

## بررسی مسیرهای متابولیکی مرتبط با جایگاه صفات کمی مربوط به صفت مقاومت به انگل در ژنوم گوسفند با استفاده از رسم شبکه‌زنی و هستی‌شناسی ژن

• یاسمن زراعت‌پیشه

گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.

• سعید زره‌داران

گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.

• علی جوادمنش (نویسنده مسئول)

گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.

تاریخ دریافت: ۱۳-۱۱-۱۴۰۰ تاریخ پذیرش: ۰۳-۰۳-۱۴۰۱

Email: javadmanesh@um.ac.ir



### چکیده

طی دهه‌های اخیر، پیشرفت در فن‌آوری نشانگرهای مبتنی بر DNA و در دسترس بودن داده‌های ژنومی مانند جایگاه صفات کمی و بررسی کاربرد ژن‌ها از طریق روش‌های بیوانفورماتیک نقش مهمی در درک پتانسیل ژنتیکی صفات مختلف داشته است. در این مطالعه QTL های مربوط به صفت مقاومت به انگل در گوسفند از طریق پایگاه داده AnimalQTL تهیه شد. سپس ژن‌های مربوط به هر QTL نیز از ژنوم مرجع گوسفند در پایگاه داده NCBI به دست آمد. در ادامه، به منظور درک ارتباط بین ژن‌های به دست آمده، شبکه‌های ژنی برای هر صفت با استفاده از نرم‌افزار Cytoscape\_v3.8.0 ترسیم شد و نهایتاً به منظور تفسیر شبکه‌های ژنی و بررسی هستی‌شناسی ژن‌ها از نرم‌افزار Cytoscape استفاده شد. نتایج این مطالعه نشان داد در مجموع ۷۱ QTL برای صفت مقاومت به انگل وجود دارد که تحت کنترل ۱۹۸ ژن می‌باشند. اکثر این نشانگرها با استفاده از روش‌هایی چون مطالعه هم‌خوانی سراسر ژنوم (GWAS)، نقشه‌برداری وراثت‌پذیری منطقه‌ای (RHM) و یا با استفاده از چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی (SNP) نقشه‌یابی شده بودند. آنالیز هستی‌شناسی در این تحقیق ۲۰ مسیر بیولوژیکی را نشان داد که چهار مسیر عمده سهم بیشتری داشتند و شامل: فرآیند متابولیک پیرووات، فرآوری آنتی‌ژن و عرضه آنتی‌ژن پپتید از طریق مولکول‌های اصلی سازگار بافتی کلاس I، مهاجرت سلول‌های عصبی و اتصال مولکول چسبندگی سلولی بودند. در این تحقیق برای اولین بار ژن‌های درگیر، هستی‌شناسی ژن‌ها، بررسی و یافتن مسیرهای متابولیکی مرتبط با صفت مقاومت به انگل در گونه گوسفند از طریق داده‌های QTL توصیف شد. با استفاده از روش و نتایج این تحقیق می‌توان ژن‌ها و نیز هستی‌شناسی را برای صفات مهم و اقتصادی در گوسفند و حتی سایر حیوانات اهلی مشخص و ارزیابی کرد.

کلمات کلیدی: هستی‌شناسی، QTL، نشانگر، انگل

• Veterinary Researches & Biological Products No 138 pp: 83-90

### Investigation of metabolic pathways related to the QTLs of parasite resistance trait in sheep genome using gene network and gene ontology

By: Zeraatpisheh, Y., Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad. Zerehdaran, S., Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad. and Javadmanesh, A., (Corresponding Author) Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad.

Received: 2022-02-02 Accepted: 2022-05-24

Email: javadmanesh@um.ac.ir

In recent decades, advances in DNA-based marker technology and the availability of genomic data such as quantitative trait locus and the study of gene utilization through bioinformatics methods have played an important role in understanding the genetic potential of different traits. In this study, QTLs related to parasite resistance in sheep were prepared through Animal QTL database. The genes for each QTL were then obtained from the sheep reference genome in the NCBI database. Next, in order to understand the relationship between the obtained genes, gene networks for each trait were drawn using Cytoscape v3.8.0 software, and finally Cytoscape software was used to interpret gene networks and study gene ontology. The results of this study showed that there were a total of 71 QTLs for the parasite resistance trait, which included 198 genes. Most of these markers were mapped using methods such as the Genome-Wide Association Study (GWAS), Regional Heritability Mapping (RHM), or Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs). Ontological analysis in this study showed 20 biological pathways that four pathways contributed more than others, including: pyruvate metabolic process, antigen processing and presentation of peptide antigen via MHC class I, neural migration and cell adhesion molecule binding. In this study, the ontology of genes was investigated and the metabolic pathways associated with the parasite resistance trait in sheep were obtained through QTLs. Regarding methods and result of the current study, genes and gene ontology associated with other economic traits in sheep as well as other livestock species could be determined.

