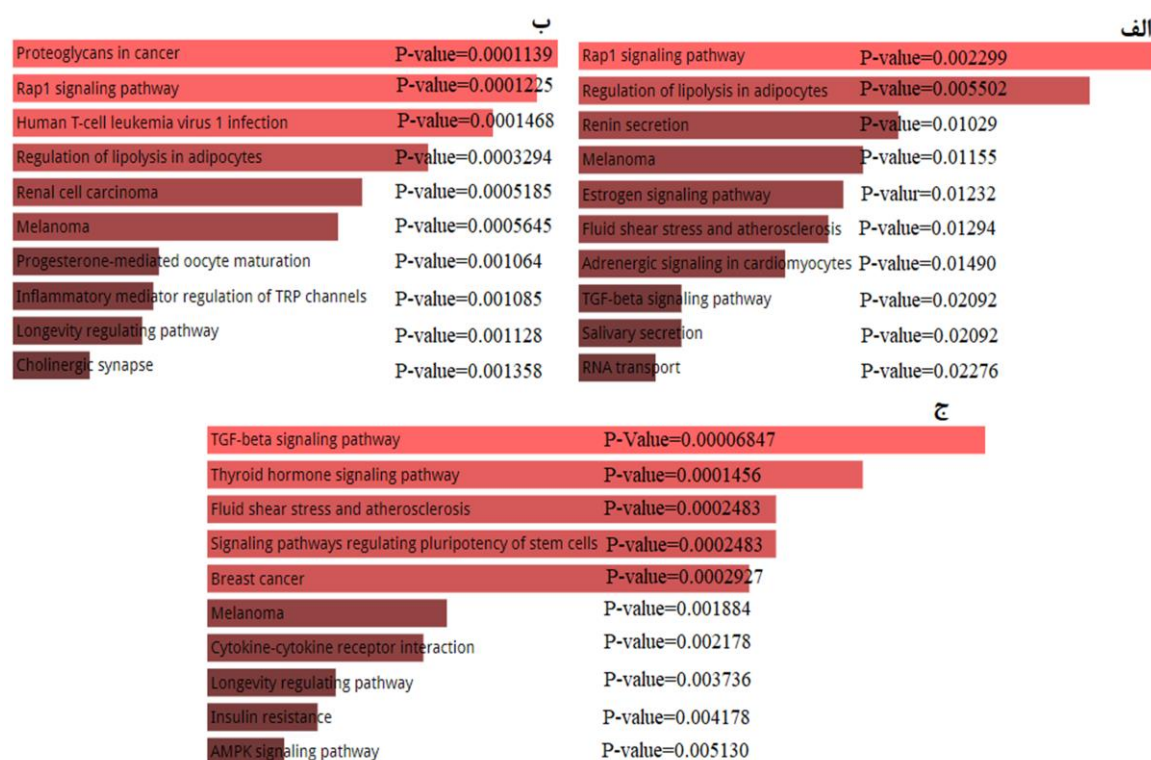
فضای آلفولار و کاهش خونریزی ریه می‌شود [۶]. بنابراین مطالعه‌ی ما بررسی تجربی بر روی نقش svRNA-N در SARS-CoV-2 و امکان استفاده از LNA علیه آن را در کنترل بیماری COVID-19 پیشنهاد می‌دهد.

همچنین مطالعه‌ی ما نشان داد که ۱۳۰ ژن مختلف می‌توانند هدف svRNA-N قرار گیرند که مسیر پیام‌رسانی Rap1 از نظر تمرکز ژن‌های هدف بالاترین امتیاز را در مسیرهای KEGG دارد. همچنین ۱۰ ژن مرکزی شبکه‌ی PPI نیز بیشتر در مسیر Rap1 تمرکز می‌یابند. این یافته از این نظر جالب است که بیشتر نشان داده شده است که اختلال در مسیر پیام‌رسانی Rap1 در ماکروفاژهای M2 باعث افزایش بیان سیتوکین‌های التهابی IL-1 $\beta$  و IL-6 می‌شود [۱۵]. این دو از جمله سیتوکین‌های غالب در بیماری کووید-۱۹ هستند [۱۶].

