

Original Article

Determining the Molecular Mechanisms Regulated by RAD51 and MRE11 Genes in Oocyte Maturation Using Bioinformatics Studies

Marjan Bababashi¹ , Javad Baharara¹ , Khadije Shahroshabadi¹ ,
Mohammad Salehi² 

¹ Department of Biology, Mashahad Branch, Islamic Azad University, Mashahad, Iran

² Cellular and Molecular Biology Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

✉ **Corresponding author:**

Cellular and Molecular Biology Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Email:

msalehi78@gmail.com

Tel: +989003372897

Postal Code: 8915887857

Received: February 16, 2026

Revised: May 05, 2026

Accepted: May 13, 2026

Citation:

Bababashi M, Baharara J, Shahroshabadi KH, Salehi M. Determining the Molecular Mechanisms Regulated by RAD51 and MRE11 Genes in Oocyte Maturation Using Bioinformatics Studies. J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2026; 34(5): 10223-234.

Introduction: Female infertility presents a major challenge within the field of reproductive health, since it is influenced by multiple genetic and molecular factors. This study was designed to investigate the role of RAD51 and MRE11 genes in oocyte maturation and their involvement in molecular networks.

Methods: The protein–protein interaction network was retrieved from the STRING database and subsequently analyzed with the help of Cytoscape. The MCODE algorithm was then applied to identify functional clusters, while pathway enrichment tools were used to determine relevant biological pathways. Regulatory miRNAs that may target these genes were examined through the miRTarBase database.

Results: Network analysis revealed that BRCA1 and BARD1 function as central hub genes, whereas ATM and ATRX were identified to be present within the key functional clusters identified by MCODE. Enriched pathways indicated that these genes are involved in homologous recombination, the DNA damage response, cellular senescence, and the regulation of the cell cycle. Furthermore, the miRTarBase analysis showed that several miRNAs, including miR-155 and miR-34a, are capable of targeting RAD51 and potentially regulating its expression.

Conclusion: These findings collectively highlight the critical role of DNA repair–related gene networks in maintaining oocyte quality and suggest that RAD51, MRE11, and their associated pathways could serve as potential therapeutic targets for female infertility.

Keywords: DNA repair; Oocyte maturation; RAD51 and MRE11; Bioinformatics analysis.

مقاله پژوهشی

در بلوغ تخمک با MRE11 و RAD51 تعیین مکانیسم های مولکولی تنظیم شده توسط ژن های استفاده از مطالعات بیوانفورماتیکی

مرجان باباباشی^۱، جواد بهارآرا^۱، خدیجه شاهرخ آبادی^۱، محمد صالحی^۲

^۱ گروه زیست شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

^۲ مرکز تحقیقات زیست شناسی سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

✉ نویسنده مسئول:

محمد صالحی

مرکز تحقیقات قلب و عروق، دانشگاه

علوم پزشکی شهید صدوقی، یزد،

ایران

پست الکترونیک:

msalehi78@gmail.com

تلفن: ۰۹۰۰۳۳۷۲۸۹۷

صندوق پستی: ۸۹۱۵۸۸۷۸۵۷

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۱۱/۲۷

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۵/۲/۱۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۲/۲۳

ارجاع:

مرجان باباباشی، جواد بهارآرا، خدیجه

شاهرخ آبادی، محمد صالحی. تعیین

مکانیسم های مولکولی تنظیم شده

توسط ژن های RAD51 و

MRE11 در بلوغ تخمک با استفاده

از مطالعات بیوانفورماتیکی. مجله

علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی

شهید صدوقی یزد ۱۴۰۵؛ ۳۴ (۵):

۱۰۲۲۳-۲۲۴.

مقدمه: ناباروری زنان یکی از چالش های مهم سلامت باروری است و عوامل ژنتیکی و مولکولی متعددی در بروز آن نقش دارند. این مطالعه با هدف بررسی نقش ژن های RAD51 و MRE11 در بلوغ تخمک انجام گرفت.

روش بررسی: در یک مطالعه بيو انفورماتیکی شبکه تعاملی پروتئین-پروتئین از پایگاه STRING استخراج و تحلیل های شبکه ای در نرم افزار Cytoscape انجام گردید. برای شناسایی کلاسترهای عملکردی از الگوریتم MCODE و برای تحلیل مسیرهای زیستی از ابزارهای غنی سازی مسیر استفاده شد. بررسی miRNAهای تنظیم کننده نیز با استفاده از پایگاه miRTarBase صورت گرفت.

نتایج: تحلیل شبکه نشان داد ژن های BRCA1 و BARD1 به عنوان گره های مرکزی عمل می کنند و براساس الگوریتم MCODE ژن های ATM و ATRX در کلاسترهای عملکردی مهم شناسایی شدند. مسیرهای زیستی به دست آمده نشان دهنده مشارکت این ژن ها در مسیریابی همچون Homologous Recombination، پاسخ به آسیب DNA، senescence سلولی و چرخه سلولی بود. همچنین نتایج miRTarBase نشان داد چندین miRNA از جمله miR-155 و miR-34a قادر به هدف گیری ژن RAD51 هستند.

نتیجه گیری: یافته ها اهمیت تنظیم شبکه های ژنی مرتبط با ترمیم DNA را در حفظ کیفیت اووسیت نشان داده و بیان می کنند که ژن های مورد بررسی می توانند اهداف بالقوه ای برای مداخلات درمانی در ناباروری زنان باشند.