**Key words:** Ontology, QTL, Marker, Parasite

ژن نیز یکی از کاربردی‌ترین ابزار در بیوانفورماتیک است که برای بررسی ویژگی‌های ژن و محصولات ژنی در انواع گونه‌ها استفاده می‌شود (۱۰). هستی‌شناسی ژنی یکی از پرکاربردترین هستی‌شناسی‌های بیولوژیکی است و جنبه‌های مختلف محصولات ژنی را توصیف می‌کند. به عبارت دیگر هستی‌شناسی ژن، یک زبان سیستماتیک برای توصیف ویژگی ژن‌ها و محصولات ژنی است که در سه حوزه اصلی بیولوژیکی، شامل عملکرد مولکولی، فرآیند بیولوژیکی و اجزای سلولی ارائه می‌شود (۱۳). عملکرد مولکولی در هستی‌شناسی، فرایندی است که می‌تواند با عملکرد یک ماشین ماکرو مولکولی از طریق فعل‌وانفعالات فیزیکی انجام گیرد. از طرفی فرایند بیولوژیکی در هستی‌شناسی ژن، بیانگر هدف خاصی است که ارگانیسم برای دستیابی به آن، از طریق ژنتیک برنامه‌ریزی شده است (۳، ۲۳). همچنین یک جز سلولی، قسمتی است که نسبت به سلول‌ها و ساختارهای سلولی در هنگام انجام یک عملکرد مولکولی اشغال می‌شود. فرآیند بیولوژیکی توسط مجموعه خاصی از فرآیندهای مولکولی پیش برده شده توسط محصولات ژنی خاص، انجام می‌گیرد. می‌توان گفت که هستی‌شناسی ژن، چارچوب و مجموعه‌ای از مفاهیم را برای توصیف

#### مقدمه

بیماری‌های دام در سطح جهانی اثرات اقتصادی قابل توجهی را به دنبال دارند که در این میان، عفونت‌های انگلی در نشخوارکنندگان اثرات نامطلوبی بر مصرف خوراک، سرعت رشد، وزن و ترکیب لاشه، رشد پشم، باروری و تولید شیر می‌گذارند (۲۹). از این رو انگل‌های داخلی یکی از مشکلات عمده برای تولیدکنندگان گوسفند و بز در سراسر جهان به شمار می‌روند. این انگل‌ها به سرعت در برابر داروهای ضدالتهابی موجود برای درمان عفونت‌ها مقاوم می‌شوند. به طور مثال انگل‌های گوارشی به دلیل ایجاد تلفات مستقیم و غیرمستقیم می‌توانند بر تولید نشخوارکنندگان کوچک تأثیر منفی بگذارند. تلفات مستقیم شامل مرگ‌ومیر و کشتار زودرس است، در حالی که تلفات غیرمستقیم از طریق کاهش بهره‌وری در نتیجه بیماری‌های تحت بالینی رخ می‌دهد (۹). از این رو توانایی استفاده از نشانگرهای زیستی برای شناسایی مقاومت ژنتیکی میزبان در برابر عفونت‌های انگلی، یک راه حل منطقی برای این مشکل است. روش‌های بیوانفورماتیک می‌تواند نقش بنیادی در درک پتانسیل ژنتیکی صفات و ارتباط بین ژن‌ها و صفات مختلف داشته باشد. هستی‌شناسی

است (۵، ۷، ۸، ۲۱). این پایگاه داده به گونه‌ای طراحی شده است که همه داده‌های QTL، چندشکلی تک‌نوکلوئیدی و ارتباط بین ژن‌ها در انواع گونه‌های دام را در خود جای می‌دهد (۱۷، ۱۸). ابتدا در این پایگاه رده‌بندی بر اساس صفات و سپس در بین صفات مربوط به سلامت گوسفند گزینه مقاومت به انگل انتخاب شد و در نهایت موقعیت QTL های این صفت بر روی تمامی کروموزوم‌ها مورد بررسی قرار گرفت که خصوصیات مهم هر QTL شامل شماره کروموزوم و موقعیت QTL بود. سپس با استفاده از موقعیت‌های به دست آمده، ژن‌های موجود در هر ناحیه QTL پس از انتخاب ژنوم مرجع گوسفند (نسخه oar\_v۴,۰) و قرار دادن جایگاه‌های به دست آمده در بخش توالی مرجع مربوط به هر کروموزوم در پایگاه داده مرکز ملی اطلاعات بیوتکنولوژی (www.ncbi.nlm.nih.gov) NCBI به دست آمد. در ادامه به منظور یافتن ارتباط بین ژن‌های به دست آمده و نیز یافتن مسیرهای مرتبط با ژن‌های شناخته شده، شبکه‌های ژنی برای هر صفت ترسیم شد. بدین منظور برای رسم شبکه‌های ژنی مرتبط با ژن‌های مورد نظر از نرم‌افزار Cytoscape\_v۳,۸,۰ (۲۷) که یک نرم‌افزار منبع باز به منظور تصویرسازی و تجزیه و تحلیل شبکه، برای داده‌های بیولوژیکی است استفاده گردید. در ادامه برای یافتن مسیرهای زیستی مرتبط با QTL های بررسی شده و مطالعه هستی‌شناسی ژن‌ها نیز از افزونه Clue GO نسخه ۲,۵,۷ در نرم‌افزار Cytoscape با مقدار p-value تصحیح شده به روش بنفرونی به عنوان آستانه استفاده شد (۵).