مطالعه‌ی حاضر برای اولین بار به بررسی نقش svRNAها در بیماری‌زایی ویروس SARS-CoV-2 پرداخته است. نتایج این مطالعه نشان داد که توالی svRNA-N که پیش از این در ویروس SARS-CoV شناخته شده بود با محافظت‌شدگی بالایی در هر دو ویروس SARS-CoV-2 و MERS-CoV وجود دارد که نقشی مشابه با آنچه که در ویروس SARS-CoV گزارش شده را پیشنهاد می‌دهد. این محافظت‌شدگی از این نظر حائز اهمیت است که مورالس و همکارانش پیشتر نشان داده‌اند که تیمار LNA<sup>۱</sup> علیه svRNA-N از طریق بینی، پیش از آلوده شدن مدل موشی به SARS-CoV-MA15-WT، گرچه تأثیری بر تکثیر ویروس ندارد، باعث کاهش چشمگیر التهاب، باز ماندن

<sup>1</sup> Locked nucleic acids





شکل ۳ - نتایج بررسی تمرکز ژن های هدف svRNA-N با پایگاه Enrichr.

الف) بررسی تمرکز ژن های هدف svRNA-N در مسیرهای KEGG.

ب) بررسی تمرکز ژن های مرکزی در شبکه پروتئین-پروتئین ژن های هدف svRNA-N در مسیرهای KEGG.

ج) بررسی تمرکز ژن های مربوط به ماژول های پروتئینی شناخته شده در شبکه پروتئین-پروتئین ژن های هدف svRNA-N در مسیرهای KEGG. رنگ قرمز روشن تر نشان دهنده معنادارتر بودن داده است.

[۱۹]. از طرف دیگر ژن *FGF7* که کدکننده فاکتور رشد فیبروبلاستی<sup>۳</sup> می باشد و در مسیر پیام رسانی Rap1 هدف svRNA-N قرار می گیرد نیز می تواند با تاثیرگذاری بر اینفیلتراسیون لنفوسیت های T در بافت هدف سیستم ایمنی را تحت تاثیر قرار دهد [۲۰].

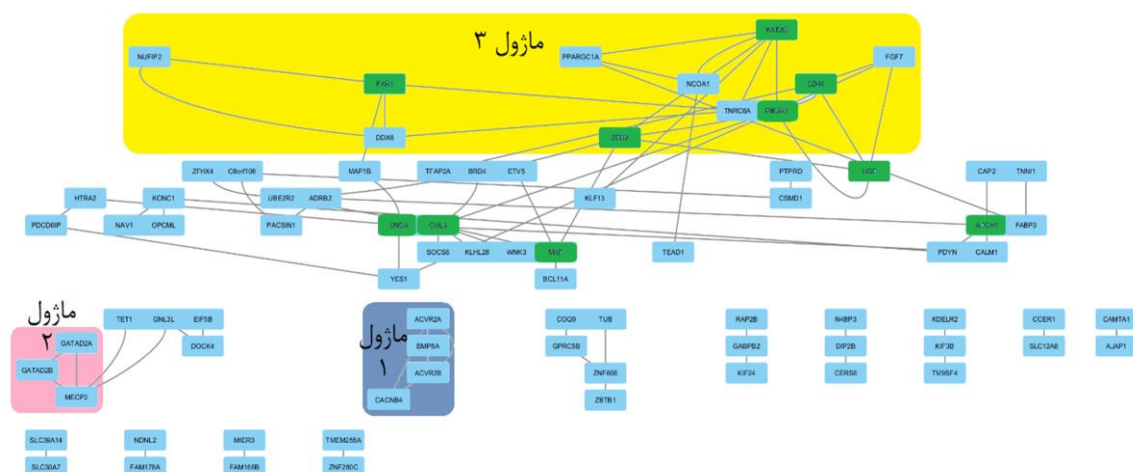
همچنین نتایج ما نشان دهنده وجود ۳ ماژول پروتئینی در شبکه ی PPI ژن های هدف svRNA-N بود. بررسی تمرکز ژن های این سه ماژول در مسیرهای KEGG نشان داد که svRNA-N احتمالاً با هدف قرار دادن ژن های *ACVR2A*، *ACVR2B*، *BMP8A* بر مسیر  $TGF-\beta$  تاثیر می گذارد. جالب توجه است که به تازگی مشخص شده است که *BMP8A* نقش مهمی در ایمنی ضد ویروسی از طریق القای تولید اینترفرون نوع یک در

