Journal of Medicinal Plants Biotechnology

JMPB

Original Article

Predicting the targets of medicinal plant miRNAs in human mRNAs by using computational methods

Azita Salampour [1*] ***Dariush Salimi*** [2]

*1. *University of Zanjan*

2. University of Zanjan

ARTICLE INFO

Article history

Submitted: 2026-01-08

Revised: 2026-07-27

Accepted: 2026-08-02

KEYWORDS

Plant miRNAs,
Cross-kingdom gene regulation,
Effective feature,
Target site.

ABSTRACT

Cross-kingdom regulation of human genes by plant miRNAs has always been a topic of discussion and attention. Several reports have been published on the presence of dietary plant miRNAs in the human digestive tract, raising great hopes for their discovery as potential therapeutics. Recent studies have demonstrated that plant miRNAs can enter the bloodstream and plasma of mammals through the digestive tract, subsequently reaching tissues and cells. miRNAs are a type of single-stranded non-coding RNAs with a length of approximately 19–24 nucleotides, which are known as potent regulators of gene expression. These small molecules can regulate mRNAs by cleavage or inhibition of translation. Therefore, discovering the targets of miRNAs is of great importance in biological research. However, due to their short length and limited sequence complementarity with target genes, developing algorithms for accurate prediction of miRNA targets has always been challenging. In this study, the Kronecker method and the mintRULS algorithm, the regularized least squares objective function, were used to predict the targets of plant miRNAs in the human body. Thus, by the effective features that are used in mintRULS algorithm and applying them in the plant miRNA and human mRNA sequence datasets in a similarity-based manner, we were able to achieve a very promising level of model performance as PmintRULS in the experimental dataset from 0.839 to 0.842 in identifying human target sites and classifying them into three classes of strong, medium, and weak, which indicates its high generalizability For the purpose of prognosis and treatment of various diseases.

* Corresponding author: Azita Salampour

✉ E-mail: *azita.salampour@yahoo.com*

CC BY

مجله زیست فناوری گیاهان دارویی

JMPB

مقاله پژوهشی

پیش بینی اهداف miRNAهای گیاهان دارویی در mRNAهای انسانی با روش محاسباتی

آزیتا سلام‌پور*[۱] داریوش سلیمی[۲]

*۱. کارشناسی ارشد،دانشگاه زنجان.

۲. دکترای تخصصی،استادیار،دانشگاه زنجان.

اطلاعات مقاله

تاریخچه مقاله

دریافت: ۱۸-۱۰-۱۴۰۴

بازنگری: ۰۵-۰۵-۱۴۰۵

پذیرش: ۱۱-۰۵-۱۴۰۵

چکیده: miRNAها، نوعی از RNAهای تک‌رشته‌ای غیررمزگذار با طول تقریبی ۱۹ الی ۲۴ نوکلئوتید هستند که به‌عنوان تنظیم‌کننده‌های قوی بیان ژن شناخته می‌شوند. این مولکول‌های کوچک می‌توانند mRNAها را از طریق برش یا مهار ترجمه تنظیم کنند. بنابراین، کشف اهداف miRNAها در تحقیقات زیستی اهمیت زیادی دارد. تنظیم ژن‌های انسانی به صورت Cross Kingdom توسط miRNAهای گیاهی در مطالعات مختلف همواره مورد بحث و توجه بوده است مطالعات اخیر نشان داده‌اند که miRNAهای گیاهی می‌توانند از طریق دستگاه گوارش وارد جریان خون و پلاسمای پستانداران و سپس بافت‌ها و سلول‌های گیرنده شوند و mRNAهای انسانی را مورد هدف قرار دهند. اما به دلیل کوتاهی طول آنها و مکمل بودن محدود توالی‌شان با ژن‌های هدف پیش‌بینی دقیق اهداف miRNAها همواره چالش‌برانگیز بوده است. در این مطالعه، از روش Kronecker و مدل mintRULS که از تابع هدف حداقل مربعات منظم بهره می‌برد، برای پیش‌بینی اهداف miRNAهای گیاهی در بدن انسان استفاده شده است. به گونه‌ای که، با اعمال وزن به ویژگی‌های موثر در مجموعه داده‌های توالی miRNAهای گیاهی و mRNAهای انسانی به صورت شباهت محور و همچنین تولید مجموعه داده انسان گیاه، توانستیم به سطح امیدوارکننده‌ای از عملکرد مدل در مجموعه داده‌های آزمایشی در شناسایی جایگاه‌های هدف انسانی و طبقه‌بندی آنها در سه کلاس قوی، متوسط و ضعیف برسیم به طوریکه نام مدل پیشنهادی که با اعمال وزن به ویژگی‌ها و داده‌های جدید ایجاد شد با عنوان PmintRULS معرفی گردید. این مدل در شناسایی miRNAهای گیاهی در این مجموعه داده‌ای که شامل برنج، دانه سویا، ذرت و گیاهان برگ سبز مانند کلم بروکلی می‌باشند از ۰،۸۳۹ به ۰،۸۴۲ بهبود یافت. این نتیجه می‌تواند نشان‌دهنده قابلیت تعمیم‌پذیری آن در پیش‌آگهی مجموعه‌ای از بیماری‌ها می‌باشد.

واژگان کلیدی:

miRNA گیاهی، تنظیم بیان ژن Cross Kingdom، ویژگی موثر، جایگاه هدف.

*نویسنده مسئول: آزیتا سلام‌پور

azita.salampour@yahoo.com

Journal homepage: jmpb.znu.ac.ir

CC BY

مقدمه

ظهور miRNAها به‌عنوان تنظیم‌کننده‌های اصلی در تنظیم ژن، منجر به کشف یافته‌های جدیدی در حوزه زیستی شده است. miRNAها متعلق به دسته‌ای از RNAهای کوچک غیرکُدکننده‌ای هستند که طولی برابر ۱۹ تا ۲۴ نوکلئوتید دارند و مشتق‌شده از ساختارهای ثانویه ژن‌های رونویسی‌شده هستند. این مولکول‌های کوچک با تنظیم بیان ژن در سطح بعد از رونویسی در گیاهان، پستانداران و ویروس‌ها، ایفای نقش می‌کنند [۱۴، ۱۵، ۳۸، ۳۹، ۱۷].

اولین miRNA شناسایی‌شده (lin-4) در سال ۱۹۹۳ توسط آمبروس در کرم *aenorhabditis elegans* کشف شد[۱۰، ۱۱]. تحلیل‌های بیشتر نشان داده‌اند که miRNAها در محیط خارج سلولی به‌صورت محصور شده و در وزیکول‌های کوچک غشایی[۱] مانند اگزوزوم‌ها[۲] و میکرووزیکول‌ها[۳] یا همراه با پروتئین‌های اتصال‌دهنده RNA[۴] مانند AGO[۵] و یا در کنار لیپوپروتئین‌های[۶] با چگالی بالا وجود دارند [۱۴، ۱۸، ۲۰، ۲۱، ۲۳]

طبق مطالعات صورت‌گرفته مشخص شده است که miRNAها در فرایندهای مختلفی در گیاهان، ازجمله رشد و نمو، انتقال سیگنال، پاسخ به تنش‌های زیستی و غیرزیستی و تنظیم متابولیت‌های ثانویه و حتی در تنظیم فرایند رسیدن میوه نقش دارند [۱۶]؛ به‌علاوه، تحقیقات نشان دادند که گیاهان می‌توانند miRNAهای تولید شده توسط گیاهان مجاور خود را جذب کنند و از طریق آن، خاموشی ژن پس از رونویسی را در گیاه گیرنده فعال سازند [۲۸]. به‌تازگی نیز تنظیم بیان ژن به‌صورت Cross Kingdom[۷] توسط miRNAهای گیاهی به موضوعی قابل توجه میان پژوهشگران تبدیل شده است [۱]. در سال ۲۰۱۲، ژانگ و همکاران گزارش دادند که miRNAهای مشتق‌شده از گیاهان می‌توانند در سرم خون انسان یا در پستاندارانی که از گیاهان تغذیه می‌کنند، وجود داشته باشند و بیان ژن‌های خاصی را در سطح پساترجمه‌ای تنظیم کنند [۲۶، ۱۳، ۲۱]. این یافته‌های جالب، شواهد اولیه‌ای را فراهم کرده‌اند که miRNAهای گیاهی ممکن است توانایی انتقال از گیاهان

[۱] وزیکول پوشش سلولی کوچکی است و مواد را درون سلول منتقل می‌کند و در فرایندهای مختلف سلولی، مانند متابولیسم و ذخیره آنزیم، شرکت می‌کند. اساساً آن‌ها مانند حباب‌های کوچکی درون سلول‌ها هستند که مواد را از مکانی به مکان دیگر حمل می‌کنند.

[2] Exosome

[3] Micro Vesicle

[4] RNA binding proteins

[5] Argonaut

[6] Lipoproteins

[7] Cross Kingdom

به مطالعه چگونگی انتقال مولکول‌هایی مانند miRNAها یا سایر RNAهای کوچک و اعمال اثرات عملکردی بین گونه‌های زیستی مختلف، مانند گیاهان و حیوانات، اشاره دارد و نشان می‌دهد که چگونه این مولکول‌ها که از یک گونه زیستی نشئت گرفته‌اند، می‌توانند بیان ژن را در گونه دیگر تنظیم کنند و به‌طور بالقوه بر فیزیولوژی و سلامت ارگانیسم گیرنده تأثیر بگذارند.

به پستانداران از طریق دستگاه گوارش را داشته باشند [۲۵، ۲۴، ۲۷]. این توانایی نوین miRNAهای گیاهی برای تنظیم ژن‌های هدف در موجودات مختلف ممکن است درک کنونی ما را به‌طور کامل دگرگون کند و فرصت‌های تازه‌ای را برای درمان‌های نوین مبتنی بر رژیم غذایی گیاهی فراهم آورد [۱۹، ۱۲، ۸، ۱۰، ۹، ۵، ۲].

مطالعات اخیر شواهدی ارائه داده‌اند که نشان می‌دهند miRNAهای گیاهی حتی پس از گذراندن فرایندهای مختلفی مانند ذخیره‌سازی، فرایند پخت یا هضم، همچنان قابل شناسایی هستند [۲۲]. گیاهان حاوی متابولیت‌هایی با خواص ضدالتهابی، ضدباکتریایی، ضدویروسی، ضدانگل، ضداسهال، آنتی‌اکسیدانی و ضدسرطانی هستند [۳]؛ لذا پتانسیل گیاهان دارویی در درمان سرطان رو به افزایش است. گیاهان دارویی با خواص ضدسرطانی، پتانسیل قابل توجهی به‌عنوان جایگزین یا مکمل درمان‌های متداول دارند [۴]. در واقع، داروهای ضدسرطان مشتق‌شده از گیاهان به دلیل هدف‌گیری مؤثر miRNAها، به‌شدت برای درمان بیشتر بیماری‌های سرطانی توصیه می‌شوند [۲۹]؛ برای نمونه، ترکیب گیاهی سولفورافان[8] **در** گیاهانی مانند جوانه کلم بروکلی، کلم و هویج، سلول‌های سرطانی معده در انسان را با افزایش بیان miR-124 سرکوب می‌کند [۳۰]. همچنین تعامل بین miRNA گندم و mRNA انسانی می‌تواند در تنظیم شبکه‌هایی از بیماری‌های پیچیده، مانند اسکیزوفرنی، صرع، سرکوبگر تومور و التهاب، نقش مؤثری داشته باشد [۳۱]. از آنجا که تشخیص زودهنگام سرطان در بهبود نتیجه درمان حیاتی است، قابلیت شناسایی مراحل اولیه سرطان‌ها با حساسیت و ویژگی بالا همراه است [۳۲].