### نتایج

#### بررسی جایگاه صفات کمی و ژن‌های مرتبط

پس از بررسی سایت Animal QTL، در مجموع ۷۱ QTL برای صفت مقاومت به انگل یافت شد. در ادامه با جستجو موقعیت هر QTL در پایگاه داده NCBI، ۱۹۸ ژن مرتبط با این صفت شناسایی شد که این ژن‌ها در ۱۱ زیر بخش مرتبط با صفت مقاومت به انگل، تقسیم‌بندی شدند (جدول ۱). ژن‌های مرتبط با هر کروموزوم نیز در جدول ۲ نشان داده شده است.

#### مسیرهای بیولوژیکی و نقش آن‌ها

پس از قرار دادن ژن‌های مورد نظر در نرم‌افزار Cytoscape با استفاده از افزونه ClueGo، ۲۰ مسیر زیستی یافت شد (شکل ۱) که چهار مسیر متابولیسمی پیرووات، فراوری آنتی‌ژن و عرضه آنتی‌ژن پپتید از طریق مولکول‌های اصلی سازگار بافتی (MHC کلاس I)، مهاجرت سلول‌های عصبی و اتصال مولکول چسبندگی سلولی، مسیر سهم بیشتری داشتند که در مجموع حدود ۵۵ درصد فرایندها و ژن‌های دخیل در صفت مورد مطالعه را شامل شدند. در این بین مسیر اتصال مولکول چسبندگی سلولی معنادار نبود. ژن‌های مرتبط با این مسیرهای زیستی نیز در جدول ۳ نشان داده شدند.

### بحث

نشانگرهای ژنتیکی مرتبط با صفت مقاومت گوسفندان در برابر انگل‌ها مدت زیادی است که توسط محققین صنعت دام به عنوان راهی برای انتخاب حیوانات مقاوم مورداستفاده قرار می‌گیرد (۶). در این خصوص

عملکرد محصولات ژنی موجودات فراهم می‌کند (۴، ۱۴).

استفاده از نشانگرهای مختلف یکی از راه‌های بررسی صفات و ژن‌های مختلف در انواع حیوانات است و تاکنون نشانگرهای زیادی بر اساس فنوتیپ و ژنوتیپ شناسایی شده‌اند. نشانگرهای ژنتیکی در واقع یک ژن یا بخشی از توالی DNA روی کروموزوم هستند. از آنجایی که شناسایی و اندازه‌گیری صفات کمی دشوار است؛ یکی از راه‌های شناسایی آن‌ها استفاده از نشانگرهای مولکولی مانند QTL ها است. QTL یک جایگاه ژنتیکی صفات کمی در ژنوم بوده که تجزیه و تحلیل موقعیت مکانی آن‌ها یک رویکرد قدرتمند برای درک روابط بین ژنوم و فنوتیپ‌ها است (۱۴). در واقع QTL راهی برای ارتباط بخش‌هایی از ژنوم با صفاتی کمی است؛ که نمایانگر اندازه‌گیری اکثر فنوتیپ‌های مهم اقتصادی در دام است. در سالیان گذشته هزاران QTL در خوک، گاو، مرغ و گوسفند در بین گونه‌های مختلف شناسایی شده است، این اطلاعات به محققین کمک می‌کند که نواحی ژنومی را دقیق‌تر مورد بررسی قرار دهند و فاکتورهای ژنتیکی را که در تنوع صفات مشارکت می‌کنند را شناسایی کنند (۳۰). از آنجایی که صفات کمی تحت تأثیر چندین ژن چندشکلی و شرایط محیطی قرار دارند، بنابراین یک یا بسیاری از QTL ها می‌توانند بر روی یک صفت یا فنوتیپ تأثیر بگذارند (۱۲). به طور کلی، یک صفت کمی فنوتیپ قابل اندازه‌گیری است که به فعالیت‌های تجمعی بسیاری از ژن‌ها و محیط بستگی دارد در واقع صفات کمی، صفات فنوتیپی هستند که به واسطه ژن‌های بسیار کم اثر، با محیط زیست مرتبط‌اند. بیشتر خصوصیات فردی که مستقیماً قابل مشاهده‌اند ناشی از صفات کمی هستند (۱۶) این صفات در گوسفند شامل باروری، تولیدمثل، سرعت رشد، تولید شیر، کیفیت و ترکیب لاشه، ویژگی‌های پشم و مقاومت در برابر بیماری‌ها می‌شود (۱۱).