واژه های کلیدی: ترمیم DNA، بلوغ اووسیت، RAD51 و MRE11، تحلیل بیوانفورماتیکی

مقدمه

ناباروری در زنان به ناتوانی در باردار شدن و حفظ بارداری تا پایان دوره طبیعی آن، علی‌رغم داشتن روابط جنسی منظم و محافظت‌نشده، اطلاق می‌شود. این مسئله یکی از چالش‌های مهم جهانی است که حدود ۱۷/۵٪ از جمعیت بزرگسال، معادل ۱ نفر از هر ۶ نفر را تحت تأثیر قرار می‌دهد و نیاز فوری به مراقبت‌های باروری در دسترس و مقرون‌به‌صرفه را در سراسر جهان نشان می‌دهد (۱). سلول‌های انسانی به‌طور مداوم در معرض عوامل داخلی و محیطی قرار دارند که منجر به ایجاد هزاران آسیب به DNA می‌شوند. در صورت عدم ترمیم این آسیب‌ها، ممکن است منجر به جهش و بی‌ثباتی ژنومی شده و توانایی بقای سلول را کاهش داده یا آن را مستعد بیماری‌هایی مانند سرطان سازند. ترمیم DNA در مراحل ابتدایی رشد جنین از اهمیت بالایی برخوردار است (۲). در این مرحله، سلول‌ها سطوح مختلفی از حساسیت را نسبت به عوامل درونی و بیرونی نشان می‌دهند (۳). پروتئین‌های ترمیمی در همکاری با تنظیم‌کننده‌های چرخه سلولی، با ایجاد توقف در چرخه، به مکانیسم‌های ترمیم اجازه می‌دهند تا DNA آسیب‌دیده را اصلاح کنند (۴). آسیب به DNA در اووسیت‌ها می‌تواند به ناباروری، از دست رفتن بارداری و ناهنجاری‌های مادرزادی منجر شود و مشکلاتی در تولیدمثل ایجاد کند. شکست‌های دو رشته‌ای در DNA (DSBs) از خطرناک‌ترین انواع آسیب‌ها هستند که می‌توانند پایداری ژنوم را مختل سازند. ترمیم صحیح این نوع آسیب‌ها در اووسیت‌ها برای حفظ کیفیت و کمیت تخمک ضروری است، همان‌طور که در مطالعات انسانی و موشی نشان داده شده است (۵، ۶). حداقل پنج مسیر اصلی برای ترمیم DNA وجود دارد: ترمیم با جایگزینی باز (BER)، اتصال غیرهمولوگ انتهاها (NHEJ)، ترمیم عدم تطابق (MMR)، ترمیم برداشت نوکلئوتیدی (NER) و نوترکیبی همولوگ (HR). این فرآیندها در فازهای مختلف چرخه سلولی عمل می‌کنند تا امکان ترمیم مؤثر آسیب‌های DNA فراهم شود (۷). ترمیم شکست‌های دو رشته‌ای DNA از طریق نوترکیبی همولوگ (HR) در حفظ کیفیت و کمیت تخمک‌ها نقش کلیدی دارد (۸). علاوه بر این، کمپلکس پروتئینی *MRN* متشکل از *NBS1*، *RAD50* و *MRE11* نقش مهمی در تشخیص آسیب DNA و فعال‌سازی مسیر ATM دارد و از نخستین پاسخ‌دهندگان به شکست‌های دو رشته‌ای به‌شمار

می‌رود (۹). ژن *RAD51* به‌عنوان یکی از اجزای کلیدی مسیر نوترکیبی همولوگ (HR)، در بازسازی شکست‌های دو رشته‌ای DNA (DSBs) نقش دارد. این پروتئین با ایجاد رشته‌های نوکلئوپروتئینی روی DNA تک‌رشته‌ای، فرایند جستجوی توالی همولوگ و تبادل رشته را انجام می‌دهد. این مکانیسم برای حفظ ثبات ژنومی در اووسیت‌ها حیاتی است، به‌ویژه در طول میوز زمانی که تقسیم دقیق کروموزوم‌ها ضروری است (۱۰). *MRE11* به‌طور فعال در مسیر ترمیم مشارکت دارد و فعالیت نوکلئازی نیز از خود نشان می‌دهد. نقش *MRE11* در ترمیم شکست‌های دو رشته‌ای DNA در مراحل ابتدایی میوز I در موش‌ها به خوبی شناخته شده است. اگرچه تحقیقات محدودی در مورد بیان و عملکرد آن در اووسیت‌های مشتق‌شده از فولیکول‌های اولیه انجام شده، اما مطالعات نشان می‌دهند که *MRE11* در شناسایی آسیب‌های DNA در تخمک‌های بالغ حیاتی است. مهار عملکرد *MRE11* در این موارد، توانایی ترمیم سلول را مختل می‌سازد (۱۱). با پیشرفت فناوری‌های زیستی، مطالعات بیوانفورماتیکی به‌عنوان ابزاری قدرتمند برای شناسایی الگوهای مولکولی، مسیرهای دخیل، و شبکه‌های تعاملات پروتئینی در فرآیندهای زیستی نظیر بلوغ تخمک، جایگاه ویژه‌ای یافته‌اند. ابزارهایی مانند تحلیل بیان ژن (RNA-seq, microarray)، شناسایی مسیرهای زیستی (Pathway analysis)، تحلیل شبکه‌های تعاملی پروتئین-پروتئین (PPI) و پیش‌بینی تنظیمات اپی‌ژنتیکی، امکان بررسی جامع عملکرد ژن‌هایی نظیر *RAD51* و *MRE11* را در زمینه تولیدمثل فراهم ساخته‌اند (۱۲، ۱۳). هدف مطالعه حاضر، استفاده از ابزارهای بیوانفورماتیکی برای شناسایی و تحلیل مسیرهای تنظیمی مرتبط با ژن‌های *RAD51* و *MRE11* در فرآیند بلوغ تخمک است. این مطالعه با بهره‌گیری از پایگاه‌های داده عمومی و تحلیل‌های سیستماتیک در سطح ترنسکریپتومی، به درک بهتر نقش این ژن‌ها در تنظیم پاسخ‌های ترمیمی در اووسیت‌های مشتق از IVM کمک می‌کند.

روش بررسی

جمع‌آوری داده‌ها: مطالعات قبلی نشان داده‌اند که ژن‌های *RAD51* و *MRE11* در فرآیند بلوغ اووسیت نقش حیاتی دارند و اختلال در عملکرد آن‌ها می‌تواند منجر به اختلال در تقسیمات میوزی و کاهش کیفیت ژنومی تخمک شود (۱۱).

در شبکه و شناسایی کلاسترهای کلیدی مرتبط با ژن های هدف انجام گرفت.

پیش بینی میکرو RNA های تنظیم کننده ژن ها: جهت شناسایی miRNA هایی که ممکن است تنظیم کننده ژن های کلیدی شناسایی شده در شبکه باشند، از پایگاه داده miRTarBase استفاده شد. این پایگاه داده، شامل روابط اثبات شده بین ژن ها و miRNA ها است که از طریق آزمایش های تجربی مانند reporter assay و (qPCR) اعتبارسنجی شده اند. ژن های کاندید وارد پایگاه شده و لیستی از miRNA های تنظیم کننده استخراج گردید (۱۷).

آنالیز مسیرهای زیستی (Pathway Enrichment): برای شناسایی مسیرهای عملکردی که تحت تأثیر ژن های کلیدی شبکه قرار دارند، از سرور DAVID (Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery) استفاده شد. ژن های هدف وارد سامانه شده و تحلیل های Gene Ontology (GO) و KEGG Pathway جهت بررسی فرآیندهای زیستی، عملکرد مولکولی و مسیرهای سلولی انجام شد. مسیرهایی با مقدار p -value کمتر از ۰/۰۵ از نظر آماری معنادار تلقی گردیدند (۱۸).