شناسایی اهداف miRNA یکی از روش‌های کشف نقش آن در فرایندهای زیستی طبیعی است؛ زیرا مطالعات اولیه نشان دادند که miRNAهای گیاهی می‌توانند به‌صورت کامل و یا تقریباً کامل با mRNAهای هدف گیاهی خود جفت شوند [۳۴، ۳۳].

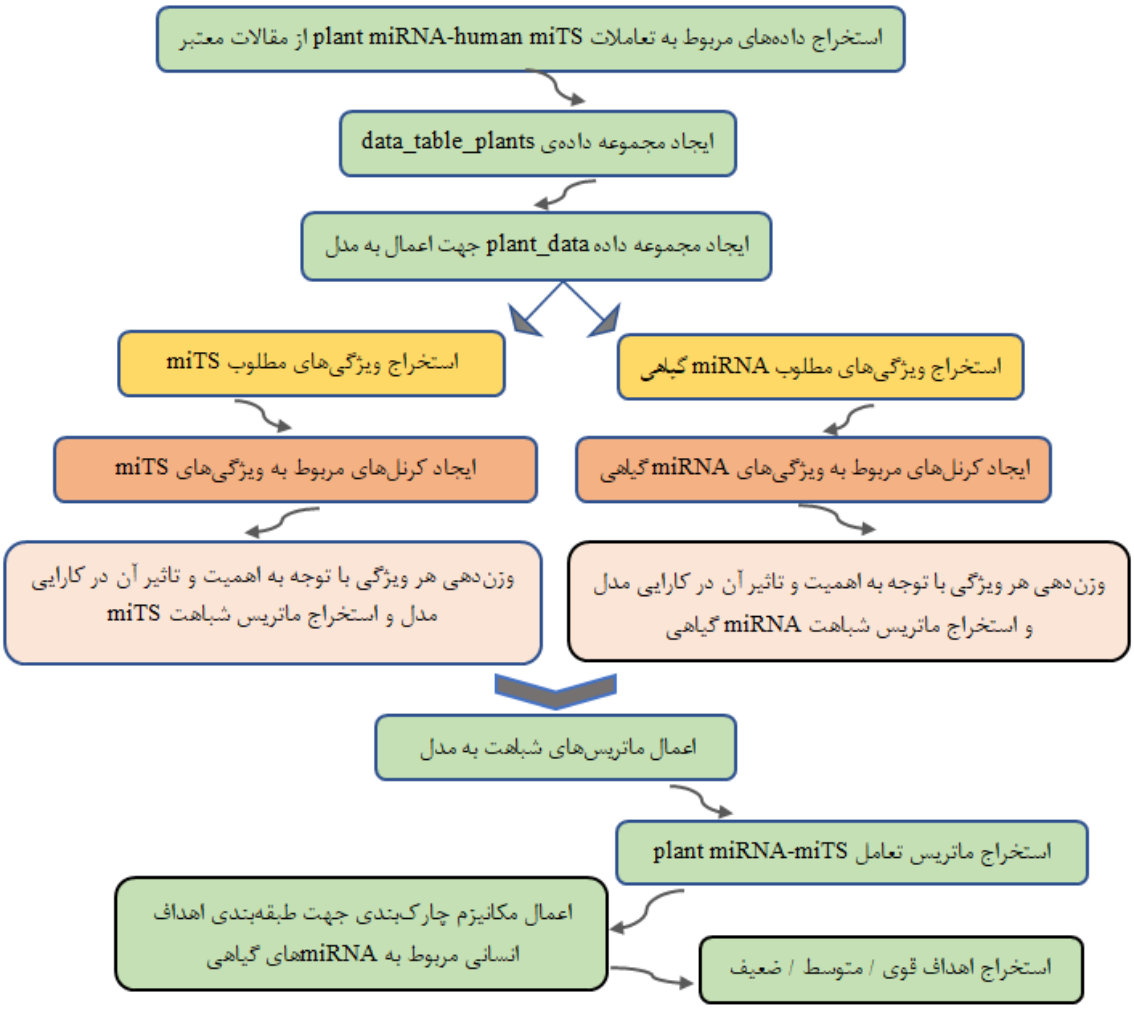
در این مطالعه با اطلاعات مجموعه داده ایجاد شده انسان - گیاه (مجموعه داده‌های miRNA گیاهی و mRNA انسانی) که پیش‌تر به آن اشاره شد، الگوریتم یادگیری ماشین مبتنی بر تابع هدف حداقل مربعات منظم، روش Kronecker و همچنین تعیین میزان اهمیت هر ویژگی، تعاملات بین miRNA-miTSها را مورد بررسی قرار دادیم تا بدین وسیله بتوانیم اهداف پیش‌بینی‌شده را در سه دسته قوی، متوسط و ضعیف طبقه‌بندی کنیم [۶۰، ۶۹، ۷۰]. در نهایت، با داده‌های تجربی مدل را ارزیابی کردیم و به نتایج مطلوبی در شناسایی اهداف دست یافتیم تا بدین وسیله بتوانیم به درمان و پیش‌آگهی طیف وسیعی از بیماری‌ها سرعت بیشتری ببخشیم. از چالش‌های موجود در این پژوهش

[8] Sulforaphane

می‌توان به عدم وجود پایگاه داده‌ای منسجم انسان - گیاه اشاره نمود. همان‌طور که می‌دانیم، وجود داده کافی در آموزش مدل و پیش‌بینی دقیق، از اهمیت بالایی برخوردار است [۴۲، ۴۳، ۴۴، ۴۵، ۴۶]. با وجود هرچه بیشتر این داده‌ها، کارایی مدل در پیش‌بینی اهداف افزایش می‌یابد و از دقت بالاتری برخوردار خواهد شد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه به پیش‌بینی اهداف انسانی miRNAهای گیاهی حاصل از مصرف خوراکی در بدن انسان خواهیم پرداخت و سپس این اهداف را در سه کلاس قوی، متوسط و ضعیف طبقه‌بندی خواهیم کرد؛ لذا فرایند تولید ماتریس تعاملات plant miRNA-human miTS بر اساس میزان اهمیت آن‌ها از ایجاد مجموعه داده تا استخراج نتیجه نهایی را می‌توان در گام‌های زیر به‌وضوح مشاهده کرد.



شکل ۱: فرایند تولید ماتریس تعاملات plant miRNA-human miTS و طبقه‌بندی اهداف انسانی بر اساس میزان اهمیت آن‌ها از ایجاد مجموعه داده تا استخراج نتیجه نهایی

تولید مجموعه داده انسان – گیاه

به دلیل عدم وجود پایگاه داده‌ای منسجم که نشان‌دهنده اهداف و تعاملات بین miRNAهای گیاهی و mRNAهای انسانی باشد، داده‌های مورد استفاده در مدل از مقالات به‌روز و متعدد که نتایج مربوط به این تعاملات را به‌صورت پیش‌بینی‌شده و تجربی آزمایشگاهی شناسایی کرده‌اند، جمع آوری شده است. سپس اطلاعات مورد نیاز از این داده‌ها که تنها شامل نام miRNA گیاهی و ژن مورد هدف در بدن انسان بود، استخراج شد تا مجموعه داده مورد نظر برای اعمال به مدل، مورد استفاده قرار گیرد [۵۰، ۴۹، ۴۸، ۴۷، ۱]. مراحل و نحوه استخراج اطلاعات در شکل ۲ نشان داده شده است. این مقالات شامل طیف نسبتاً وسیعی از miRNAهای گیاهی در تعامل با ژن‌های انسانی هستند که از این میان، تعداد محدودی از گیاهان که توالی محافظت‌شده‌ای داشتند، انتخاب شده‌اند که شامل دانه سویا[9] [۵۱]، برنج[10] [۵۲]، ذرت[11] [۵۳]، گیاه MTR[12] [۵۴]، جنسینگ[13] [۵۵]، دانه کلزا[14] [۵۶]، گوجه فرنگی[15] [۵۷]، انواع کلم و کلم بروکلی[16] و گیاه *Arabidopsis thaliana* [۵۸] می‌شوند. شایان ذکر است که تعداد داده‌های استخراج‌شده از منابع مطالعاتی شامل ۳۲۹ miRNA گیاهی در تعامل با ۱۵۲۷ ژن انسانی به‌عنوان داده‌های آموزشی و ۸ miRNA گیاهی در تعامل با ۴ ژن انسانی به‌عنوان داده‌های آزمایشی در نظر گرفته شده است.

طبق منبع مطالعاتی ذکر شده، انتخاب این داده‌ها به‌عنوان پیش‌بینی‌شده بر این اساس انجام شده است که ابتدا ۲۰ miRNA انسانی که ژن‌های خاصی را هدف قرار می‌دادند و ناحیه هسته آن‌ها توالی یکسانی با ناحیه هسته ۸ miRNA گیاهی ذکر شده دارد، به روش in silico[17] (نوعی روش آزمایشگاهی – محاسباتی) مورد تحلیل و بررسی قرار گرفتند. معیار انتخاب این تعداد محدود برای بررسی، محافظت‌شده بودن و ثبات بالای توالی آن‌ها ذکر شده است. همچنین ژن‌های انسانی هدف بیان‌شده در منبع مطالعاتی در پایگاه داده miRTarBase اعتبارسنجی شده‌اند. طی محاسبات صورت‌گرفته، ژن‌های مورد هدف miRNAهای انسانی نیز توانستند مورد هدف miRNAهای گیاهی انتخاب‌شده قرار گیرند. در نهایت، نتیجه حاصل‌شده به کل ۳۲۹ miRNA و ۱۵۲۷ ژن تعمیم داده شد؛ لذا این تعداد از miRNAها و ژن‌ها

[9] Glycine Max
[10] Oryaz Sativa
[11] Zea Mays
[12] MedicAgo Truncatula
[13] Panax Ginseng
[14] Barassica Napus
[15] Solanum Lycopersicum
[16] Brassica Oleracea

[17] in silico
روش in silico یکی از مهم‌ترین رویکردهای پژوهشی در زیست‌شناسی محاسباتی، بیوانفورماتیک و زیست‌فناوری است که امروزه در مطالعات ژنومیک، ترنسکریپتومیک، طراحی دارو، طراحی واکسن، پیش‌بینی ساختار پروتئین و شناسایی برهم‌کنش‌های مولکولی، به‌طور گسترده مورد استفاده قرار می‌گیرد.

به‌عنوان داده‌های پیش‌بینی‌شده در این تحقیق در نظر گرفته شده‌اند.

بقیه داده‌ها نیز طبق مطالعات صورت‌گرفته در مقالات ارجاع‌شده کاملاً تجربی - آزمایشگاهی بوده‌اند که در اعتبارسنجی مدل در این پژوهش مورد استفاده قرار خواهند گرفت.