پیشرفت‌های اخیر در زمینه بیولوژی سیستم‌ها، حجم عظیمی از داده‌های مسیر را که تعامل ژن‌ها و محصولات آن‌ها را توصیف می‌کند، در اختیار ما قرار داده است (۲). مسیر بیولوژیکی مجموعه‌ای از فعل‌وانفعالات بین مولکول‌های سلول است که منجر به محصول خاص یا تغییر سلول شده و می‌تواند تجمع مولکول‌های جدید مانند چربی‌ها یا پروتئین‌ها را در پی داشته باشد. مسیرها همچنین می‌توانند باعث روشن یا خاموش شدن ژن‌ها یا به حرکت درآوردن سلول شده، علاوه بر این، اطلاعات کلیدی در مورد سازمان‌دهی سامانه‌های زیستی را نیز فراهم می‌کنند (۱۰)؛ بنابراین، با توجه به در دسترس نبودن مستقیم صفات مربوط به ژن‌ها در برخی از گونه‌ها و لزوم بررسی این ارتباط از طریق نشانگرهای مولکولی، هدف از انجام این تحقیق بررسی و یافتن ژن‌ها و مسیرهای متابولیسمی مرتبط با صفت مقاومت به انگل، از طریق بررسی ارتباط ژن‌های موجود در QTL های شناخته شده در گونه گوسفند است.

#### مواد و روش

QTL های مربوط به صفت مقاومت به انگل در گوسفند از طریق پایگاه داده AnimalQTL (www.animalgenome.org) به دست آمد (۳۰). مطالعات مختلف در این پایگاه بر روی انواع گونه‌های گوسفندی مانند مرینوس و Red Maasia با مقاومت بالا و گونه‌هایی چون Dorper و Soay با حساسیت بیشتر و انواع دیگر مانند Scottish Blackface انجام شده

مطالعه‌ای باهدف آنالیز داده‌های مربوط به جایگاه صفات کمی در گوسفند، گاو، موش و انسان به منظور شناسایی روابط بین ژن‌ها در مناطق QTL، با استفاده از تجزیه و تحلیل مسیر و داده‌های بیان ژن از گوسفند انجام شده است. پس از مقایسه داده‌ها ۲۱ مسیر از داده‌های QTL و ۶۶ مسیر از داده‌های بیان ژن شناسایی شد. هر دو مجموعه انتخاب شده با مسیرهای درگیر در عملکردهای ایمنی، بیماری و پاسخ سلول به سیگنال‌ها در ارتباط بودند که از جمله دیگر نتایج حاصل از هستی‌شناسی در مطالعه حاضر نیز (بیماری پیوند علیه میزبان، مسیر پیام‌رسانی پروتئین‌های سیگنالینگ سلولی) مسیرهای مرتبط با این پارامترها را نشان می‌دادند. در نتیجه، ترکیب داده‌های حاصل از چندین QTL و پروژه‌های بیان ژن منجر به کشف مسیرهای مشترک مرتبط با مقاومت ژنتیکی به انگل‌های داخلی شد. این رویکرد ممکن است برای کشف ژن‌های کاندید در بسیاری از صفات مهم اقتصادی دیگر نیز مهم باشد (۲۶). در مطالعه‌ای دیگر که به منظور شناسایی مناطق ژنومی

مقاومت در برابر انگل‌های گوارشی در گوسفندان استرالیایی صورت گرفته است؛ از ۷۵۳۹ گوسفند در مکان‌های مختلف سراسر استرالیا که تحت یک چالش در معرض گونه‌های انگل دستگاه گوارش مخلوط قرار گرفتند. استفاده شد. داده‌ها با استفاده از مطالعات ارتباط ژنوم (GWAS) و نقشه‌برداری وراثتی منطقه‌ای (RHM) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. در نتیجه مناطق قابل توجه ژنومی را در کروموزوم‌های ۱، ۶، ۱۸، ۲۴ شناسایی کردند که با مقاومت به انگل در گوسفند ارتباط داشت. همچنین تجزیه و تحلیل مسیرها، ۱۳ ژن را در این مناطق نشان داد که در مطالعه ما هم‌خانواده ژن PTPN۱ یعنی PTPN۶ از ژن‌های دخیل در فاکتورهای مقاومت به انگل است این ژن‌ها نقش‌های مختلفی در مکانیسم‌های پاسخ ایمنی ذاتی و اکتسابی دارند (۱). در این تحقیق از هستی‌شناسی ژن برای جستجوی مسیرهای سیگنالینگ متابولیک و سلولی مرتبط با مقاومت انگل استفاده شد. در طی یکی از تحقیقات انجام شده به وسیله هستی‌شناسی ژن، دو مسیر توسط ژن‌های

جدول ۱- ژن‌های شناسایی شده برای صفات مرتبط با مقاومت به انگل در گوسفند.