نتایج

نتایج حاصل از پایگاه داده STRING نشان داد که پروتئین های RAD51 و MRE11 با ۱۸ پروتئین دیگر تعامل دارند و ۱۰۹ اینترکشن دارند (شکل ۱). برای تحلیل دقیق تر، شبکه استخراج شده به نرم افزار Cytoscape منتقل شد و با استفاده از ابزار NetworkAnalyzer، شاخص های مرکزیت گره ها بررسی گردید. بر اساس نتایج، ژن های BARD1 و BRCA1 دارای بالاترین مقدار Degree بوده و به عنوان گره های اصلی (hub) شبکه شناخته شدند (جدول ۱). با اجرای افزونه MCODE در Cytoscape، دو کلاستر عملکردی با اتصال داخلی بالا در شبکه PPI شناسایی شدند. ژن های ATM و ATRX در این کلاسترها دارای بالاترین Score بودند، که نشان دهنده نقش محوری آن ها در کلاسترهای ژنی است. ویژگی های ساختاری این کلاسترها شامل تعداد گره ها، یال ها، و ژن های درگیر در جدول ۲ ارائه شده است. با استفاده از پایگاه داده miRTarBase، میکرو RNA های متعددی که قادر به تنظیم ژن های کلیدی شناسایی شده در شبکه هستند، شناسایی شدند. سپس با تحلیل ترکیبی دو شاخص Degree و

۱۴). در این مطالعه، جهت بررسی مکانیسم های مولکولی و تنظیمی این دو ژن در بلوغ تخمک، از ابزارهای بیوانفورماتیکی بهره گیری شد. بررسی شبکه اینترکشن پروتئین پروتئین: جهت شناسایی تعاملات مولکولی ژن های RAD51 و MRE11، از پایگاه داده STRING (Search Tool for the Retrieval of Interacting Genes/Proteins) استفاده شد. این پایگاه داده، اطلاعات مربوط به تعاملات عملکردی و فیزیکی پروتئین ها را فراهم می کند و بر اساس منابع متعددی نظیر داده های آزمایشگاهی، هم پایی ژن ها و تحلیل های محاسباتی ساخته شده است (۱۵). در این تحلیل، نام ژن ها در نسخه انسان (Homo sapiens) وارد شده و شبکه تعاملی مربوطه با تنظیم confidence score برابر با ۰/۷ (سطح بالا) استخراج شد.

آنالیز شبکه PPI در Cytoscape: نرم افزار Network Analyzer برای شناسایی گره هایی با درجه بالا (hub)، مورد استفاده قرار گرفت. گره هایی با hub بیش از ۱ به عنوان گره های عملکردی بحرانی در نظر گرفته شدند. هر دو نوع گره یعنی hub و bottleneck که دارای مرکزیت نزدیکی بالا هستند، نقش های اساسی در فرآیندهای بنیادی سلولی ایفا می کنند (۱۶). شبکه به دست آمده از STRING وارد نرم افزار Cytoscape (v3.9.1) شد و برای تحلیل ساختار شبکه از افزونه NetworkAnalyzer استفاده گردید. شاخص های توپولوژیکی شبکه شامل:

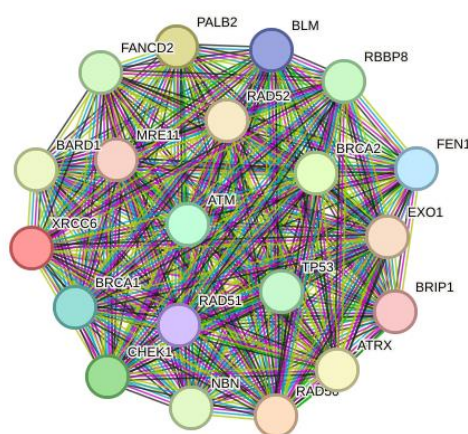
- Degree centrality (تعداد اتصالات یک گره با

سایر گره ها)

تعیین کلاسترها در شبکه PPI: به منظور شناسایی خوشه ها (کلاسترها) و نواحی به شدت درهم تنیده در شبکه تعاملی پروتئین-پروتئین (PPI)، از نرم افزار Cytoscape و افزونه MCODE (Molecular Complex Detection) استفاده شد. این ابزار زیر شبکه هایی با تراکم بالای اتصالات را شناسایی کرده و ژن های بذر (Seed genes) مرتبط با هر کلاستر را مشخص می کند. پارامترهای مورد استفاده در این تحلیل شامل Node Score Cutoff=۰/۲، Degree Cutoff=۲، K=۲ Core و Max-Depth=۱۰۰ بودند (۱۶). ژن های بذر به عنوان گره هایی با بالاترین درجه در شبکه در نظر گرفته شدند. این تحلیل به منظور تعیین ساختارهای عملکردی مهم

• نو ترکیبی همولوگ (Homologous recombination)، اتصال انتهای غیرهمولوگ (Non-homologous end joining)، پیری سلولی (Cellular senescence)، چرخه سلولی (Cell cycle) و مسیر سیگنال دهی $p53$ می باشند. اطلاعات دقیق مربوط به مسیرها، ژن های درگیر، شماره دسترسی KEGG و مقادیر p -value در (جدول ۳) آورده شده است.

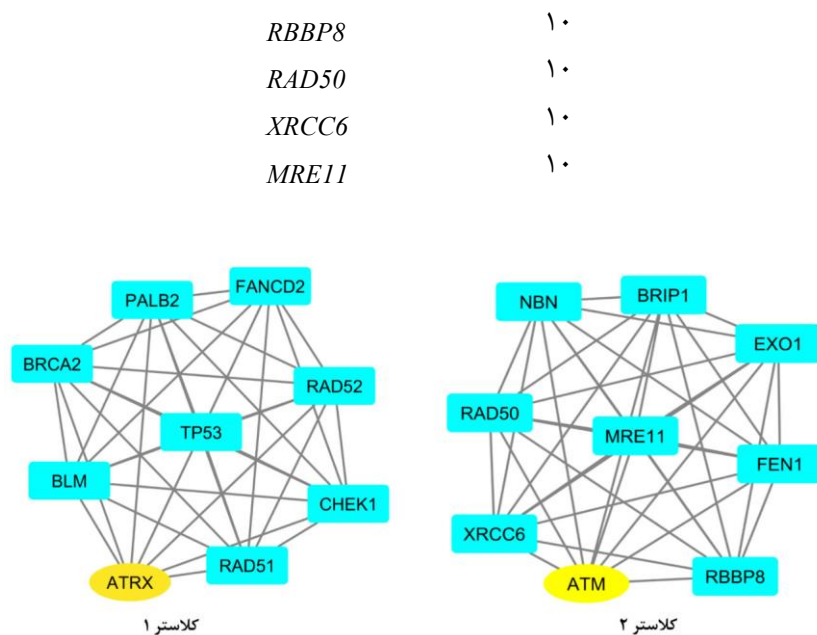
Betweenness centrality، زیر شبکه ای متشکل از ۱۰٪ برتر گره ها از کل شبکه استخراج گردید. شبکه تعامل ژن-miRNA در شکل ۳ ارائه شده است. تحلیل غنی سازی مسیرها (Pathway Enrichment) با استفاده از پایگاه DAVID نشان داد که ژن های مورد بررسی در چندین مسیر کلیدی زیستی نقش دارند. مهم ترین مسیرها شامل:



شکل ۱. شبکه تعاملی پروتئین-پروتئین مربوط به ژن های *MRE11* و *RAD51* استخراج شده از پایگاه STRING

جدول ۱: نتایج آنالیز شبکه (Network analysis) در نرم افزار Cytoscape شامل مقادیر Degree برای گره های کلیدی

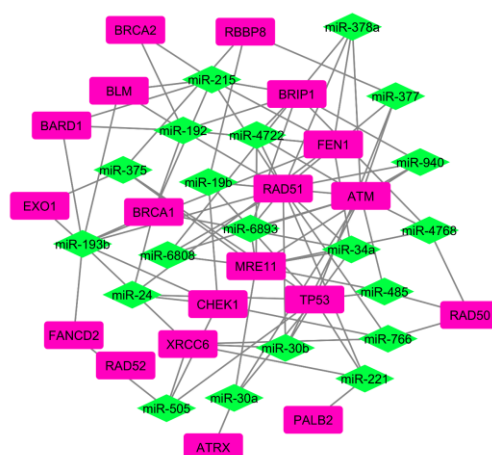
نام ژن ها	Degree
<i>BARD1</i>	۱۹
<i>BRCA1</i>	۱۹
<i>ATRX</i>	۱۰
<i>PALB2</i>	۱۰
<i>TP53</i>	۱۰
<i>FANCD2</i>	۱۰
<i>BLM</i>	۱۰
<i>RAD52</i>	۱۰
<i>CHEK1</i>	۱۰
<i>BRCA2</i>	۱۰
<i>RAD51</i>	۱۰
<i>ATM</i>	۱۰
<i>BRIP1</i>	۱۰
<i>NBN</i>	۱۰
<i>FEN1</i>	۱۰
<i>EXO1</i>	۱۰



شکل ۲: کلاسترهای عملکردی استخراج شده از شبکه PPI با استفاده از MCODE در Cytoscape. نودهایی که به رنگ زرد و به شکل دایره نشان داده شده اند seed هستند.

جدول ۲: ویژگی های کلاسترهای شناسایی شده توسط افزونه MCODE در شبکه پروتئینی: تعداد ژن ها، تعداد یال ها و مقادیر Score

کلاستر	تعداد ژن ها	تعداد یال ها	ژن ها	score
۱	۹	۳۶	CHEK1, PALB2, BRCA2, TP53, RAD51, FANCD2, BLM, RAD52, ATRX	۹
۲	۹	۳۶	XRC6, NBN, FEN1, MRE11, EXO1, ATM, RBBP8, BRIP1, RAD50	۹



شکل ۳. شبکه تعامل ژن - miRNA مربوط به ژن های کلیدی حاصل از آنالیز PPI بر اساس داده های پایگاه miRTarBase

جدول ۳: مسیرهای عملکردی زیستی استخراج شده از پایگاه DAVID به همراه ژن‌های شرکت کننده و مقادیر آماری

شماره دسترسی	فرایند	ژن‌ها	P
hsa۰۳۴۴۰	Homologous recombination	<i>BARD1, BLM, MRE11, BRCA1, BRCA2, PALB2, RAD52, BRIP1, RAD50, RAD51, RBBP8, ATM, NBN</i>	$7/97 \times 10^{-25}$
hsa۰۳۴۵۰	Non-homologous end-joining	<i>XRCC6, FEN1, RAD50, MRE11</i>	$2/36 \times 10^{-6}$
hsa۰۴۲۱۸	Cellular senescence	<i>RAD50, MRE11, CHEK1, ATM, NBN, TP53</i>	$1/56 \times 10^{-5}$
hsa۰۴۱۱۰	Cell cycle	<i>ATR, CHEK1, ATM, TP53</i>	$0/04364$
hsa۰۴۱۱۵	p53 signaling pathway	<i>CHEK1, ATM, TP53</i>	$0/031103$

بحث

تحلیل بیوانفورماتیکی ژن‌های *RAD51* و *MRE11* در این مطالعه، چشم‌انداز جدیدی از نقش حیاتی آن‌ها در بلوغ تخمک و حفظ سلامت ژنومی در سلول‌های زایشی ارائه داده است. تحقیقات پیشین نشان داده‌اند که اووسیت‌ها ظرفیت بالایی برای ترمیم شکست‌های دو رشته‌ای DNA (DSBs) دارند و مسیر Homologous recombination (HR)، به‌ویژه توسط *RAD51* هدایت می‌شود (۱۹). همچنین، نقل شده است که مونوکلنار *MRE11* به‌طور فعال در تشخیص و بازآفرینی اولیه DSBها مشارکت دارد و برای عملکرد مؤثر کامپلکس *MRN* ضروری است (۲۰). در مطالعه حاضر، با به‌کارگیری روش‌های تحلیلی بیوانفورماتیکی، از جمله پایگاه STRING برای ساختاردهی شبکه‌های تعاملی پروتئینی و ابزارهای آنالیز شبکه مانند Cytoscape، توانستیم شبکه‌ای از تعاملات میان ژن‌های دخیل در ترمیم DNA و کنترل چرخه سلولی را شناسایی کنیم. سپس با تحلیل MCODE و DAVID، مشخص شد که ژن‌های کلیدی این شبکه، در مسیرهای مرتبط با پایداری ژنومی، بلوغ سلولی، پاسخ به آسیب DNA و کنترل تقسیمات میوزی فعالیت می‌کنند. نتایج تحلیل‌های توپولوژیکی شبکه PPI نشان داد که *RAD51* با امتیازات بالای Degree به‌عنوان یک hub کلیدی در شبکه عمل می‌کند و این امر مقبولیت آن را در حفظ انسجام ساختاری شبکه تأیید می‌نماید. این یافته‌ها نشان می‌دهد که *RAD51* رابطی حیاتی بین مسیرهای ترمیم DNA، عملکرد میتوکندری و تقسیم میوز در سلول‌های زایشی است. به‌علاوه، اسنادهای بیوانفورماتیکی و مطالعات تجربی بر نقش گسترده‌تر