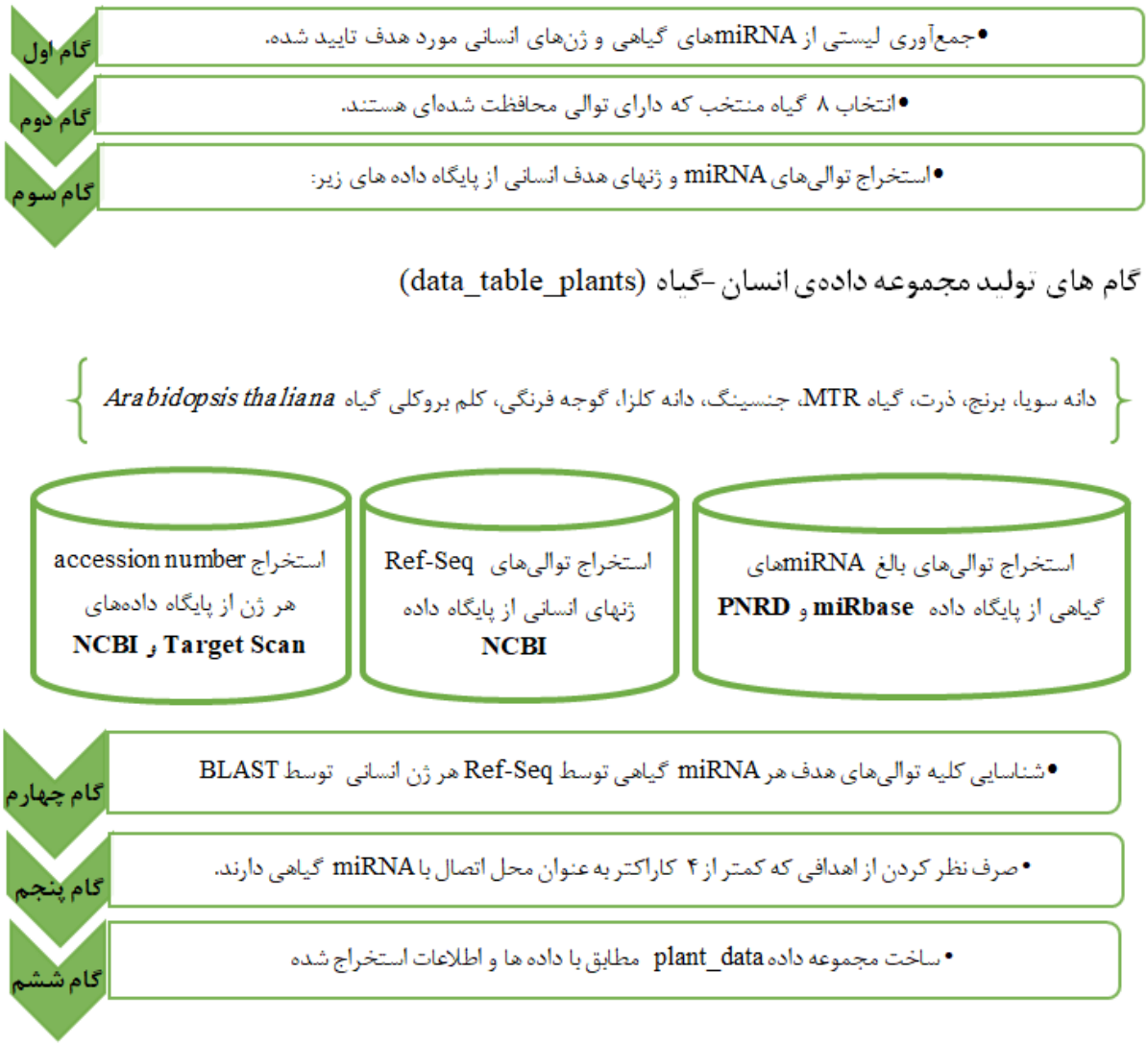
در جدول ۲ به‌طور خلاصه نقش درمانی و عملکردی miRNAهای گیاهی و ژن‌های مورد هدف آن‌ها با توجه به یافته‌های آزمایشگاهی بر نمونه‌های انسانی بیان شده است.

جدول ۲: نقش عملکردی miRNAهای گیاهی در بدن انسان. گونه‌های گیاهی به همراه miRNAهای موجود در آن‌ها و اهداف انسانی که می‌توانند منجر به درمان و یا تشدید بیماری شوند.

گونه گیاهی	miRNA	ژن مورد هدف	بیماری	منبع
برنج	osa-miR168a	LDLRAP1	افزایش کلسترول	[۵۸ ,۵۰-۴۸]
	osa-miR172d-5p	Tab1(TGFβ)	سرکوب فیبروز ریوی	[۴۹]
سویا، کلم بروکلی و *Arabidopsis thaliana*	gma-miR159a-3p ath-miR159a	TCF7	رشد سلول‌های سرطان پستان	[۵۹]
اسفناج، کاهو، ذرت، برنج و *Arabidopsis thaliana*	ath-miR156a osa-miR156a zma-miR156a-5p bol-miR156	JAM-A	کنترل بیماری‌های قلبی و عروقی و جلوگیری از پیشرفت تصلب شرایین	[۵۰]

استخراج اطلاعات زیستی و ژنتیکی

در این مطالعه از پایگاه داده‌های مختلفی همچون PNRD، TargetScan 8.0، miRbase 22.1 و NCBIبرای استخراج اطلاعات مربوط به توالی‌های گیاهی و انسانی استفاده شده است. همچنین داده‌های موجود پیش‌پردازش شدند تا جفت‌هایی با اطلاعات ناقص حذف شوند؛ برای مثال، تمام miRNAهایی که یک یا چند حرف «N» در توالی نوکلئوتیدی خود داشتند، حذف شدند. همچنین کمتر از چهار تطابق به‌عنوان عدم وجود تعامل بین miRNA گیاهی و mRNA انسانی در نظر گرفته شده است. گام‌های تولید مجموعه داده انسان - گیاه در شکل ۲ نشان داده شده است.



شکل۲: مسیر ایجاد مجموعه داده‌ی data_table_plants

اطلاعات حاصل از تعاملات plant miRNA-human mRNA

بخشی از اطلاعات استخراج‌شده از مجموعه داده data_table_plants در مجموعه داده نهایی plant_data و در جدول ۳ قابل مشاهده است. بر این اساس، از ۱۵۳۱ ژن انسانی، ۱۰۳۲۶ جایگاه اتصال برای ۳۳۷ miRNA گیاهی شناسایی شده است؛ بنابراین، تعداد ۱۰۷۰۱ تعامل بین miRNA-mRNA به‌عنوان داده مثبت استخراج شد؛ لذا یک ماتریس همجواری $A_{337*10326}$ از داده‌های موجود خواهیم داشت؛ به‌گونه‌ای که برای طبقه‌بندی سه کلاس با عنوان اهداف قوی، متوسط و ضعیف بین miRNA-miTSهای انسانی – گیاهی، از این داده‌ها استفاده خواهیم کرد.

جدول ۳: بخشی از اطلاعات و نتایج استخراج‌شده از مجموعه داده data_table_plants

miRNAs	mRNAs(miTS)	Genes	MTAs
۳۳۷	۱۰۳۲۶	۱۵۳۱	۱۰۷۰۱

همان‌طور که پیش‌تر بیان شد، ویژگی‌های فراوانی می‌توان از داده‌های توالی‌یابی‌شده miRNA گیاهی و mRNA انسانی استخراج نمود؛ ولی لزوماً کلیه این ویژگی‌ها باعث افزایش کارایی مدل در پیش‌بینی اهداف نخواهند شد؛ بنابراین، انتخاب ویژگی‌های مطلوب یکی از مهم‌ترین و اساسی‌ترین موارد در این مطالعه خواهد بود [۳۵، ۳۶]. همچنین پیشرفت‌های اخیر در فناوری توالی‌یابی نسل بعد، امکان تحلیل مجموعه داده بزرگ حاصل از miRNAهای گیاهی را فراهم کرده است [۳۷، ۳۹، ۴۰]. طبق ویژگی‌های پیشنهاد شده در مدل mintRULS که مدل مورد استفاده در این مطالعه است، پیش‌بینی اهداف انسانی توسط miRNAهای گیاهی صورت خواهد گرفت [۶۰]؛ لذا برای پیش‌بینی بهتر نیاز است تا توالی miRNAهای گیاهی با دقت بیشتری مورد بررسی قرار گیرند تا بتوان ویژگی‌های مطلوبی از آن‌ها استخراج نمود. این ویژگی‌ها به‌صورت شباهت‌محور استخراج شده‌اند. امتیاز هریک به‌صورت جداگانه محاسبه و سپس ماتریس امتیاز هر ویژگی به‌صورت جداگانه تولید شده است. سپس بر اساس معادلات رگرسیون، هر ویژگی بر اساس میزان اهمیتش وزن‌دهی می‌شود.

محاسبه امتیاز مبتنی بر شباهت برای miRNA گیاهی

در این بخش، سیستم امتیازدهی جامع مبتنی بر شباهت بین miRNAهای گیاهی طراحی می‌شود؛ به‌طوری که این امتیازها بر اساس میزان شباهت دو miRNA به دست می‌آیند. این ویژگی‌ها شامل موارد زیر هستند که به‌ترتیب مورد بررسی قرار خواهند گرفت.

- شباهت مبتنی بر انرژی آزاد در miRNA گیاهی (Free energy)
- شباهت مبتنی بر پروفایل تعامل گوسی
- شباهت مبتنی بر روش Needleman-Wunsch
- شباهت مبتنی بر الگوهای تکراری ساده توالی (Simple Sequence Repeat)

شباهت مبتنی بر انرژی آزاد در miRNAs گیاهی

انرژی آزاد miRNA و mRNA عامل مهمی در تسهیل برهم‌کنش آن‌ها است؛ زیرا امکان باز شدن نواحی اتصال و جفت شدن نوکلئوتیدها را فراهم می‌کند. در این مطالعه، حداقل انرژی آزاد هر miRNA با استفاده از بسته پایتونی seqfold و بر اساس قوانین ترمودینامیکی محاسبه شد. سپس شباهت بین جفتmiRNA ها طبق رابطه ۱ بر

پایه فاصله اقلیدسی محاسبه و ماتریس شباهت انرژی آزاد miRNAها با نماد FE_m حاصل خواهد شد [۶۰].

$$ED(mi_i, mi_j) = \sqrt{\sum_{i=1}^{n} (Fmi_i - Fmi_j)^2} \quad (۱)$$

Fmi بیانگر انرژی آزاد هر miRNA گیاهی است.

شباهت مبتنی بر پروفایل تعاملی گاوسی

شباهت مبتنی بر پروفایل تعاملی گاوسی در بسیاری از پیش‌بینی‌های مربوط به تعاملات استفاده می‌شود که شامل drug-target [۶۱]، drug-drug[۶۲] و ارتباطات miRNA-disease [۶۳] است. در اینجا شباهت کرنل پروفایل تعاملی گاوسی بین دو $miRNA$، یعنی m_i و m_j، به‌صورت زیر تعریف شده است و با نماد $GP_m(m_i, m_j)$ نشان داده می‌شود [۶۴].

$$GP_m(m_i, m_j) = e^{(-\varphi_m \|IP(m_i) - IP(m_j)\|^2)} \quad (۲)$$

$IP(m_i)$ بردار باینری شامل مقادیر صفر و یک است که پروفایل تعاملات miRNA، m_i را نشان می‌دهد. این بردار بیانگر این است که m_i با کدام mRNAها تعامل دارد و با کدامیک تعامل ندارد.

φ_m پارامتری برای تنظیم پهنای باند کرنل است و مقدار آن از رابطه زیر به دست می‌آید:

$$\varphi_m = \frac{\varphi'_m}{\left(\frac{1}{nm}\sum_{i=1}^{nm} \|IP(m_i)\|^2\right)} \quad (۳)$$

- nm تعداد کل miRNAهای انتخاب‌شده است.
- φ_m' مقداری ثابت بوده و بر اساس مطالعات قبلی برابر با ۱ در نظر گرفته شده است [۶۰].