صفات	ژن
تعداد تخم نماد در مدفوع	POLRYB, NOA1, JGFBPV, TMEM30A, COL12A1, FILIP1, SENP6, IMPG1, IFNG, IL2F6, HTR1E, CGA, LOC106990113, FBXL4, LOC101121352, MDGA2, LOC101111099, LOC105604063, PRSS33, LOC105603973, ME3, CAH6orf163, GJBV, SMIM8, ZNF492, RELN, LOC106990577, ORC5, BARHL2, ZNF644, BARX2, JAM3, LOC101117120, LOC101103981, DNAL1, PNMA1, RGMB, ELMSAN1, CHD1, LOC101103336, SLC6A1, HRH1, SLC6A11, IPO11, LRRCV0, KCN1, LOC101104669, LOC105615767, LOC105605037, LOC105605039, GRID1
مقاومت / حساسیت به عفونت ایجاد شده توسط <i>Haemonchus contortus</i>	LAMC2
تعداد تخم <i>Nematodirus</i> در مدفوع	TNFRSF1A, SCNN1A, CD27, PLEKHG6, VWF, CD9, TRNA-GCA, ANO2, SOX5, ING4, NOP2, ACRBP, LPAR5, IFFO1, GAPDH, MRPL5, TAPBPL, LTBR, VAMP1, ENO2, ATN1, PHB2, TPI1, GPR162, GNB2, P2H3, MLF2, LAG3, COPS3A, ZNF384, EM2B, CLEC4E, PEX5, C1S, C1RL, RBPS, CLSTN2, LPCAT2, EMG1, CDC42, PTPN6, ANK2, RPAP2, CLEC4D, RFWD2
تعداد تخم انگل <i>Strongyle</i> در مدفوع	TMEM200C, ZBTB14, ARHGAP28, ABCC9
تعداد تخم انگل <i>Trichostrongylus</i> در مدفوع	MNT, METTL16
تعداد کرم‌ها	MAK16, TTIY, RNF122, ADO, UNC5D, FUT10, EGR2, TRMT1L, RNF2, SWT1, ZBTB3C, HTR1A, RNF180, NRG1, DUSP26
طول کرم‌ها	DNMBP, CHUK, CPN1, PIAS1, CLN6, FEM1B, CALML4, SEMA3A, ITGA11

طریق مولکول‌های اصلی سازگار بافتی (MHC کلاس I)، مهاجرت عصبی و مولکول‌های چسبندگی سلول به‌عنوان مهم‌ترین مسیرهای یافت شده، شناخته شدند و در مجموع حدود ۵۵ درصد فرآیندها و ژن‌های دخیل در صفت مورد مطالعه را شامل شدند. پیرووات در تلاقی مسیرهای اصلی متابولیسم انرژی قرار دارد که

متفاوتی در حیوانات مقاوم بیان شده است که با ایجاد پاسخ ایمنی اکتسابی و موارد مربوط به ساختار ماهیچه صاف روده درگیر بودند (۱۵). به نظر می‌رسد ژن‌های دخیل در این فرایندها عوامل ژنتیکی کلیدی مقاومت به انگل هستند. در این مطالعه ۴ مسیر زیستی شامل فرآیند متابولیک پیرووات، فرآوری آنتی‌ژن و عرضه آنتی‌ژن پپتید از

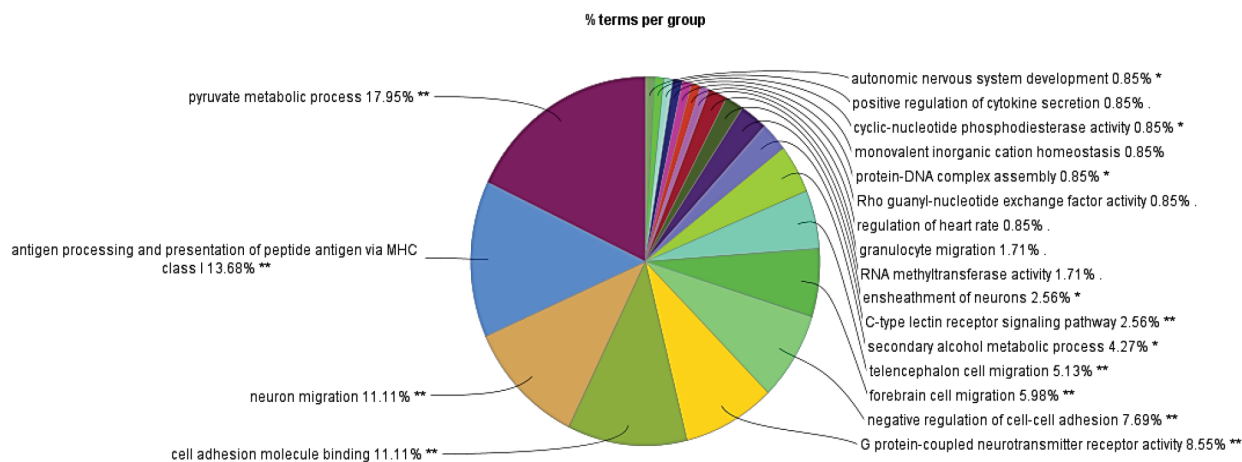
جدول ۲- ژن‌های شناسایی شده برای صفات مرتبط با مقاومت به انگل در گوسفند به تفکیک کروموزوم.