که توسط ماکروفاژهای M2 آلئولار<sup>۱</sup> و فضای بینابینی ترشح می شوند [۱۷]. همچنین جالب توجه است که در میان ژن هایی که در مسیر پیام رسانی Rap1 هدف svRNA-N قرار می گیرند، ژن *PIK3R1* وجود دارد که نقص در عملکرد آن منجر به بیماری نقص ایمنی در انسان از طریق فعال شدن بیش از حد مسیر پیام رسانی PI3K دلتا<sup>۲</sup> در سلول های ایمنی می شود [۱۸]. علاوه بر این، ژن *HGF* که فاکتور رشد هیپاتوسیتی را کد می کند نیز هدف svRNA-N قرار می گیرد. یافته های پیشین نشان می دهند که فاکتور رشد هیپاتوسیتی با اتصال به گیرنده ی خود به نام Met، از جمله در ریه می تواند به عنوان تنظیم گر سیستم ایمنی از طریق سرکوب سلول های دندریتیک عمل کند و التهاب را کاهش دهد

<sup>1</sup> Alveolar macrophages

<sup>2</sup> PI3K $\delta$

<sup>3</sup> Fibroblast growth Factor 7



شکل ۴ - ترسیم شبکه‌ی پروتئین-پروتئین ژن‌های هدف *svRNA* با نرم‌افزار *Cytoscape*. داده‌های مربوط به برهمکنش پروتئین‌های مربوط به ۱۳۰ ژن هدف *svRNA-N* با استفاده از پایگاه *STRING* استخراج و با نرم‌افزار *Cytoscape* ترسیم شد. ژن‌های مرکزی در این شبکه با افزونه *cytohubba* مشخص گردیدند که با رنگ سبز نشان داده شده‌اند. همچنین سه ماژول پروتئینی در شبکه با استفاده از افزونه‌ی *MCODE* به دست آمد که با رنگ‌های بنفش، زرد و صورتی مشخص شده است.

### سپاسگزاری:

نویسندگان از مدیریت پژوهشی دانشگاه خلیج فارس که امکان اجرای این تحقیق را مهیا کرده است کمال تشکر را دارند.

### منابع:

- 1) Yang P, Wang X. COVID-19: a new challenge for human beings. *Cellular & Molecular Immunology*. 2020;17(5):555-557.
- 2) Liu P, Shi L, Zhang W, et al. Prevalence and genetic diversity analysis of human coronaviruses among cross-border children. *Virology Journal*. 2017;14(1):230.
- 3) Koo HJ, Lim S, Choe J, et al. Radiographic and CT features of viral pneumonia. *Radiographics*. 2018;38(3):719-739.
- 4) Liu DX, Liang JQ, Fung TS. Human Coronavirus-229E,-OC43,-NL63, and-HKU1. Reference Module in Life Sciences. 2020. B978-0-12-809633-8.21501-X. doi: 10.1016/B978-0-12-809633-8.21501-X.
- 5) Guarner J. Three emerging coronaviruses in two decades: the story of SARS, MERS, and now COVID-19. *Oxford University Press US; American Journal of Clinical Pathology*. 2020;153(4):420-421.
- 6) Morales L, Oliveros JC, Fernandez-Delgado R, et al. SARS-CoV-encoded small RNAs contribute to infection-associated lung

پاسخ به عفونت ویروسی ایفا می‌کند [۲۱]. به علاوه *ACVR2A* احتمالاً در تمایز لنفوسیت‌های T کمک کننده‌ی Th17 نقش دارد [۲۲] که برهم خوردن تنظیم بیان آن توسط *svRNA-N* می‌تواند توضیحی برای افزایش میزان Th17 در بیماران مبتلا به کووید-۱۹ باشد [۲۳].