شباهت توالی مبتنی بر روش Needleman-Wunsch

بر اساس داده‌های تجربی miTS-miRNA، miRNAهایی با توالی‌های مشابه در ناحیه هسته معمولاً ژن‌های هدف مشترکی را تنظیم می‌کنند؛ بنابراین، شباهت زوجی توالی miRNAها با استفاده از الگوریتم Needleman–Wunsch محاسبه و به‌صورت امتیاز شباهت و ماتریس شباهت نمایش داده می‌شود [۹۰]. امتیاز شباهت بین دو miRNA m_i، m_j با نماد $NS_m(m_i, m_j)$ و ماتریس شباهت با نماد NS_m نشان داده خواهد شد.

شباهت مبتنی بر الگوهای تکراری ساده توالی در miRNAهای گیاهی

الگوهای تکراری ساده در miRNAها شامل توالی‌های کوتاه ۱ تا ۶ نوکلئوتیدی هستند که می‌توانند بر نحوه اتصال miRNA به mRNA تأثیر بگذارند [۶۵]. با توجه به اهمیت این الگوها، آن‌ها با استفاده از ابزار ssrtool[18]، از هر miRNA استخراج شدند. فرایند استخراج بر اساس حداقل دو تکرار متوالی انجام گرفت؛ زیرا انتخاب آستانه‌های بالاتر منجر به ایجاد ماتریس تنک و کاهش عملکرد مدل می‌شود.

[18] Simple Sequence Repeat tool (https://archive.gramene.org/db/markers/ssrtool)

در این مرحله برای استخراج توالی‌های تکرارشونده با در نظر گرفتن تعداد تکرارهای الگوهای تکراری در هر miRNA، شباهت زوجی مبتنی بر تکرار الگوها بین دو miRNA، یعنی m_i و m_j، با استفاده از تابع گاوسی[19] به‌صورت زیر محاسبه می‌شود [۶۴]:

$$SR_m(m_i, m_j) = e^{\left(-\varphi_m \| RF(m_i) - RF(m_j) \|^2\right)} \quad (۴)$$

- $RF(m_i)$ و $RF(m_j)$ بردارهای دودویی هستند که وجود یا عدم وجود تمام الگوهای تکراری در miRNAهای m_i و m_j را نشان می‌دهند.
- φ_m نیز پارامتر تنظیم‌کننده پهنای باند کرنل است و از رابطه زیر محاسبه می‌شود:

$$\varphi_m = \frac{\varphi'_m}{\left(\frac{1}{nm}\sum_{i=1}^{nm} \| RF(m_i) \|^2\right)} \quad (۵)$$

ادغام امتیازهای شباهت miRNAها

ویژگی‌های به‌دست‌آمده از مراحل قبل با استفاده از روش ترکیب وزنی[20] با یکدیگر ترکیب می‌شوند تا ماتریس شباهت یکپارچه‌ای برای miRNAها با نام S_m به دست آید که به‌صورت زیر تعریف می‌شود [۶۰]:

$$S_m = \{(\alpha_1 \times FE_m) + (\alpha_2 \times GP_m) + (\alpha_3 \times NS_m) + (\alpha_4 \times SR_m)\} \quad (۶)$$

محاسبه امتیاز مبتنی بر شباهت برای mRNA انسانی

مشابه با امتیازهای اختصاص داده‌شده به miRNAهای گیاهی، ما مجموعه‌ای از ویژگی‌های متمایز را برای miTSهای انسانی که اهداف miRNAهای گیاهی هستند، به کار بردیم که به شرح زیر است:

- شباهت mRNAها بر پایه انرژی آزاد (FE)
- شباهت mRNAها بر پایه دسترس‌پذیری به جایگاه هدف (TS_access)[21]
- شباهت mRNAها بر پایه محتوای AU (AU_content)
- شباهت مبتنی بر الگوهای تکرارشونده ساده توالی در mRNAهای انسانی (SSR)

شباهت mRNAها بر پایه انرژی آزاد

ابزار seqfold به روشی مشابه با miRNAهای گیاهی برای محاسبه حداقل انرژی آزاد هر جایگاه هدف miRNAبه کار گرفته می‌شود. سپس شباهت بین دو جایگاه اتصال با نام‌های t_i و t_j، طبق فاصله اقلیدوسی و بر اساس انرژی آزاد که با نماد $FE_t(t_i, t_j)$ نمایش داده می‌شود، محاسبه می‌گردد و در نهایت، ماتریس شباهت‌های جفتی بر اساس انرژی آزاد که با نماد FE_t نشان داده می‌شود، به دست می‌آید [۶۰].

$$ED(m_i, m_j) = \sqrt{\sum_{i=1}^{n} (Fm_i - Fm_j)^2} \quad (۷)$$

[19] Kernel Gaussian Profile
[20] weighted Combination Approach
[21] Target Site Accessibility

شباهت mRNAها بر پایه دسترسی‌پذیری به جایگاه هدف

دسترسی‌پذیری جایگاه هدف miRNA عامل مهمی در اتصال miRNA به miTS و تنظیم بیان ژن است. برای محاسبه این ویژگی از ماژول RNAplfold در بسته ViennaRNAاستفاده می‌شود [۶۰] و شباهت دسترسی‌پذیری بین جایگاه‌های هدف بر اساس فاصله اقلیدسی سنجیده و در قالب ماتریسی به نام TA_t نمایش داده می‌شود.

شباهت mRNAها بر پایه محتوای AU

افزایش محتوای AU و کاهش GC در نزدیکی محل هدف و ناحیه ′۳ mRNA، دسترسی miRNA و کارایی برهم‌کنش را افزایش می‌دهد [۶۶]؛ بنابراین، محتوای GC[۲۲] در هر ناحیه از هدف miRNA و پس از آن، شباهت زوجی بر اساس AU[۲۳] بین دو miTS، یعنی t_i و t_j، بر اساس فاصله اقلیدسی محاسبه می‌گردد و با نماد $AU_t(t_i, t_j)$ نشان داده می‌شود.

شباهت مبتنی بر الگوهای تکرارشونده ساده توالی در mRNAهای انسانی

مشابه miRNAهای گیاهی، الگوهای تکراری از توالی هر جایگاه هدف miRNA استخراج می‌شوند؛ با این تفاوت که معیار فیلترینگ الگوی تکراری بر مبنای حداقل سه تکرار انجام می‌شود. سپس شباهت دوتایی مبتنی بر پروفایل گاوسی، یعنی t_i و t_j، با استفاده از تابع گاوسی $SR_t(t_i, t_j)$ محاسبه می‌شود و ماتریس دوتایی شباهت‌ها با نماد SR_t نمایش داده خواهد شد [۶۰].

ادغام امتیازهای شباهت mRNAها

مشابه با تحلیل صورت‌گرفته در miRNAهای گیاهی، امتیاز ویژگی‌های به‌دست‌آمده از مراحل قبل با استفاده از روش ترکیب وزنی با یکدیگر ترکیب می‌شوند تا ماتریس شباهت یکپارچه‌ای برای mRNAها با نام S_t به دست آید که به‌صورت زیر تعریف می‌شود [۶۰]:

$$S_t = \{(\beta_1 \times FE_t) + (\beta_2 \times TA_t) + (\beta_3 \times AU_t) + (\beta_4 \times SR_t)\} \quad (۸)$$

محاسبه میزان اهمیت ویژگی‌ها

برای بهبود کارایی مدل، اهمیت ویژگی‌های miRNA گیاهی و miTS انسانی ارزیابی و بر اساس آن‌ها وزن‌دهی انجام شد؛ به‌طوری که با ثابت نگه داشتن ویژگی‌های mRNA، تأثیر مستقل ویژگی‌های miRNA گیاهی و بالعکس به دست می‌آید که طبق جدول ۴ قابل مشاهده است.

[22] Guanin Cytosine
[23] Adenine Uracil

جدول ۴: ویژگی‌های استخراج‌شده miRNA گیاهی و miTS انسانی و میزان اهمیت آن‌ها بر اساس معیار AUC

miRNA features	AUC	miTS features	AUC
K_{mi1} : Free energy	0.70	K_{m1} : Free energy	0.84
K_{mi2} : Needleman sequence similarity	0.84	K_{m2} : AU content	0.85
K_{mi3} : Gaussian profile-based similarity	0.84	K_{m3} : Accessibility	0.84
K_{mi5} : SSRs Gaussian-based similarity	0.73	K_{m5} : SSRs Gaussian-based similarity	0.64

مدل mintTULS

در فاز اول این مسئله ابتدا می‌بایست جایگاه‌های اتصال در بدن انسان که توسط miRNAهای گیاهی مورد هدف قرار می‌گیرند، شناسایی شوند که هدف آن پیش‌بینی احتمال وجود ارتباط بین دو گره دلخواه در یک شبکه است؛ لذا در این مطالعه از مدلی محاسباتی با عنوان mintRULS استفاده شده که از ماتریس همجواری MTAs[۲۴] طبق تعاملات موجود بین miRNA گیاهی و نواحی هدف انسانی شکل گرفته است. این مدل از ماتریس‌های شباهت‌محور miRNA و miTS، همان‌طور که پیش‌تر محاسبه شد، بهره می‌برد. سپس نتیجه حاصل بر اساس امتیاز به‌دست‌آمده بر پایه روش Kronecker و حداقل مربعات منظم[۲۵] محاسبه می‌گردد [۶۰].

عملکرد مدل PmintRULS

طبق شکل ۳ ماتریس مجاورت A_{nm*nt}، بر اساس تعاملات بین تعداد nm، miRNA و nt، miTS ایجاد می‌شود؛ به‌گونه‌ای که در صورت وجود ارتباط بین miRNA m_i و miTS t_j، مقدار $A_{m_i \times t_j}$ برابر با یک و در غیر این صورت، برابر با صفر خواهد شد. در این مدل، مجموعه داده‌ای تصادفی با k تا miRNA به‌صورت $M = \{m_1, m_2, \ldots, m_k\}$ و l تا miTS به‌صورت $L = \{t_1, t_2, \ldots, t_l\}$ از ماتریس همجواری A_{nm*nt} انتخاب می‌شوند؛ به‌گونه‌ای که $A_{k*l} \subset A_{nm*nt}$ است [۶۰].