کروموزوم	ژن
۱	BARHL۲, SDHC, MPZ, ZNF۶۶۴, CFAP۱۲۶, PCP۴L۱, ZBTB۲۰
۲	NPPC, COPS۷B, COPS۷B, DIS۳L۲, SP۹, OLA۱, CIR۱
۳	PLEKHG۶, VWF, CD۹, TRNA-GCA, ANO۲, SOX۵, MIRLET۷B, PPARA, LDOC۱L, IFNG, IL۲۶, ACRBP, IFFO۱, GAPDH, MRPL۵۱, TAPBPL, LTBR, VAMP۱, TNFRSF۱A, SCNN۱A, CD۷۷, PHB۲, TPI۱, GPR۱۶۲, GNB۲, PTH۲, MLF۲, LAG۲, COPS۷A, ZNF۲۸۴, ING۶, NOP۲, LPAR۵, EMF۵, PEX۵, C۱S, C۱RL, RBPS, CLSTN۳, LPCAT۲, EMG۱, CDCA۳, PTPN۶, ENO۲, ATN۱, RPAP۳, TMEML۰۰C, ZBTB۱۴, ARHGAP۲۸, ABCC۹, CLEC۴E, CLEC۴D, KCNJ۸
۴	RELN, TFAP۲D, SEMA۳A, ORC۵
۵	RGMB, CHD۱
۶	IGFBP۷, POLR۲B, NOA۱, IGFBP۷, MAN۲B۲
۷	DNAL۱, PNMA۱, ELSAN۱, MDGA۲, CYP۱۹, NUMB, TPM۱
۸	GJB۷, SMIMA, HTR۱E, CGA, ZNF۲۹۲, FBXL۶, TMEML۳۰A, COL۱۳A۱, FILIP۱, SENP۶, IMPG۱
۹	KCNV۱, PAG۱
۱۰	KIAA۰۲۲۶L, LRRC۶۳, DGKH, LRCH۱
۱۱	PIAS۱, CLN۶, FEM۱B, CALML۴, ITGA۱۱, MNT, METTL۱۶, GIP, METTL۱۶, IGFBP۱
۱۲	LAMC۲, RFD۲, TNR, CFAP۷۴, PLD۵, PAPPAY, ASTN۱, TRMT۱L, SWT۱, RNF۲
۱۵	ARHGEF۱۲
۱۶	HTR۱A, RNF۱۸۰, IPO۱۱, LRRC۷۰
۱۹	SLC۶A۱, HRH۱, SLC۶A۱۱
۲۰	TFAP۲B, TFAP۲D, TAP۲, PSMB۸, DYA, TAP۱
۲۱	BARX۲, JAM۳, PRSS۲۳, ME۲, TMEML۶A, IGSF۲۲, UEVLD, SPTY۲D۱
۲۲	DNMBP, PRLHR, CHUK, CPN۱
۲۳	ZBTB۷C, SLC۱۴A۲
۲۴	SRCAP, FBRS, PRR۱۴, ZNF۶۸۹
۲۵	ADO, ANK۲, EGR۲, KAT۶B, ADK, GRID۱, BICC۱
۲۶	NRG۱, DUSP۲۶, MAK۱۶, TTI۱, RNF۱۲۲, UNC۵D, FUT۱۰, KLKB۱, MTNR۱A, F۱۱

پاسخ‌های ایمنی میزبان و تنظیم بیش‌ازحد ژن‌های دخیل در پردازش آنتی‌ژن و ارائه آنتی‌ژن پپتیدی (از طریق کلاس I MHC) باشد (۲۰). مهاجرت عصبی روشی است که به‌وسیله آن سلول‌های عصبی از مبدأ یا محل تولد خود به موقعیت نهایی خود در مغز می‌روند. این مهاجرت یک فرآیند اساسی برای توسعه سیستم عصبی پستانداران است در واقع مهاجرت سلول‌های عصبی یک‌روند اساسی در ایجاد سیستم عصبی مرکزی (CNS) محسوب می‌شود. نقص در مهاجرت عصبی ممکن است منجر به یک اختلال عصبی شود. در این باره نیز مطالعه‌ای باهدف بررسی پروفایل بیان ژن کامل خون گاوهای آلوده به *MAP* (*Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis*)، با استفاده از ریزآرایه‌ها انجام شده است. طبق نتایج به‌دست‌آمده از جمله مسیرهای متابولیکی مرتبط با ژن‌های دخیل، فراوری آنتی‌ژن و عرضه آنتی‌ژن پپتید از طریق مولکول‌های اصلی سازگار بافتی (MHC کلاس I) و مهاجرت عصبی بودند (۲۸). مولکول‌های چسبندگی سلولی زیرمجموعه‌ای از پروتئین‌های چسبنده سلولی هستند که در سطح سلول با اتصال به سلول‌های دیگر در فرآیندی به نام چسبندگی سلول دخیل‌اند. در واقع، مولکول‌های چسبنده سلول، به سلول‌ها کمک می‌کند تا به یکدیگر و به محیط اطراف آن‌ها بچسبند. چسبندگی سلول یک مؤلفه اساسی در حفظ ساختار و عملکرد بافت است. در حیوانات کاملاً تکامل‌یافته، این مولکول‌ها نقشی اساسی در ایجاد نیرو و حرکت دارند. در این رابطه مطالعه‌ای به‌منظور بررسی پروفایل *miRNA* سرم گاو و تأثیر بالقوه آن بر ایمنی انجام شده است. در این تحقیق نیز پس از بررسی و مسیریابی ژن‌های هدف، به مسیرهای بیولوژیکی چون مولکول‌های چسبندگی دست یافتند (۲۴). در این تحقیق بررسی دقیق مکانیسم‌های سلولی و مسیرهای متابولیکی سبب تأیید صحت QTL‌های یافت شده و بررسی تأثیر جهش‌های محتمل، بر روی فرایندهای سلولی شد. مطالعه‌ای در این خصوص با استفاده از تجزیه و تحلیل GWAS مبتنی بر SNP انجام شده است. نتایج، اطلاعات