به رغم نتایج به دست آمده مطالعه‌ی حاضر محدودیت‌هایی را نیز دارد. اول اینکه تمامی توالی‌های ثبت شده برای ویروس‌های SARS-CoV-2 و MERS-CoV در این مطالعه بررسی نشده است، بنابراین امکان جهش در توالی *svRNA-N* به خصوص در نوکلئوتیدهای ۲ تا ۸ آن در سایر ویروس‌های ثبت شده محتمل است. دوم اینکه مطالعه‌ی حاضر، برای یافتن ژن‌های هدف *svRNA-N* تنها مکانیسم اثر آن بر 3'-UTR را در نظر گرفته است و بنابراین احتمال دارد ژن‌های هدف دیگری نیز که از طریق مکانیسم‌های دیگر هدف قرار می‌گیرند وجود داشته باشند. به طور کلی با وجود این محدودیت‌ها داده‌های حاصل از مطالعه‌ی حاضر بر اهمیت مطالعه‌ی بیشتر بر روی *svRNA-N* در روند بیماری‌زایی SARS-CoV-2 و بررسی امکان استفاده از مولکول آنتی‌سنس علیه آن به عنوان راهکاری در کاهش آسیب‌های ریوی COVID-19 تاکید دارد.

- 19) Okunishi K, Dohi M, Nakagome K, et al. A novel role of hepatocyte growth factor as an immune regulator through suppressing dendritic cell function. *The Journal of Immunology*. 2005;175(7):4745-4753.
- 20) Deng H, Kan A, Lyu N, et al. Dual vascular endothelial growth factor receptor and fibroblast growth factor receptor inhibition elicits antitumor immunity and enhances programmed cell death-1 checkpoint blockade in hepatocellular carcinoma. *Liver Cancer*. 2020;9(3):325-344.
- 21) Zhong S, Li H, Wang Y, et al. Bmp8a Is a novel player in regulation of antiviral immunity. *BioRxiv*. 2020.
- 22) Ihn H-j, Kim DH, Oh S-S, et al. Identification of Acvr2a as a Th17 cell-specific gene induced during Th17 differentiation. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 2011;75(11):2138-2141.
- 23) Muyayalo KP, Huang DH, Zhao SJ, et al. COVID-19 and Treg/Th17 imbalance: potential relationship to pregnancy outcomes. *American Journal of Reproductive Immunology*. 2020;e13304.
- pathology. *Cell Host & Microbe*. 2017;21(3):344-355.
- 7) Tycowski KT, Guo YE, Lee N, et al. Viral noncoding RNAs: more surprises. *Genes & Development*. 2015;29(6):567-584.
- 8) Weng K-F, Hung C-T, Hsieh P-T, et al. A cytoplasmic RNA virus generates functional viral small RNAs and regulates viral IRES activity in mammalian cells. *Nucleic Acids Research*. 2014;42(20):12789-12805.
- 9) Bidet K, Dadlani D, Garcia-Blanco MA. G3BP1, G3BP2 and CAPRIN1 are required for translation of interferon stimulated mRNAs and are targeted by a dengue virus non-coding RNA. *PLoS Pathogens*. 2014;10(7):e1004242.
- 10) Roby JA, Pijlman GP, Wilusz J, Khromykh AA. Noncoding subgenomic flavivirus RNA: multiple functions in West Nile virus pathogenesis and modulation of host responses. *Viruses*. 2014;6(2):404-427.
- 11) Agarwal V, Bell GW, Nam J-W, Bartel DP. Predicting effective microRNA target sites in mammalian mRNAs. *eLife*. 2015;4:e05005.
- 12) Chen EY, Tan CM, Kou Y, et al. Enrichr: interactive and collaborative HTML5 gene list enrichment analysis tool. *BMC Bioinformatics*. 2013;14(1):128.
- 13) Su G, Morris JH, Demchak B, Bader GD. Biological network exploration with Cytoscape 3. *Current Protocols in Bioinformatics*. 2014;47(1):8.13.1-8.13.24.
- 14) Chin C-H, Chen S-H, Wu H-H, et al. CytoHubba: identifying hub objects and sub-networks from complex interactome. *BMC Systems Biology*. 2014;8(S4):S11.
- 15) Cai Y, Sukhova GK, Wong HK, et al. Rap1 induces cytokine production in pro-inflammatory macrophages through NFκB signaling and is highly expressed in human atherosclerotic lesions. *Cell Cycle*. 2015;14(22):3580-3592.
- 16) Cauchois R, Koubi M, Delarbre D, et al. Early IL-1 receptor blockade in severe inflammatory respiratory failure complicating COVID-19. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2020;117(32):18951-18953.
- 17) Abassi Z, Knaney Y, Karram T, Heyman SN. The lung macrophage in SARS-CoV-2 infection: a friend or a foe? *Frontiers in Immunology*. 2020;11:1312.
- 18) Deau M-C, Heurtier L, Frange P, et al. A human immunodeficiency caused by mutations in the PIK3R1 gene. *The Journal of Clinical Investigation*. 2014;124(9):3923-3928.