RAD51 در حفظ عملکرد سلولی در سیستم‌های بیولوژیکی پیچیده تأکید دارند (۲۱، ۲۱، ۱۰). در تحلیل شبکه تعاملی پروتئین-پروتئین (PPI) انجام شده با استفاده از پایگاه STRING و نرم‌افزار Cytoscape، ژن‌های *BARD1* و *BRCA1* به‌عنوان گره‌هایی با degree بالا و betweenness centrality قابل توجه شناسایی شدند. حضور این دو ژن در مرکز شبکه، نشان‌دهنده نقش تنظیمی و ساختاری مهم آن‌ها در تعاملات مولکولی مرتبط با پاسخ به آسیب DNA و حفظ یکپارچگی ژنومی است. ژن‌هایی با degree بالا معمولاً در مرکز شبکه‌های زیستی قرار دارند و حذف عملکرد آن‌ها، موجب اختلال جدی در مسیرهای سلولی می‌شود. ژن‌های *BRCA1* و *BARD1* پس از تشکیل کمپلکس، یکی از ارکان اصلی مسیر HR به‌شمار می‌آیند. مطالعه Westermarck و همکاران در سال ۲۰۰۳ نشان داد که کمپلکس *BRCA1-BARD1* به‌صورت فیزیکی با پروتئین *RAD51* در فرایند ترمیم DSB مشارکت دارد و عدم وجود این کمپلکس موجب بی‌نظمی کروموزومی و نقص در ترمیم HR می‌شود (۲۳). علاوه بر این، پژوهش Boulton در سال ۲۰۰۴ تأیید کرد که دسترسی *BRCA1-BARD1* به محل شکست DNA برای تشکیل اتصال‌های هومولوگیک ضروری است و فقدان آن باعث افزایش حساسیت به آسیب‌های ژنتیکی می‌شود (۲۴). این یافته‌ها نشان‌دهنده نقش برجسته *BRCA1-BARD1* در پایداری ژنومی اووسیت و جلوگیری از انتقال جهش به نسل بعد است. مطالعات بالینی نشان داده‌اند که زنان حامل موتاسیون *BRCA1* دارای سطح پایین‌تر هورمون AMH به‌عنوان نشانگری برای ذخیره تخمدان هستند و این امر نشان‌دهنده کاهش ذخیره

اولیه اووسیت است (۲۶، ۲۵). در مدل حیوانی، مطالعه Titus و همکاران نشان داد که کاهش عملکرد *BRCA1*، منجر به شکل‌گیری کمتر فولیکول‌های پریمیوریدال و تجمع بیشتر DNA DSB در اووسیت‌های موش می‌شود، که این امر با کاهش ذخیره تخمک و شروع زودرس یائسگی مرتبط است (۲۷). مطالعات سامانه‌ای و مروری دیگری نیز چنین یافته‌هایی را تأیید می‌کنند: بررسی *BRCA* و ترمیم DNA نشان می‌دهد که نقص عملکرد *BRCA1* موجب پیری زودرس تخمدان، افت کیفیت تولیدمثل و کاهش طول عمر باروری می‌شود (۲۸). اجرای افزونه MCODE در Cytoscape، ژن *ATM* را در یکی از کلاسترهای اصلی شبکه PPI با بالاترین امتیاز مکان‌یابی کرده است. مطالعه‌ای ژنتیکی در اووسیت‌های موش نشان داده که کاهش بیان *ATM* منجر به اختلال در پیشرفت میوز، افزایش تجمع DSB، ایجاد آنیوپلوئیدی و بروز آپوتوز زودرس می‌شود. این یافته‌ها حاکی از آن است که *ATM* نقش حفاظتی کلیدی در مقابل استرس ژنومی دارد و ضعف عملکرد آن می‌تواند به‌عنوان یک عامل مهم در پیر شدن تخمدان و نازایی تلقی گردد (۲۹). ژن *ATR* نیز در کلاستر دوم با امتیاز بالا قرار گرفت؛ این ژن به‌عنوان یک بازآرایی‌کننده کروماتین، برای تشکیل صحیح هتروکروماتین اطراف سانترومرها ضروری است. مطالعات روی موش نشان داده که فقدان *ATR* منجر به اختلال در تراز کروموزومی میتوز دوم و افزایش چشمگیر آنیوپلوئیدی تا حدود ۶۰٪ اووسیت‌ها می‌شود. این ناپایداری کروموزومی با کاهش قدرت باروری همراه است و اهمیت *ATR* را در بلوغ صحیح و سلامت اووسیت به‌خوبی نشان می‌دهد (۳۰). یافته‌های بیوانفورماتیکی و مولکولی نشان داد که *ATM* و *ATR* دو ژن کلیدی در شبکه PPI هستند که نقش عمده‌ای در حفظ کیفیت ژنومی، پیشرفت دقیق میوز و جلوگیری از پیری کروموزومی در اووسیت‌ها دارند. این شناسایی علاوه بر آگاهی علمی، پتانسیل استفاده از این ژن‌ها در طراحی بیومارکرهای تشخیصی یا اهداف درمانی برای بهبود باروری و کنترل ذخیره تخمک را نمایان می‌کند. نتایج تحقیق حاضر تأکید می‌کند که ژن *RAD51* نه فقط در پایداری ژنومی، بلکه در بلوغ اووسیت نقش کلیدی ایفا می‌کند. این ژن به‌عنوان نوترکیب‌کننده مرکزی (Recombinase) در مسیر HR شناخته شده است و مطالعات متعددی نشان داده‌اند که کاهش بیان *RAD51* باعث افزایش DSB، آپوتوز و اختلال در