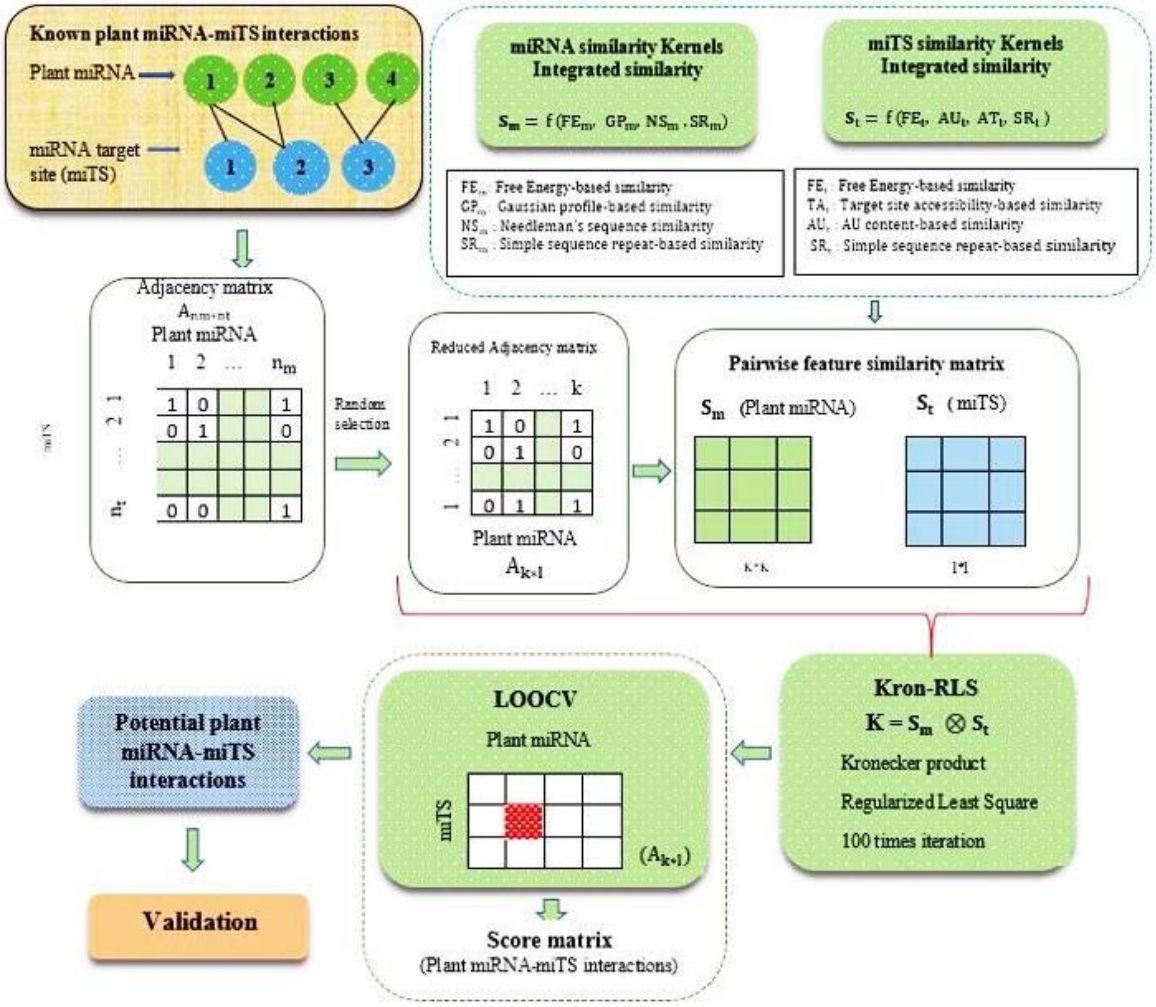
الگوریتم حداقل مربعات منظم

در این مدل تابع هدف، رگرسیون کمترین مربعات منظم‌شده به‌صورت زیر تعریف می‌شود:

$$\arg\min_{H} \frac{1}{2}(\boldsymbol{F} - f(\boldsymbol{K}))^2 + \frac{\lambda}{2}\|f\|_K^2 \qquad (۹)$$

$\|f\|_K$ نرم تابع f است که توسط کرنل K اندازه‌گیری می‌شود و با استفاده از پارامتر λ بین خطای پیش‌بینی و پیچیدگی مدل، تعادل برقرار می‌کند [۶۷، ۶۸].

[24] miRNA Target Site Association
[25] The Regularized Least Square



شکل۳: مدل PmintRULS به کار رفته به منظور پیش‌بینی تعاملات plant miRNA-miTS بین انسان و گیاه و ویژگی‌های استخراج شده از توالی‌های miRNA گیاهی و نواحی هدف انسانی [۶۰].

در این روش، کرنل‌های miRNA و miTS به‌صورت جداگانه از بردارهای ویژگی استخراج و جفت‌های miRNA-miTS به‌ترتیب از ماتریس‌های ساختار شیمیایی و شباهت توالی، حاصل می‌شوند و با استفاده از ضرب Kronecker کرنل‌های مربوط محاسبه می‌شوند.

روش Kronecker

در مسئله حاضر، دو فضای ویژگی وجود دارد: فضای miRNA و فضای mRNA. برای حل این مسئله، ترکیب کرنل‌های دو فضا در کرنلی بزرگ‌تر که به‌طور مستقیم جفت‌های miRNA-miTS را به هم مرتبط می‌سازد، راه‌حل بهتری خواهد بود. برای این منظور، از کرنل ضرب Kronecker استفاده می‌شود [۶۹]. طبق محاسبات پیشین که کرنل miRNA را با S_m و کرنل mRNA را با S_t نشان دادیم، در این صورت کرنل حاصل از ضرب Kronecker به‌صورت زیر خواهد بود:

$$K = S_m \otimes S_t \qquad (۱۰)$$

که در آن نماد $\otimes$ نشان‌دهنده ضرب Kronecker است. حال با اعمال کرنل حاصل ضرب Kronecker، تابع هدف ۹ به فرم زیر تبدیل خواهد شد:

$$\arg\min_{H} \frac{1}{2}\left\|\mathrm{vec}(\mathbf{F}) - \mathrm{f}(\mathbf{K})\right\|_{\mathrm{F}}^{2} + \frac{\lambda}{2}\left\|\mathrm{f}\right\|_{\mathrm{K}}^{2} \qquad (۱۱)$$

در رابطه ۱۱، تابع f که برای کاهش خطای تابع هدف در نظر گرفته شده است، به فرم زیر است:

$$\mathrm{f}(\mathbf{K}) = \sum_{i=1}^{n} \mathbf{a}_i \mathrm{k}(\mathrm{x}, \mathrm{x}_i) = (\boldsymbol{K}) = \boldsymbol{K}a \qquad (۱۲)$$

به گونه‌ای که $\mathrm{k}(\mathrm{x}, \mathrm{x}_i)$کرنل و a وزنی است که به هر جفت، داده خواهد شد:

با مشتق‌گیری از رابطه ۱۱ پارامتر **a** به صورت زیر حاصل خواهد شد:

$$\mathbf{a} = (\mathbf{K} + \lambda \mathbf{I}_{\mathrm{NM}})^{-1}\mathrm{vec}(\mathbf{F}) \qquad (۱۳)$$

در رابطه ۱۲، K کرنل حاصل از ضرب Kronecker و I ماتریس همانی خواهد بود.

در این مرحله می‌بایست معکوس ماتریس $(\mathrm{K} + \lambda \mathrm{I})$ را محاسبه کنیم. [۹۶]. از آنجاکه ماتریس‌های کرنل، مثبت-معین هستند، بنابراین می‌توان آنها را توسط روش تجزیه مقدار منفرد[۲۶] تجزیه کرد [۷۱]. لذا، ماتریس‌های کرنل $\mathrm{S_m}$ و $\mathrm{S_t}$ به صورت زیر تجزیه خواهند شد:

$$\mathrm{S_m} = \mathrm{V_m}\Lambda_{\mathrm{m}}\mathrm{V_m^T} \quad \text{and} \quad \mathrm{S_t} = \mathrm{V_t}\Lambda_{\mathrm{t}}\mathrm{V_t^T} \qquad (۱۴)$$

بررسی کارایی مدل

عملکرد مدل PmintRULS با انجام اعتبارسنجی متقابل[۲۷] به روش LOOCV[۲۸] روی داده‌های انسان - گیاه ارزیابی می‌شود؛ به‌طوری که در هر تکرار، تعامل miRNA–miTSبه‌عنوان آزمون و سایر تعامل‌ها به‌عنوان آموزش در نظر گرفته می‌شوند. برای کاهش هزینه محاسباتی و بیش‌برازش، زیرماتریسی تصادفی از داده‌ها به‌گونه‌ای که $\mathrm{k=nm}$ و $\mathrm{l=0.3\times nt}$ است، در ۱۰۰ تکرار انتخاب و ارزیابی انجام می‌شود.

نرمال‌سازی امتیاز و ارزیابی عملکرد

برای محاسبه نرخ مثبت واقعی[۲۹] و نرخ مثبت کاذب[۳۰]، از تعاملات واقعی و پیش‌بینی‌شده miRNA–miTSاستفاده می‌شود. عملکرد مدل از طریق منحنی ROC و معیار AUC ارزیابی می‌شود. در شبیه‌سازی‌ها، حداقل طول miTS برابر ۴۰ نوکلئوتید در نظر گرفته شده است و امتیازهای خروجی PmintRULS با روش

[26] Singular Value Decomposition
[27] Cross-Validation
[28] Leave One Out Cross Validation
[29] True Positive Rate (TPR)
[30] False Positive Rate (FPR)

Unity-Based Normalization در بازه ۰ تا ۱ نرمال‌سازی می‌شوند.

$$X' = a + \frac{X - X_{min}}{X_{max} - X_{min}} \times (b - a) \qquad (۱۵)$$

X' امتیاز نرمال‌شده به‌دست‌آمده از امتیاز X برای جفتی تعاملی است که توسط مدل به دست آمده است. در نهایت، همه جفت‌ها بر اساس نرمال‌سازی چارکی[31] به سه دسته تقسیم می‌شوند که به شرح زیر است:

- **اهداف ضعیف** (Weak Targets): کمتر از چارک پایین (چارک ۲۵ درصد)
- **اهداف متوسط** (Moderate Targets): بین چارک پایین (۲۵ درصد) و چارک بالا (۷۵ درصد)
- **اهداف قوی** (Strong Targets): بیشتر از چارک بالا (۷۵ درصد)

در این مطالعه از محیط‌های پیاده‌سازی Python 3.11.3, R 4.4.2 و Collab استفاده شده است.

نتایج حاصل از مدل mintRULS

طبق مطالعات مروری صورت‌گرفته و روش‌های ارائه‌شده از جنبه‌های جدید این نوآوری، می‌توان به جمع‌آوری داده‌های تجربی miRNAهای گیاهی و نقش تنظیمی آن‌ها به‌صورت Cross Kingdom بر ژن‌های انسانی، به مقالات معتبر و ایجاد مجموعه داده‌ای منسجم مبتنی بر داده‌های انسان - گیاه اشاره نمود که به غنای این مدل افزوده است. به‌منظور تعیین میزان اهمیت هر ویژگی، وزن بیشتر به ویژگی‌هایی با مشارکت فردی بیشتر و وزن کمتر به ویژگی‌هایی با اهمیت کمتر اختصاص داده شد تا بدین وسیله بهبود قابل توجهی در ارزیابی مدل و کسب AUC بهتر به دست آید؛ بنابراین، ویژگی‌های مدل به‌صورت زیر قابل اعمال به مدل خواهند بود.