محصول نهایی گلیکولیز و نقطه شروع گلوکوئوژنز است. همچنین می‌تواند از طریق انتقال آمین از آلانین تولید شود و یا می‌تواند توسط کمپلکس پیرووات دهیدروژناز به استیل کوانزیم A تبدیل شود از طرفی می‌تواند به‌عنوان نقطه شروع سنتز اسیدهای چرب زنجیره بلند، استروئیدها و اجسام کتون، بسته به بافت و حالت متابولیکی که در آن تشکیل شده است، باشد. پیرووات در واقع نقش اصلی را در بالانس انرژی موزد نیاز اندام‌های بدن ایفا می‌کند. مطالعه‌ای در این باره با استفاده از یک روش اولویت‌بندی ژن‌های بیماری‌زا مبتنی بر شبکه، برای رتبه‌بندی ژن‌های گاو با توجه به ارتباط آن‌ها با ورم پستان صورت گرفته است که نشان‌دهنده ارتباط این مسیر با عفونت و التهاب است. در این تحقیق یکی از مسیرهای متابولیکی مرتبط با ژن‌های اولویت‌بندی شده مسیر متابولیک پیرووات بود (۱۹).

فراوری آنتی‌ژن و عرضه آنتی‌ژن پپتید از طریق مولکول‌های اصلی سازگار بافتی (MHC کلاس I)، فرآیندی است که در آن سلول ارائه‌دهنده آنتی‌ژن، آنتی‌ژن پپتیدی را در سطح سلول خود در ارتباط با یک مجموعه پروتئین (MHC کلاس I) بیان می‌کند. مولکول‌های اصلی سازگار بافتی (MHC) یک بخش بزرگ در DNA مهره‌داران هستند که حاوی مجموعه‌ای از ژن‌های چندشکلی نزدیک به هم هستند و پروتئین‌های سطح سلول را برای سیستم ایمنی، به‌صورت تطبیقی کد می‌کنند. این مولکول‌ها با گزارش حوادث درون‌سلولی مانند عفونت ویروسی، وجود باکتری‌های داخل سلول یا آنتی‌ژن‌های مرتبط با تومور، در ایمنی ناشی از سلول نقش مهمی را ایفا می‌کنند. در این خصوص مطالعه‌ای به‌منظور شناسایی بیان متفاوت ژن‌ها (DEGs) مربوط به پاسخ ایمنی عملکردی میزبان واکسینه شده با واکسن غیرفعال BVDV نوع I و ارائه بینش در مورد چگونگی بهبود ایمنی حیوانات در برابر بیماری‌ها انجام شده است. بررسی مسیرها از طریق KEGG نشان داد که واکسن غیرفعال BVDV نوع I سبب ایجاد تغییر در بیان ژن‌ها می‌شود و ممکن است مسئول



شکل ۱- مسیرهای متابولیکی مرتبط با صفت مقاومت به انگل.

H. R. Seyedabadi and F. Gharari. 2018. Identification of biological pathways involved in body growth of cattle using gene expression profiles. *Animal Sciences Journal* 31: 59-70.

4- Bakhshalizadeh, S., S. Zerehdaran and A. Javadmanesh. 2021. Meta-analysis of genome-wide association studies and gene networks analysis for milk production traits in Holstein cows. *Live-stock Science* 250: 104605.

5- Benavides, M. V., T. S. Sonstegard, S. Kemp, J. M. Mugambi, J. P. Gibson, R. L. Baker, O. Hanotte, K. Marshall and C. Van Tassell. 2015. Identification of novel loci associated with gastrointestinal parasite resistance in a Red Maasai x Dorper backcross population. *PLoS one* 10: e0122797.