# Bioinformatics Analysis of the Possible Role of Small Viral RNAs in SARS-CoV-2 Pathogenesis

Ensie Khademolhosseini<sup>1</sup>, Amirhossein Ahmadi<sup>1\*</sup>, Seyed Javad Hosseini<sup>1</sup>

1) Department of Biological Science and Technology, Faculty of Science, Persian Gulf University, Bushehr, Iran

## Abstract:

Since the emergence of SARS-CoV-2 virus in November 2019, COVID-19 has become the biggest challenge in the world, especially when there is still no effective vaccine available. Understanding the mechanisms of SARS-CoV-2 pathogenesis will guide to find suitable treatments for this disease. Recently, the role of small viral RNAs (svRNAs) in the SARS-CoV pathogenesis has been considered. Regarding to high similarity between SARS-CoV and SARS-CoV-2 genome, this in silico study was aimed to find existence of svRNAs in the SARS-CoV-2 genome and indicate their target genes in the human cells.

The BLASTN method was run to find if the three svRNAs of SARS-CoV have similar sequences to those in the SARS-CoV-2 and MERS-CoV genome. The online software of TargetScanHuman custom version 5.2 was used to predict target genes of svRNAs. The Enrichr website were used for KEGG pathway enrichment analysis. The protein-protein interactions of target genes was depicted by Cytoscape. The MCODE and Cytohubba plugins were used to define protein modules and hub genes respectively.

Among the three svRNAs of SARS-CoV, the svRNA-N sequence is highly conserved in both SARS-CoV-2 and MERS-CoV genome. In addition, the 130 predicted target genes of svRNA-N are mostly engaged in Rap1 signaling pathway. Furthermore, protein modules were enriched in TGF- $\beta$  signaling pathway.

The results of this study suggest further investigation about the role of svRNA-N in the SARS-CoV-2 pathogenesis and the possibility of using its antisense molecules as the strategy to decrease the pulmonary damages.

**Keywords:** COVID-19, svRNAs, SARS-CoV-2, Rap1 signaling pathway.

---

\* **Corresponding Author:**

Amirhossein Ahmadi, Department of Biological Science and Technology, Faculty of Science, Persian Gulf University, Bushehr, Iran. Email: [ahahmadi@pgu.ac.ir](mailto:ahahmadi@pgu.ac.ir)