بلوغ میواز در اووسیت‌های موش می‌شود (۳۲، ۳۱). برای مثال، Kim و همکاران در سال ۲۰۱۶ با استفاده از مهار RNAi در اووسیت‌های موش نشان دادند که خاموش‌سازی *RAD51* منجر به توقف میوز در مرحله MI، بی‌نظمی در تراز کروموزومی، آسیب به دوک تقسیم و کاهش عملکرد میتوکندری شد (۱۰). همچنین، Kujjo و همکاران در سال ۲۰۱۰ با میکروتزریق *RAD51* ریکامیننت به اووسیت‌های AKR/J دریافتند که این افزایش بیان موجب کاهش قابل توجه شکست‌های DSB و سرکوب مسیر آپوپتوتیک Bax شد و توسعه جنینی را بهبود بخشید (۲۲). مطالعات تجربی نشان داده‌اند که *RAD51* نقشی حیاتی در حفظ عملکرد میتوکندری در طول بلوغ اووسیت‌ها ایفا می‌کند. در یک کار تجربی توسط Kim و همکاران در سال ۲۰۱۶، کاهش بیان *RAD51* در اووسیت‌های موش موجب کاهش تولید ATP، افت پتانسیل غشایی میتوکندری، تغییر نامناسب در توزیع میتوکندری و افزایش اتوفاژی شد (۱۰). این یافته‌ها نشان می‌دهند که *RAD51* علاوه بر نقش شناخته‌شده‌اش در ترمیم DNA، یک نقش مرتبط با متابولیسم انرژی و بقای سلولی در اووسیت‌ها دارد. تحلیل غنی‌سازی مسیرهای عملکردی با استفاده از DAVID، مسیرهای کلیدی مرتبط با ژن‌های *RAD51* و *MRE11* را شناسایی کرد. شاخص‌ترین مسیر شناسایی‌شده، مسیر HR است که شامل ژن‌هایی مانند *RAD50*، *MRE11*، *RAD51*، *BRCA1* و *BRCA2* می‌شود. این مسیر نقش بسیار مهمی در ترمیم دقیق شکست‌های دو رشته‌ای DNA (DSBs) دارد و در سلول‌های زایشی، به‌ویژه اووسیت‌ها، مسئول حفظ پایداری ژنومی است. اختلال در این مسیر با افزایش نرخ آنیوپلوئیدی در اووسیت‌های انسانی و موشی و کاهش تعداد فولیکول‌های اولیه مرتبط است (۱۰). مسیر NHEJ علاوه بر نقش در HR، در مسیر microhomology-mediated end joining (MMEJ) نیز مشارکت دارد. مطالعات تجربی نشان داده‌اند که فقدان کارکرد *MRE11* باعث نقص در پردازش انتهای DNA و کاهش ترمیم MMEJ می‌شود، که بر ناکارآمدی ترمیم DSB تأکید دارد (۳۳). تحلیل مسیرهای زیستی نشان داد که مولکول‌های کلیدی *ATM*، *TP53*، *CHK1/2* به‌طور معناداری در پاسخ به آسیب DNA فعال شده‌اند. ژن *ATM* به‌عنوان آغازگر مسیر پاسخ به شکست‌های دو رشته‌ای DNA،

دهند و از این طریق بر مسیر Homologous Recombination تأثیر بگذارند:

- Gasparini و همکاران در سال ۲۰۱۴ نشان دادند که افزایش بیان miR-155 در سلول‌های سرطان سینه منجر به کاهش بیان RAD51 و اختلال در ترمیم HR می‌شود، به‌طوری که miR-155 به‌طور مستقیم روی 3'-UTR RAD51 اثرگذار است و سطح پروتئین آن را کاهش می‌دهد (۳۷).

- Chen و همکاران در سال ۲۰۱۹ یافتند که miR-34a از طریق اتصال به mRNA RAD51، بیان آن را کاهش می‌دهد. این مکانیسم باعث اختلال در HR و تأثیر بر مسیر کارکرد p53 شده و منجر به افزایش حساسیت سلولی به آسیب DNA می‌گردد (۳۸).

مطالعات متعددی نشان داده‌اند که miRNAهایی مانند miR-155، miR-34a، miR-506، miR-182 و miR-103/107 مستقیماً روی RAD51 تأثیر می‌گذارند و باعث کاهش تشکیل فسیل Fociهای RAD51 در پاسخ به آسیب DNA و کاهش کارایی مسیر Homologous Recombination می‌شوند (۳۹). همچنین مطالعات مروری در جانوران پستاندار (شامل انسان، گاو و موش) نشان داده‌اند که miRNAها در طول بلوغ اووسیت و پیش‌روی مراحل اولیه جنینی نقش تنظیمی مهمی دارند. این نقش شامل تنظیم دقیق بیان ژن‌های مرتبط با چرخه سلولی، آپوپتوز و ترمیم DNA است (۴۱، ۴۰). افزون بر RAD51، مطالعات نشان داده‌اند که چندین miRNA نظیر miR-103 و miR-107 نیز می‌توانند ژن MRE11 را هدف قرار دهند. این تنظیم منفی موجب کاهش تشکیل کمپلکس MRN و تضعیف پاسخ به آسیب‌های DNA می‌شود که به‌ویژه در سلول‌های زایشی می‌تواند منجر به افت کیفیت اووسیت گردد (۲۱). لذا، شایع بودن miRNAهای هدفمند برای RAD51 و MRE11 در این مسیرها، نشان‌دهنده یک لایه تنظیمی حیاتی در کیفیت اووسیت است. یافته‌های این مطالعه، ضمن شناسایی اهداف بالقوه درمانی یا تشخیصی، می‌تواند زمینه را برای طراحی راه‌کارهای بیولوژیکی نوین در بهبود عملکرد باروری، به‌ویژه در بیماران نابارور یا تحت درمان‌های کمک‌باروری فراهم سازند. همچنین، بررسی دقیق‌تر بیان ژن و تنظیم‌های miRNA در

از طریق کمپلکس MRN فعال می‌شود و سپس پروتئین‌هایی نظیر $H2AX\gamma$ ، $CHK2$ و $p53$ را فسفریله می‌کند. این فرآیند منجر به توقف چرخه سلولی، فعال‌سازی نقاط کنترل و در صورت لزوم، آغاز آپوپتوز می‌گردد. در اووسیت‌ها، نشانه‌هایی از فعال‌شدن $CHK1$ و $CHK2$ در مرحله G2/M پس از آسیب DNA گزارش شده که نشان‌دهنده عملکرد حفاظتی این مسیر در حفظ کیفیت تخمک است (۳۴).