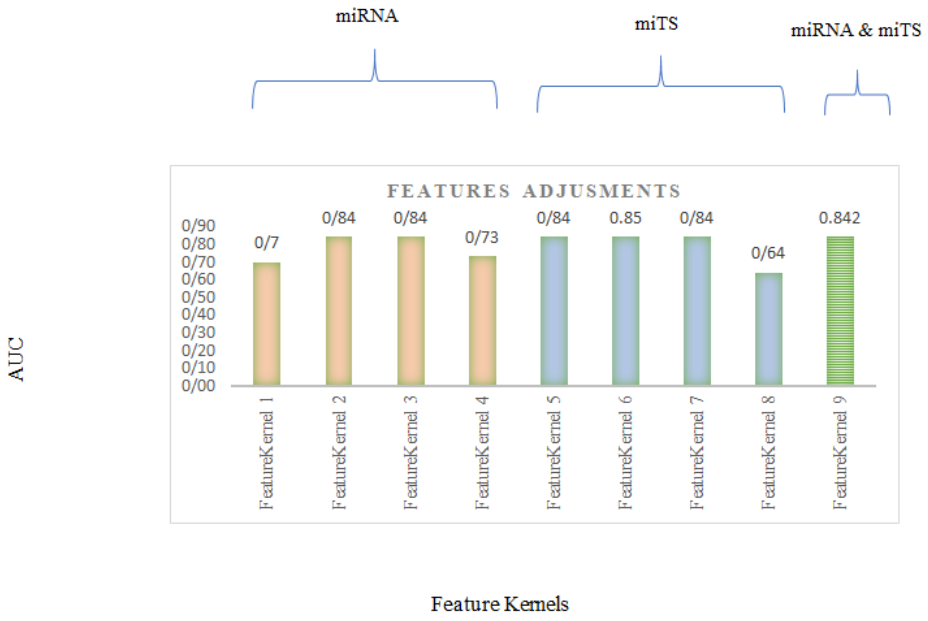
[31] Quantile Normalization

جدول۵: ویژگی‌های منتخب miRNAهای گیاهی و miTS انسانی

miRNA features	miTS features
K_{mi1} : Free Energy	K_{m1} : Free Energy
K_{mi2} : Needleman sequence similarity	K_{m2} : AU content
K_{mi3} : Gaussian profile-based similarity	K_{m3} : Accessibility
K_{mi4} : SSRs Gaussian-based similarity	K_{m4} : SSRs Gaussian-based similarity

جدول۶: محاسبه اهمیت هر ویژگی. برای محاسبه اهمیت هر ویژگی miRNA، کلیه ویژگی‌های mRNA ثابت و به‌نسبت مساوی در نظر گرفته می‌شود. همین فرایند برای محاسبه اهمیت هر ویژگی mRNA نیز انجام می‌گیرد

Feature Kernels	**Feature Combinations**
Feature kernel 1	$(K_{mi1}) \times (0.25 * K_{m1} + 0.25 * K_{m2} + 0.25 * K_{m3} + 0.25 * K_{m4})$
Feature kernel 2	$(K_{mi2}) \times (0.25 * K_{m1} + 0.25 * K_{m2} + 0.25 * K_{m3} + 0.25 * K_{m4})$
Feature kernel 3	$(K_{mi3}) \times (0.25 * K_{m1} + 0.25 * K_{m2} + 0.25 * K_{m3} + 0.25 * K_{m4})$
Feature kernel 4	$(K_{mi4}) \times (0.25 * K_{m1} + 0.25 * K_{m2} + 0.25 * K_{m3} + 0.25 * K_{m4})$
Feature kernel 5	$(K_{m1}) \times (0.25 * K_{mi1}\ 0.25 * K_{mi2} + 0.25 * K_{mi3} + 0.25 * K_{mi4})$
Feature kernel 6	$(K_{m2}) \times (0.25 * K_{mi1}\ 0.25 * K_{mi2} + 0.25 * K_{mi3} + 0.25 * K_{mi4})$
Feature kernel 7	$(K_{m3}) \times (0.25 * K_{mi1}\ 0.25 * K_{mi2} + 0.25 * K_{mi3} + 0.25 * K_{mi4})$
Feature kernel 8	$(K_{m4}) \times (0.25 * K_{mi1}\ 0.25 * K_{mi2} + 0.25 * K_{mi3} + 0.25 * K_{mi4})$
Feature kernel 9	$(0.10 * K_{mi1} + 0.40 * K_{mi2} + 0.40 * K_{mi3} + 0.10 * K_{mi4}) \times (0.30 * K_{m1} + 0.30 * K_{m2} + 0.30 * K_{m3} + 0.10)$



شکل ۴: ویژگی‌های منتخب با توجه به میزان اهمیت آن‌ها برای مجموعه داده‌های miRNA گیاهی و miTS انسانی و برآورد کارایی مدل با AUC برابر با ۰.۸۴۲ نشان داده شده است.

همان‌طور که در شکل ۴ قابل مشاهده است، مدل برای ویژگی‌های miRNA، به AUCهای برابر با ۰،۸۴۰ برای شباهت‌های مبتنی بر توالی نیدلمن K_{mi2} و پروفایل گاوسی K_{mi3} رسیده است که در مقایسه با سه ویژگی دیگر، K_{mi1} و K_{mi4} که به‌ترتیب نشان‌دهنده انرژی آزاد و شباهت مبتنی بر الگوهای تکراری هستند، از اهمیت بیشتری برخوردارند.

مقایسه حالت‌های محتمل

به‌منظور ارزیابی دقیق‌تر مدل و ویژگی‌های انتخاب‌شده لازم است تا مدل با مقایسه حالت‌های مختلفی از ویژگی‌های موجود و نیز وزن‌های ثابت و متفاوت، مورد بررسی قرار گیرد تا از انتخاب صحیح ویژگی‌ها اطمینان حاصل شود.

جدول ۷: مقایسه ارزیابی مدل PmintRULS با وزن‌های ثابت و متغیر

miRNA features	**Free energy**	**Needleman sequence**	**Gaussian profile**	**SSR**	**AUC**
Weights	۰،۲۵	۰،۲۵	۰،۲۵	۰،۲۵	
miTS features	**Free energy**	**AU content**	**Target Accessibility**	**SSR**	۰،۸۳۹
Weights	۰،۲۵	۰،۲۵	۰،۲۵	۰،۲۵	
miRNA features	**Free energy**	**Needleman sequence**	**Gaussian profile**	**SSR**	**AUC**
Weights	۰،۱۰	۰،۴۰	۰،۴۰	۰،۱۰	
miTS features	**Free energy**	**AU content**	**Target Accessibility**	**SSR**	۰،۸۴۲
Weights	۰،۳۰	۰،۳۰	۰،۳۰	۰،۱۰	

مطابق با جدول ۷، در حالتی که وزن هریک از ویژگی‌ها ثابت در نظر گرفته شده است، حاصل AUC = ۰،۸۳۹ و در حالتی که ضریب وزنی هر ویژگی بر اساس اهمیت آن متغیر است، حاصل AUC = ۰،۸۴۲ به دست آمده است. از این بررسی، این نتیجه حاصل می‌شود که در نظر گرفتن وزن متغیر بر اساس اهمیت هر ویژگی منجر به بهبود عملکرد مدل خواهد شد.

ارزیابی عملکرد مدل PmintRULS

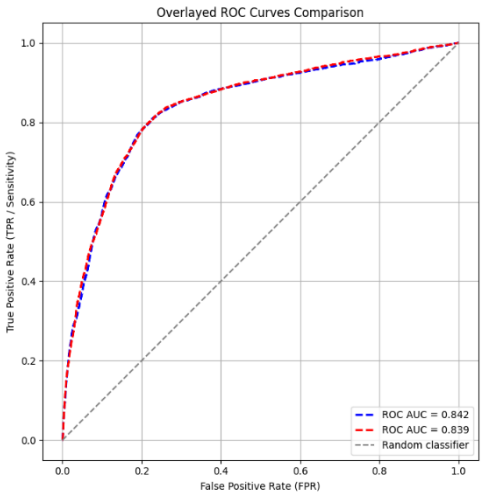
برای اعتبارسنجی پیش‌بینی مدل mintRULS، از داده‌های تجربی گیاهی و انسانی استفاده شده است که تعاملات بین miRNA گیاهی و ژن‌های هدف انسانی را مورد ارزیابی قرار می‌دهد. بر این اساس توانستیم به میانگین AUCبرابر با ۰،۸۴۲ در مجموعه داده‌های تجربی انسان - گیاه دست یابیم؛ بنابراین، با اعمال وزن‌های متغیر با توجه به میزان اهمیت هر ویژگی، توانایی مدل در شناسایی تعاملات بین miRNAهای گیاهی و ژن‌های هدف نمایان شد. پس

می‌توان نتیجه گرفت که مدل PmintRULS با این رویکرد توانایی بیشتری در شناسایی تعاملات بین miRNAهای گیاهی و ژن‌های هدف انسانی دارد.

جدول ۸: اندازه‌گیری کارایی مدل PmintRULS توسط معیارهای ارزیابی مختلف با استفاده از مجموعه داده‌های انسان - گیاه و مجموعه ویژگی‌های مختلف

	AUC(ROC)	F-score	Sensitivity (Recall)
LOOCV	۰,۸۴۲	۰,۹۰۰	۰,۸۱۸
	۰,۸۳۹	۰,۸۹۹	۰,۸۱۸

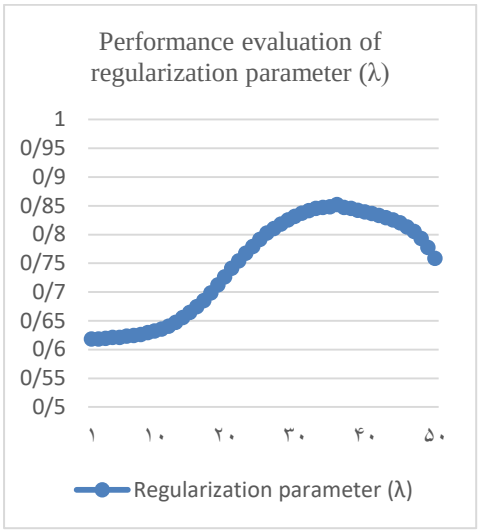
طبق تعاملات واقعی و پیش‌بینی‌شده plant–miRNA و human-miTS، منحنی ویژگی‌های عملکرد (ROC) در شکل ۵ ترسیم شده است تا سطح زیرمنحنی AUC(ROC) برای برآورد عملکرد مدل در دو حالت AUC = ۰,۸۴۲ و AUC = ۰,۸۳۹ مشخص گردد؛ بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که مدل توانسته است از بین نمونه‌هایی که واقعاً هدف بوده‌اند، تعداد قابل توجهی را به‌عنوان هدف واقعی شناسایی نماید.



شکل ۵: عملکرد مدل PmintRULS با استفاده از پروفایل AUC(ROC)

ارزیابی پارامتر منظم‌سازی λ

در این مطالعه، پارامتر منظم‌سازی λ به‌منظور کاهش بیش‌برازش با استفاده از LOOCV روی داده‌های انسان - گیاه تنظیم شد. با مقایسه چند ماتریس داده تصادفی، مجموعه داده $A_{337*3000}$ به‌عنوان بهترین گزینه انتخاب گردید و در نهایت، مقدار بهینه λ=36 با دستیابی به بیشترین AUC برابر با ۰,۸۴۲، عملکرد مطلوب مدل در پیش‌بینی اهداف انسانی miRNAهای گیاهی را فراهم کرد.



شکل ۶: کارایی پارامتر منظم‌سازی λ که در مدل PmintRULS با λ = ۳۶ بهترین ویژگی‌ها استخراج می‌شود.

اعتبارسنجی مدل با داده‌های تجربی

برای اعتبارسنجی مدل بر اساس داده‌های تجربی، از miRNAهای زیر استفاده شده است:

osa-miR168a, ath-miR156a, osa-miR156a, zma-miR156a-5p,bol-miR156, ath-miR159a, gma-miR159a-3p, osa-miR172d-5p.

طبق جدول ۹، از بین ژن‌های مورد هدف osa-miR168a، ژن LDLRAP1 از اهمیت بالایی برخوردار

است؛ زیرا آزمایش‌های تجربی بسیاری روی انسان به‌صورت Cross Kingdom انجام شده که با مصرف مواد غذایی حاوی osa-miR168a ژن LDLRAP1 مورد هدف قرار گرفته است؛ بنابراین، طبق پیش‌بینی صورت‌گرفته توسط مدل، این miRNA موجود در برنج می‌تواند به‌عنوان نشانگری مهم در بدن انسان در کنترل میزان چربی مضر مورد استفاده قرار گیرد.

همچنین ath-miR159a که در گیاه *Arabidopsis thaliana* یافت می‌شود و گیاه سویا که حاوی gma-miR159a-3p است و توالی مشابهی در ناحیه هسته خود با *Arabidopsis thaliana* دارد، طبق مدل PmintRULS پیش‌بینی می‌شود که با هدف قرار دادن ژن TCF7 به‌عنوان هدف قوی، منجر به سرکوب تومور و همچنین سرکوب سلول‌های سرطانی پستان در بدن انسان می‌شوند. شایان ذکر است که این miRNA در گیاه بروکلی نیز به‌وفور وجود دارد.

جدول ۹: اهداف تعیین‌شده osa-miR168a مربوط به برنج که در سه دسته قوی، متوسط و ضعیف طبقه‌بندی شده‌اند.

دسته	ژن مورد هدف	نام miRNA	گونه گیاهی
Mild-Target	SPEN		برنج
Strong-Target	WDFY3		
Mild-Target	FRY		
Mild-Target	PPP1R3E		
Mild-Target	RHBDF1		
Strong-Target	LDLRAP1	osa-miR168a	
Strong-Target	NOVA2		
Mild-Target	MATK		
Mild-Target	MED16		
Weak-Target	ASTN2		
Strong-Target	PLXNA3		
Mild-Target	NUP210		
Mild-Target	ATP2B2		
Mild-Target	PARG		

جدول ۱۰: TCF7 به‌عنوان هدف تعیین‌شده ath-miR159a و gma-miR159a-3p مربوط به گیاهان *Arabidopsis thaliana* و سویا که توسط مدل PmintRULS شناسایی شده است.

دسته	ژن مورد هدف	نام miRNA	گونه گیاهی
Strong-Target	TCF7	ath-miR159a	گیاه Arabidopsis thaliana
Strong-Target	TCF7	gma-miR159a-3p	گیاه سویا

همچنین osa-miR172-5p و gma-miR172g که در برنج و سویا یافت می‌شوند، بیان ژن Tab1 و مسیرهای سیگنال‌دهی مرتبط با فیبروز القا شده توسط TGFβ را در انسان سرکوب و از بروز فیبروز ریه جلوگیری می‌کنند. بر اساس مدل PmintRULS، ژن Tab1 به‌عنوان هدف قوی شناسایی و پیش‌بینی شده است.

جدول ۱۱: شناسایی ژن Tab1 به‌عنوان هدف قوی osa-miR172-5p و gma-miR172g توسط مدل mintRULS

دسته	ژن مورد هدف	نام miRNA	گونه گیاهی
Strong-Target	Tab1 (TGFβ)	osa-miR172-5p	برنج
Strong-Target	Tab1 (TGFβ)	gma-miR172g	سویا

جدول ۱۲: هدف تعیین‌شده JAM-A(F11R) به‌عنوان هدف قوی توسط گونه‌های گیاهی برنج، ذرت، کلم بروکلی و گیاه *Arabidopsis Thaliana* که به‌ترتیب حاوی osa-miR156a، zma-miR156a-5p، bol-miR156 و ath-miR156a هستند.

دسته	ژن مورد هدف	نام miRNA	گونه گیاهی
Strong-Target	JAM-A (F11R)	ath-miR156a	گیاه Arabidopsis thaliana
Strong-Target	JAM-A (F11R)	osa-miR156a	برنج
Strong-Target	JAM-A (F11R)	zma-miR156a-5p	ذرت
Strong-Target	JAM-A (F11R)	bol-miR156	کلم بروکلی

ath-miR156a نیز که در گیاه *Arabidopsis thaliana*، osa-miR156a در برنج، zma-miR156a-5p در ذرت و bol-miR156 در گیاه بروکلی یافت می‌شوند، با هدف قرار دادن ژن JAM-A که در این مدل به‌عنوان هدف قوی شناسایی شده است، پیش‌بینی می‌شود که منجر به سرکوب پیشرفت تومور و به‌طور قابل توجهی باعث کاهش تهاجم سلولی در بدن انسان شود. گونه های گیاهی ذکر شده و اهداف شناسایی‌شده توسط مدل PmintRULS قابل مشاهده هستند.

بحث و نتیجه‌گیری

این مطالعه با تمرکز بر تنظیم بیان ژن به‌صورت Cross-Kingdom توسط miRNAهای گیاهی، مجموعه داده‌ای جامع از miRNAهای گیاهی و اهداف انسانی با ارزش پزشکی ایجاد کرده و با استفاده از مدل یادگیری ماشین با عنوان PmintRULS، اهداف انسانی را به سه دسته قوی، متوسط و ضعیف طبقه‌بندی نموده است. در نهایت، با وزن‌دهی بهینه ویژگی‌ها و ارزیابی با داده‌های تجربی، عملکرد مدل بهبود یافته و نتایج به‌دست‌آمده تطابق بالایی با شواهد آزمایشگاهی داشته است. یافته‌ها بیانگر پتانسیل بالای miRNAهای گیاهی در درمان‌های مبتنی بر مصرف غذایی، شناسایی نشانگرهای زیستی و کاربردهای دارویی هستند و مسیر روشنی برای تحقیقات آینده در پیشگیری و درمان بیماری‌هایی مانند دیابت، سرطان، بیماری‌های قلبی - عروقی و اختلالات متابولیک ارائه می‌دهند.

منابع

[۱] A. F. A. Samad, M. F. Kamaroddin, and M. Sajad, "Cross-kingdom regulation by plant microRNAs provides novel insight into gene regulation," *Advances in Nutrition*, vol. 12, no. 1, pp. 197-211, 2021.

[۲] Z. Li, R. Xu, and N. Li, "MicroRNAs from plants to animals, do they define a new messenger for communication?," *Nutrition & metabolism*, vol. 15, no. 1, p. 68, 2018.

[۳] A. Julián-Flores *et al.*, "Exploring the Therapeutic Potential of Medicinal Plants in the Context of Gastrointestinal Health: A Review ", *Plants*, vol. 14, no. 5, p. 642, 2025.

[۴] X. Huang, P. Arjsri, K. Srisawad, S. Yodkeeree, and P. Dejkriengkraikul, "Exploring the anticancer potential of traditional Thai medicinal plants: a focus on Dracaena loureiri and its effects on non-small-cell lung cancer," *Plants*, vol. 13, no. 2, p. 290, 2024.

[۵] G. Atampugbire, E. E. A. Adomako, and O. Quaye, "Medicinal Plants as Effective Antiviral Agents and Their Potential Benefits," *Natural Product Communications*, vol. 19, no. 9, p. 1934578X241282923, 2024.

[۶] A. Mishra and S. Krishnamurthy, "Recent advancements in the role of phytochemicals and Medicinal plants in prophylaxis and management of Alzheimer's disease," *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, vol. 27, no. 11, p. 1357, 2024.

[۷] S. Bordoloi *et al.*, "Some promising medicinal plants used in Alzheimer's disease: An ethnopharmacological perspective," *Discover Applied Sciences*, vol. 6 ,no. 5, p. 215, 2024.

[۸] R. Rajalekshmi and D. K. Agrawal, "Therapeutic Efficacy of Medicinal Plants with Allopathic Medicine in Musculoskeletal Diseases," *International journal of plant, animal and environmental sciences*, vol. 14, no. 4, p. 104, 2024.

[۹] H. Liang *et al.*, "Effective detection and quantification of dietetically absorbed plant microRNAs in human plasma ",*The Journal of nutritional biochemistry*, vol. 26, no. 5, pp. 505-512, 2015.

[۱۰] Q.-G. Mai, H.-V. Vo-Nguyen, T. L. Tran, and H. Tran-Van, "All-in-One Molecular Cloning as a New Gene Manipulation Method," *Journal of Applied Biotechnology Reports*, vol. 9, no. 1, pp. 511-515, 2022.

[۱۱] N. S. Redhu *et al.*, "Plant microRNAs: Unexplored biogenesis, prediction tools and applications," *Gene Reports*, vol. 32, p. 101799, 2023.

[۱۲] D. Li *et al.*, "A timely review of cross-kingdom regulation of plant-derived MicroRNAs," *Frontiers in Genetics*, vol. 12, p. 613197, 2021.

[۱۳] M. Cieślik, K. Bryniarski, and K. Nazimek, "Dietary and orally-delivered miRNAs: are they functional and ready to modulate immunity?," *AIMS Allergy and Immunology*, vol. 7, no. 1, pp. 104-131, 2023.

[۱۴] Z. Li, R. Xu, and N. Li, "MicroRNAs from plants to animals, do they define a new messenger for communication?," *Nutrition & metabolism*, vol. 15, pp. 1-21, 2018.

[۱۵] Q. Wu, L. Li, Y. Jia, T. Xu, and X. Zhou, "Advances in studies of circulating microRNAs: origination, transportation, and distal target regulation," *Journal of cell communication and signaling*, vol. 17, no. 3, pp. 445-455, 2023.

[۱۶] L. Shi, C. Guo, M. Fang, Y. Yang, F. Yin, and Y. Shen, "Cross-kingdom regulation of plant microRNAs: potential application in crop improvement and human disease therapeutics," *Frontiers in Plant Science*, vol. 15, p. 1512047, 2024.

[۱۷] D. Yu *et al.*, "PmiRDiscVali: an integrated pipeline for plant microRNA

discovery and validation," *BMC genomics*, vol. 20, pp. 1-7, 2019.

[۱۸] R. Kumar and S. S. Kanwar, "Biotechnological production and applications of ribonucleases," in *Biotechnological Production of Bioactive Compounds*: Elsevier, 2020, pp. 363-389.

[۱۹] J. Xiao *et al.*, "Identification of exosome-like nanoparticle-derived microRNAs from 11 edible fruits and vegetables," *PeerJ*, vol. 6, p. e5186, 2018.

[۲۰] M. A. Kumar *et al.*, "Extracellular vesicles as tools and targets in therapy for diseases," *Signal transduction and targeted therapy*, vol. 9, no. 1, p. 27, 2024.

[۲۱] L. del Pozo-Acebo, M. C. López de las Hazas, A. Margollés, A. Dávalos, and A. García-Ruiz, "Eating microRNAs: pharmacological opportunities for cross-kingdom regulation and implications in host gene and gut microbiota modulation," *British Journal of Pharmacology*, vol. 178, no. 11, pp. 2218-2245, 2021.

[۲۲] E. Díez-Sainz, F. I. Milagro, P. Aranaz, J. I. Riezu-Boj, and S. Lorente-Cebrián, "MicroRNAs from edible plants reach the human gastrointestinal tract and may act as potential regulators of gene expression," *Journal of Physiology and Biochemistry*, vol. 80, no. 3, pp. 655-670, 2024.

[۲۳] L. Olmi, G. Pepe, M. Helmer-Citterich, A. Canini, and A. Gismondi, "Looking for plant microRNAs in human blood samples: bioinformatics evidence and perspectives," *Plant Foods for Human Nutrition* ,vol. 78, no. 2, pp. 399-406, 2023.

[۲۴] Sanchita, R. Trivedi, M. H. Asif, and P. K. Trivedi, "Dietary plant miRNAs as an augmented therapy: cross-kingdom gene regulation," *RNA biology*, vol. 15, no. 12, pp. 1433-1439, 2018.