مسیرهای مرتبط با Cellular senescence و checkpoints چرخه سلولی نیز در آنالیز غنی‌سازی مشاهده شدند. این مسیرها با حذف سلول‌های دارای آسیب DNA از طریق توقف چرخه در فازهای G2/M یا G1/S، نقشی کلیدی در ارتقای کیفیت اووسیت‌ها دارند. این نتایج با مطالعاتی که نشان می‌دهند DNA damage checkpoint در اووسیت‌ها، مخصوصاً در مرحله میوز I، توقف‌های حساسیت‌زا ایجاد می‌کند هم‌راستا هستند (۳۵، ۳۴). کاهش توان ترمیم DNA در اووسیت‌های مسن‌تر و افزایش DSBها با علائم پیری سلولی هم‌گزارش شده است (Changes in DNA repair). همچنین، ژن *MRE11* که معمولاً به‌عنوان یک عامل کلیدی در شناسایی و ترمیم شکست‌های دو رشته‌ای DNA شناخته می‌شود، در مسیر پیری سلولی نیز نقش دارد. فعالیت این ژن به‌همراه *ATM* و *TP53* موجب فعال‌سازی پاسخ به آسیب DNA، توقف چرخه سلولی و در صورت لزوم القای آپوپتوز می‌شود که از مکانیسم‌های اصلی پیری سلولی در اووسیت‌ها محسوب می‌گردد (۲۰). از منظر تنظیم‌های اپی‌ژنتیکی، بررسی تعامل ژن-میکرو RNA نشان داد که تعدادی از miRNAها قادر به هدف‌گیری ژن‌های کلیدی شبکه مانند *MRE11*، *RAD51* و *BRCA1* هستند. برای درک بهتر، ابتدا باید به نقش بنیادی microRNAها در تنظیم پس از رونویسی ژن‌ها اشاره کرد. این مولکول‌های کوچک RNA با اتصال به mRNA هدف، موجب سرکوب ترجمه یا تخریب پیام‌رسان می‌شوند و بدین ترتیب در مسیرهای تمایز، چرخه سلولی و پاسخ به آسیب‌های DNA نقش دارند (۳۶). حضور این miRNAها به‌عنوان تنظیم‌کننده‌های منفی یا مثبت در مسیرهای ترمیم، اهمیت بالایی در پایداری ژنومی و تنظیم بلوغ اووسیت دارد. تحلیل miRNA ژن نشان داد که چند miRNA کلیدی می‌توانند بیان *RAD51* را هدف قرار

سپاس‌گزاری

این مقاله برگرفته از رساله دکتری با عنوان «بررسی میزان ترمیم DNA در تخمک‌های موشی حاصل از بلوغ آزمایشگاهی» است. نویسندگان از همکاری و مشارکت یکدیگر در انجام این مطالعه و نگارش مقاله صمیمانه قدردانی می‌کنند.

حامی مالی

ندارد.

تعارض در منافع

وجود ندارد.

ملاحظات اخلاقی

این مطالعه شامل کار با داده‌های عمومی و تحلیل بیوانفورماتیکی بود و نیازی به دخالت انسانی یا حیوانی نداشت. کلیه روش‌ها مطابق با استانداردهای اخلاقی پژوهش‌های علمی انجام شده است.

مشارکت نویسندگان

تمام نویسندگان در ایده‌پردازی، جمع‌آوری داده‌ها، تجزیه و تحلیل بخش‌های مختلف طرح و همچنین نگارش و ویرایش علمی مقاله مشارکت داشتند و سهم یکسانی در انجام این فعالیت‌ها دارند.

مدل‌های تجربی می‌تواند افق‌های جدیدی برای مداخله در مسیرهای مولکولی مؤثر بر سلامت تخمک‌ها ایجاد کند.

نتیجه‌گیری

این مطالعه با بهره‌گیری از رویکرد بیوانفورماتیکی، نقش بنیادی ژن‌های *RAD51* و *MRE11* را در فرآیند بلوغ تخمک، ترمیم DNA و حفظ سلامت ژنومی اووسیت‌ها روشن ساخت. تحلیل شبکه PPI و مسیرهای زیستی، حضور محوری ژن‌هایی نظیر *ATM*، *BARD1*، *BRCA1* و *ATR* را در فرآیندهای کلیدی مرتبط با باروری تأیید نمود. همچنین، یافته‌ها نشان دادند که تنظیم اپی‌ژنتیکی از طریق miRNA، لایه‌ای حیاتی از کنترل بیان ژن‌های مرتبط با ترمیم را فراهم می‌کند. داده‌های حاصل از این پژوهش می‌توانند مبنایی برای توسعه بیومارکرهای تشخیصی یا اهداف درمانی جهت بهبود عملکرد تخمدانی و مدیریت ناباروری فراهم سازند. پیشنهاد می‌شود در مطالعات آینده، اعتبارسنجی تجربی داده‌های استخراج‌شده و بررسی عملکردی miRNA های کلیدی در مدل‌های حیوانی و انسانی پیگیری شود.

References:

1. Thaker N, Dhande R, Parihar P, Dhande R. *Role of transvaginal sonography in the diagnosis of female infertility: a comprehensive review*. Cureus 2023; 15(12): e50505 .
2. Khokhlova E, Fesenko Z, Sopova J, Leonova E. *Features of DNA repair in the early stages of mammalian embryonic development*. Genes. 2020; 11(10): 1138 .
3. Hamdoun A, Epel D. *Embryo stability and vulnerability in an always changing world*. Proc Natl Acad Sci USA. 2007; 104(6): 1745-1750 .
4. Smith ML, Fornace AJ Jr. *Mammalian DNA damage-inducible genes associated with growth arrest and apoptosis*. Mutat Res Rev Genet Toxicol 1996; 340(2-3): 109-124 .
5. Oktay K, Moy F, Titus S, Stobezki R, Turan V, Dickler M, et al. *Age-related decline in DNA repair function explains diminished ovarian reserve, earlier menopause, and possible oocyte vulnerability to chemotherapy in women with BRCA mutations*. J Clin Oncol. 2014; 32(10): 1093-1094 .
6. Titus S, Li F, Stobezki R, Akula K, Unsal E, Jeong K, et al. *Impairment of BRCA1-related DNA double-strand break repair leads to ovarian aging in mice and humans*. Sci Transl Med. 2013; 5(172): 172ra21 .

7. Chatterjee N, Walker GC. *Mechanisms of DNA damage, repair, and mutagenesis*. Environ Mol Mutagen. 2017; 58(5): 235-263 .
8. He DJ, Wang L, Zhang ZB, Guo K, Li JZ, He XC, et al. *Maternal gene Ooep may participate in homologous recombination-mediated DNA double-strand break repair in mouse oocytes*. Zool Res. 2018; 39(6): 387-397 .
9. Wang X, Liu D, He D, Suo S, Xia X, He X, et al. *Transcriptome analyses of rhesus monkey preimplantation embryos reveal a reduced capacity for DNA double-strand break repair in primate oocytes and early embryos*. Genome Res. 2017; 27(4): 567-579 .
10. Kim KH, Park JH, Kim EY, Ko JJ, Park KS, Lee KA. *The role of Rad51 in safeguarding mitochondrial activity during the meiotic cell cycle in mammalian oocytes*. Sci Rep. 2016; 6(1): 34110 .
11. Mayer A, Baran V, Sakakibara Y, Brzakova A, Ferencova I, Motlik J, et al. *DNA damage response during mouse oocyte maturation*. Cell Cycle. 2016; 15(4): 546-558 .
12. Primig M. *The bioinformatics tool box for reproductive biology*. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis. 2012; 1822(12): 1880-1895 .
13. Mulas F, Sacchi L, Zagar L, Garagna S, Zuccotti M, Zupan B, et al. *Knowledge-based bioinformatics for the study of mammalian oocytes*. Int J Dev Biol. 2012; 56(10-11-12): 859-866 .
14. Pailas A, Niaka K, Zorzompokou C, Marangos P. *The DNA damage response in fully grown mammalian oocytes*. Cells. 2022; 11(5): 798 .
15. Dehghan Z, Mirmotalebisohi SA, Sameni M, Bazgiri M, Zali H. *A motif-based network analysis of regulatory patterns in Doxorubicin effects on treating breast cancer, a systems biology study*. Avicenna J Med Biotechnol. 2022; 14(2): 137-145 .
16. Saberi F, Dehghan Z, Noori E, Taheri Z, Sameni M, Zali H. *Identification of critical molecular factors and side effects underlying the response to thalichtherine in prostate cancer: a systems biology approach*. Avicenna J Med Biotechnol. 2023; 15(1): 53-61 .
17. Cui S, Yu S, Huang HY, Lin YCD, Huang Y, Zhang B, et al. *miRTarBase. 2025: updates to the collection of experimentally validated microRNA-target interactions*. Nucleic Acids Res. 2025; 53(D1): D147-D156 .
18. Huang DW, Sherman BT, Tan Q, Kir J, Liu D, Bryant D, et al. *DAVID Bioinformatics Resources: expanded annotation database and novel algorithms to better extract biology from large gene lists*. Nucleic Acids Res. 2007; 35(Suppl 2): W169-W175 .
19. Kim KH, Park JH, Kim EY, Ko JJ, Park KS, Lee KA. *The role of Rad51 in safeguarding mitochondrial activity during the meiotic cell cycle in mammalian oocytes*. Sci Rep. 2016; 6: 34110 .
20. Buis J, Wu Y, Deng Y, Leddon J, Westfield G, Eckersdorff M, et al. *Mre11 nuclease activity has essential roles in DNA repair and genomic stability distinct from ATM activation*. Cell. 2008; 135(1): 85-96 .
21. Peraza-Vega RI, Valverde M, Rojas E. *Interactions between miRNAs and double-strand breaks DNA repair genes, pursuing a fine-tuning of repair*. Int J Mol Sci. 2022; 23(6): 3231 .
22. Kujjo LL, Laine T, Pereira RJ, Kagawa W, Kurumizaka H, Yokoyama S, et al. *Enhancing survival of mouse oocytes following chemotherapy or aging by targeting Bax and Rad51*. PLoS One. 2010; 5(2): e9204 .
23. Westermarck UK, Reyngold M, Olshen AB, Baer R, Jasin M, Moynahan ME. *BARD1 participates with BRCA1 in homology-directed repair of chromosome breaks*. Mol Cell Biol. 2003; 23(21): 7926-7936 .
24. Boulton SJ, Martin JS, Polanowska J, Hill DE, Gartner A, Vidal M. *BRCA1/BARD1 orthologs required for DNA repair in Caenorhabditis elegans*. Curr Biol. 2004; 14(1): 33-39 .
25. Wang X, Wang L, Xiang W. *Mechanisms of ovarian aging in women: a review*. J Ovarian Res. 2023; 16(1): 67 .
26. Wang ET, Pisarska MD, Bresee C, Chen YDI, Lester J, Afshar Y, et al. *BRCA1 germline mutations may be associated with reduced ovarian reserve*. Fertil Steril. 2014; 102(6): 1723-1728 .

27. Lin W, Titus S, Moy F, Ginsburg ES, Oktay K. **Ovarian aging in women with BRCA germline mutations.** J Clin Endocrinol Metab. 2017; 102(10): 3839-3847 .
28. Oktay K, Turan V, Titus S, Stobezki R, Liu L. **BRCA mutations, DNA repair deficiency, and ovarian aging.** Biol Reprod. 2015; 93(3): 67, 1-10 .
29. Suzuki R, Tan X, Szymanska KJ, Kubikova N, Perez CA, Wells D, et al. **The role of declining ataxia-telangiectasia-mutated (ATM) function in oocyte aging.** Cell Death Discov. 2024; 10(1): 302 .
30. Baumann C, Viveiros MM, De La Fuente R. **Loss of maternal ATRX results in centromere instability and aneuploidy in the mammalian oocyte and pre-implantation embryo.** PLoS Genet. 2010; 6(9): e1001137 .
31. Kim K, Park J, Kim E, Ko J, Park K, Lee K. **Silencing of Rad51 impairs oocyte maturation via mitochondrial dysfunction and mitophagy.** Fertil Steril. 2016; 106(3): e188 .
32. Borde V. **The multiple roles of the Mre11 complex for meiotic recombination.** Chromosome Res. 2007; 15(5): 551-563 .
33. Xie A, Kwok A, Scully R. **Role of mammalian Mre11 in classical and alternative nonhomologous end joining.** Nat Struct Mol Biol. 2009; 16(8): 814-818 .
34. Carroll J, Marangos P. **The DNA damage response in mammalian oocytes.** Front Genet. 2013; 4: 117 .
35. Subramanian GN, Greaney J, Wei Z, Becherel O, Lavin M, Homer HA. **Oocytes mount a noncanonical DNA damage response involving APC-Cdh1-mediated proteolysis.** J Cell Biol. 2020; 219(4): e201907213 .
36. Salehi M. **The expression of miR-31 and its target gene FOXP3 in recurrent implantation failure patients.** Int J Womens Health Reprod. Sci. 2020; 8: 389-395 .
37. Gasparini P, Lovat F, Fassan M, Casadei L, Cascione L, Jacob NK, et al. **Protective role of miR-155 in breast cancer through RAD51 targeting impairs homologous recombination after irradiation.** Proc Natl Acad Sci USA. 2014; 111(12): 4536-4541 .
38. Chen S, Liu R, Wang Q, Qi Z, Hu Y, Zhou P, et al. **MiR-34s negatively regulate homologous recombination through targeting RAD51.** Arch Biochem Biophys. 2019; 666: 73-82 .
39. Peraza-Vega RI, Valverde M, Rojas E. **Interactions between miRNAs and double-strand breaks DNA repair genes, pursuing a fine-tuning of repair.** Int J Mol Sci. 2022; 23(6): 3231 .
40. Dehghan Z, Mohammadi-Yeganeh S, Rezaee D, Salehi M. **MicroRNA-21 is involved in oocyte maturation, blastocyst formation, and pre-implantation embryo development.** Dev Biol. 2021; 480: 1-10 .
41. Dehghan Z, Mohammadi-Yeganeh S, Salehi M. **MiRNA-155 regulates cumulus cells function, oocyte maturation, and blastocyst formation.** Biol Reprod. 2020; 103(3): 548-559.