.

[۲۵] W. Wang, D. Liu, X. Zhang, D. Chen, Y. Cheng, and F. Shen, "Plant microRNAs in cross-kingdom regulation of gene expression," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 19, no. 7, p. 2007, 2018.

[۲۶] Q. Li, H. Shen ,S. Yuan, X. Dai, and C. Yang, "miRNAs and lncRNAs in tomato: Roles in biotic and abiotic stress responses," *Frontiers in Plant Science*, vol. 13, p. 1094459, 2023.

[۲۷] T. Rabuma, O. P. Gupta, and V. Chhokar, "Recent advances and potential applications of cross-kingdom movement of miRNAs in modulating plant's disease response," *RNA biology*, vol. 19, no. 1, pp. 519-532, 2022.

[۲۸] E. Loreti and P. Perata, "Mobile plant microRNAs allow communication within and between organisms," *New Phytologist*, vol. 235 ,no. 6, pp. 2176-2182, 2022.

[۲۹] A. Baran, A. Erdoğan, M. C. Adgıüzel, and T. Turgut, "A New Therapeutic Approach to Foods: microRNA," *Erzincan University Journal of Science and Technology*, vol. 12, no. 3, pp. 1266-1274, 2019.

[۳۰] N. Shanmugapriya and S. Sasidharan, "MicroRNA deregulation and cancer and medicinal plants as microRNA regulator," *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, vol. 10, no. 2, pp. 4.۲۰۲۰ ,۵۳-۷

[۳۱] D. Sánchez-Romo, C. I. Hernández-Vásquez, B. Pereyra-Alférez, and J. H. García-García, "Identification of potential target genes in Homo sapiens, by miRNA of Triticum aestivum: A cross kingdom computational approach," *Non-coding RNA Research*, vol. 7, no. 2, pp. 89-97, 2022.

[۳۲] P. T. Ho, I. M. Clark, and L. T. Le, "MicroRNA-based diagnosis and therapy," *International journal of molecular sciences*, vol. 23, no. 13, p. 7167, 2022.

[۳۳] J. Liu, X. Liu, S. Zhang, S. Liang, W. Luan, and X. Ma, "TarDB: an online database for plant miRNA targets and miRNA-triggered phased siRNAs,"

and target prediction," *Current Genomics*, vol. 20, no. 8, pp. 537-544, 2019.

[۴۲] I. Walsh *et al.*, "DOME: recommendations for supervised machine learning validation in biology," *Nature methods*, vol. 18, no . ,۱۰pp. 1122-1127, 2021.

[۴۳] S. Bandyopadhyay, D. Ghosh, R. Mitra, and Z. Zhao, "MBSTAR: multiple instance learning for predicting specific functional binding sites in microRNA targets," *Scientific reports*, vol. 5, no. 1, p. 8004, 2015.

[۴۴] M. Yousef, S. Jung, A. V. Kossenkov, L. C. Showe, and M. K. Showe, "Naïve Bayes for microRNA target predictions—machine learning for microRNA targets," *Bioinformatics*, vol. 23, no. 22, pp. 2987-2992, 2007.

[۴۵] A. Pla, X. Zhong, and S. Rayner, "miRAW: A deep learning-based approach to predict microRNA targets by analyzing whole microRNA transcripts ",*PLoS computational biology*, vol. 14, no. 7, p. e1006185, 2018.

[۴۶] B. Lee, J. Baek, S. Park, and S. Yoon, "deepTarget: end-to-end learning framework for microRNA target prediction using deep recurrent neural networks," in *Proceedings of the 7th ACM international conference on bioinformatics, computational biology, and health informatics*, 2016, pp. 434-442 .

[۴۷] F. Marzano *et al.*, "Plant miRNAs reduce cancer cell proliferation by targeting MALAT1 and NEAT1: a beneficial cross-kingdom interaction," *Frontiers in genetics*, vol. 11, p. 552490, 2020.

[۴۸] L. Zhang *et al.*, "Exogenous plant MIR168a specifically targets mammalian LDLRAP1: evidence of cross-kingdom regulation by microRNA," *Cell research*, vol. 22, no. 1, pp. 107-126, 2012.

[۴۹] M. Kumazoe *et al*" ,.Plant miRNA osa-miR172d-5p suppressed lung fibrosis *BMC genomics*, vol. 22, no. 1, p. 348, 2021.

[۳۴] Y. Sun, F. Xiong, Y. Sun, Y. Zhao, and Y. Cao, "A miRNA target prediction model based on distributed representation learning and deep learning," *Computational and Mathematical Methods in Medicine*, vol. 2022, no. 1, p. 4490154, 2022.

[۳۵] S. M. Peterson, J. A. Thompson, M. L. Ufkin, P. Sathyanarayana, L. Liaw, and C. B. Congdon, "Common features of microRNA target prediction tools ", *Frontiers in genetics*, vol. 5, p. 23, 2014.

[۳۶] R. P. Bonidia, D. S. Domingues, D. S. Sanches, and A. C. De Carvalho, "MathFeature: feature extraction package for DNA, RNA and protein sequences based on mathematical descriptors," *Briefings in bioinformatics*, vol. 23, no. 1, p. bbab434, 2022.

[۳۷] X. Zheng, L. Chen, X. Li, Y. Zhang, S. Xu, and X. Huang, "Prediction of miRNA targets by learning from interaction sequences," *PLoS One*, vol. 15, no. 5, p. e0232578, 2020.

[۳۸] P. K. Srivastava, T. R. Moturu, P. Pandey, I. T. Baldwin, and S. P. Pandey, "A comparison of performance of plant miRNA target prediction tools and the characterization of features for genome-wide target prediction," *BMC genomics*, vol. 15, pp. 1-15, 2014.

[۳۹] Y. Zhang, J. Huang, F. Xie, Q. Huang, H. Jiao, and W. Cheng, "Identification of plant microRNAs using convolutional neural network," *Frontiers in Plant Science*, vol. 15, p . .۲۰۲۴ ,۱۳۳۰۸۵۴

[۴۰] W. Zhang *et al.*, "Improving plant miRNA-target prediction with self-supervised k-mer embedding and spectral graph convolutional neural network," *PeerJ*, vol. 12, p. e17396, 2024.

[۴۱] A. Parveen, S. H. Mustafa, P .Yadav, and A. Kumar, "Applications of machine learning in miRNA discovery

[۵۰] D. Hou *et al.*, "The potential atheroprotective role of plant MIR156a as a repressor of monocyte recruitment on inflamed human endothelial cells," *The Journal of Nutritional Biochemistry*, vol. 57, pp. 197-205, 2018.

[۵۱] R. Mishra, M. Tripathi, R. Sikarwar, Y. Singh, and N. Tripathi, "Soybean (Glycine max L. Merrill): A multipurpose legume shaping our world," *Plant Cell Biotechnol. Mol. Biol*, vol. 25, pp. 17-37, 2024.

[۵۲] T. Suddal *et al.*, "Target prediction of potential candidate miRNAs from Oryza sativa to silence the Pyricularia oryzae genome in rice blast," *Scientific Reports*, vol. 14, no. 1, p. 21813, 2024.

[۵۳] R. N. Kimotho, E. H. Baillo, and Z. Zhang, "Transcription factors involved in abiotic stress responses in Maize (Zea mays L.) and their roles in enhanced productivity in the post genomics era," *PeerJ*, vol. 7, p. e7211, 2019.

[۵۴] L. Du, S. Adkins, and M. Xu, "Leaf development in medicAgo truncatula," *Genes*, vol. 13, no. 7, p. 1203, 2022.

[۵۵] Y. Wang *et al.*, "Identification of microRNA and analysis of target genes in Panax ginseng," *Chinese Herbal Medicines*, vol. 15, no. 1, pp. 69-75, 2023.

[۵۶] L. Wang *et al*" ,.Cloning and characterization of microRNAs from Brassica napus," *FEBS letters*, vol. 581, no. 20, pp. 3848-3856, 2007.

[۵۷] T. Arazi and J. Khedia, "Tomato microRNAs and their functions," *International journal of molecular sciences*, vol. 23, no. 19, p. 1197 ,۹ .۲۰۲۲

[۵۸] C. Zheng, M. Ye, M. Sang, and R. Wu, "A regulatory network for miR156-SPL module in Arabidopsis thaliana," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 20, no. 24, p. 6166, 2019.

[۵۹] A. Samad, M. Kamaroddin, and M. Sajad, "Cross-kingdom regulation by plant microRNAs provides novel insight into gene regulation. Adv Nutr 12 (1): 197–211," ed, 2021.

[۶۰] S. Shakyawar, S. Southekal, and C. Guda, "mintRULS: Prediction of miRNA–mRNA Target Site Interactions Using Regularized Least Square Method," *Genes*, vol. 13, no. 9, p. 1528, 2022.

[۶۱] L. Liu, S. Yao, Z. Ding, M. Guo, D. Yu, and K. Hu, "Drug-Target Interaction Prediction Based on Gaussian Interaction Profile and Information Entropy," in *International Symposium on Bioinformatics Research and Applications*, 2021: Springer, pp. 388-399 .

[۶۲] C. Yan, G. Duan, Y. Pan, F.-X. Wu, and J. Wang, "DDIGIP: predicting drug-drug interactions based on Gaussian interaction profile kernels," *BMC bioinformatics*, vol. 20, pp. 1-10, 2019.

[۶۳] L. Jiang and J. Zhu, "Review of MiRNA-disease association prediction," *Current Protein and Peptide Science*, vol. 21, no. 11, pp. 1044-1053, 2020.

[۶۴] T. Van Laarhoven, S. B. Nabuurs, and E. Marchiori, "Gaussian interaction profile kernels for predicting drug–target interaction," *Bioinformatics*, vol. 27, no. 21, pp. 3036-3043, 2011.

[۶۵] M. K. Biswas, D. Biswas, M. Bagchi, G. Yi, and G. Deng, "A comprehensive plant microRNA simple sequence repeat marker database to accelerate genetic improvements in crops," *Agronomy*, vol. 11, no. 11, p. 2298, 2021.

[۶۶] H. Hwang, H. R. Chang, and D. Baek, "Determinants of functional microRNA targeting," *Molecules and cells*, vol. 46, no. 1, pp. 21-32, 2023.

[۶۷] G. Pillonetto, T. Chen, A. Chiuso, G. De Nicolao, and L. Ljung, "Regularization in Reproducing Kernel Hilbert Spaces for linear system

identification," in *Regularized System Identification: Learning Dynamic Models from Data*: Springer, 2022, pp. 247-311.

[۶۸] J. Hainmueller and C. Hazlett, "Kernel regularized least squares: Reducing misspecification bias with a flexible and interpretable machine learning approach," *Political Analysis*, vol. 22, no. 2, pp. 143-168, 2014.

[۶۹] J. Luo, Q. Xiao, C. Liang, and P. Ding, "Predicting MicroRNA-disease associations using Kronecker regularized least squares based on heterogeneous omics data," *Ieee Access*, vol. 5, pp. 2503-2513, 2017.

[۷۰] R. Raymond and H. Kashima, "Fast and scalable algorithms for semi-supervised link prediction on static and dynamic graphs," in *Joint european conference on machine learning and knowledge discovery in databases*, 2010: Springer, pp. 131-147 .

[۷۱] K. Lange, "Singular value decomposition," in *Numerical analysis for statisticians*: Springer, 2010, pp. 129-142.