6- Benavides, M. V., T. S. Sonstegard and C. Van Tassell. 2016. Genomic regions associated with sheep resistance to gastrointestinal nematodes. *Trends in parasitology* 32: 470-480.

7- Beraldi, D., A. F. McRae, J. Gratten, J. G. Pilkington, J. Slate, P. M. Visscher and J. M. Pemberton. 2007. Quantitative trait loci (QTL) mapping of resistance to strongyles and coccidia in the free-living Soay sheep (*Ovis aries*). *International Journal for Parasitology* 37: 121-129.

8- Brown, D. and N. Fogarty. 2016. Genetic relationships between internal parasite resistance and production traits in Merino sheep. *Animal Production Science* 57: 209-215.

9- Chikweto, A., K. Tiwari, M. I. Bhaiyat, J. Carloni, K. Pashaian, A. Pashaian, C. De Allie and R. N. Sharma. 2018. Gastrointestinal parasites in small ruminants from Grenada, West Indies: A coprological survey and a review of necropsy cases. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports* 13: 130-134.

10- Chung, H.-J., M. Kim, C. H. Park, J. Kim and J. H. Kim. 2004. ArrayXPath: mapping and visualizing microarray gene-expression

مربوط با نشانگرهای SNP و مسیرهای متابولیسی مرتبط با آنها را ارائه می‌کند که پتانسیلی برای کمک به انتخاب نسل‌های بعد با مقاومت به انگل‌های گوارشی در گوسفندان دارای پس‌زمینه ژنتیکی مشابه است (۵).

### نتیجه‌گیری

پس از هستی‌شناسی و بررسی ژن‌های به‌دست‌آمده با استفاده از رسم شبکه ژنی؛ ۱۹۸ ژن و ۲۰ مسیر متابولیسی یافت شدند که در این بین سه مسیر سهم بیشتری را داشتند. QTL‌های یافت شده مرتبط باصفت مقاومت به انگل در ارتباط با انواع مختلف انگل از قبیل *Haemonchus contortis*، *Teladorsagia circumcincta*، *Nematodirus* و *Trichostrongylus colubriformis* (۵، ۷، ۲۲، ۲۵) بودند. با توجه به اهمیت نقش این حیوان در زندگی انسان و کمبود اطلاعات ژنومی در این رابطه این تحقیق به درک بهتر ارتباط بین ژن‌ها و مسیرهای دخیل کمک کرد. می‌توان از روش بکار گرفته شده در این تحقیق برای مشخص کردن ژن‌ها و مسیرهای زیستی درگیر در سایر صفات مهم گوسفند نیز بهره برد.

### تشکر و قدردانی

این تحقیق با حمایت دانشگاه فردوسی مشهد، گرنت شماره ۳/۵۲۴۱۸ انجام شده است.

### منابع مورد استفاده

1-Al Kalaldehy, M., J. Gibson, S. H. Lee, C. Gondro and J. H. Van Der Werf. 2019. Detection of genomic regions underlying resistance to gastrointestinal parasites in Australian sheep. *Genetics Selection Evolution* 51: 1-18.

2- Alcaraz, N., H. Küçük, J. Weile, A. Wipat and J. Baumbach. 2011. KeyPathwayMiner: detecting case-specific biological pathways using expression data. *Internet Mathematics* 7: 299-313.

3-Alipanah, M., Z. Roudbari, A. Javadmanesh, M. Setaei Mokhtari,

جدول ۳- ژن‌های دخیل در چهار مسیر متابولیسی مهم.

مسیرهای متابولیسی	P value تصحیح‌شده بن فرونی	ژن‌های مرتبط
مسیر متابولیسی پرووات	۰/۰۱	ZBTB۲۰, PPARA, TPI۱, GAPDH, ME۳, ENO۲
فرآوری آنتی‌ژن و عرضه آنتی‌ژن پپتید از طریق مولکول‌های اصلی سازگار بافتی (MHC) کلاس I	۰/۰۲	TAPBPL, TAP۲, TAP۱
مهاجرت عصبی	۰/۰۱	RELN, PEX۵, NRG۱, BARHL۲, ASTN۱ SEMA۳A, UNC۵D
اتصال مولکول چسبندگی سلولی	۰/۰۷	VWF, SLC۱۴A۲, NUMB, PTPN۶, JAM۳, CD۱

- data with integrated biological pathway resources using Scalable Vector Graphics. *Nucleic Acids Research* 32: W460-W464.
- 11- Cockett, N. 2006. The sheep genome. *Vertebrate Genomes* 2: 79-85.
- 12- Consortium, C. T. 2003. The nature and identification of quantitative trait loci: a community's view. *Nature Reviews Genetics* 4: 911.
- 13- Consortium, G. O. 2008. The gene ontology project in 2008. *Nucleic Acids Research* 36: D440-D444.
- 14- Dessimoz, C. and N. Škunca. 2017. The gene ontology handbook. Springer Nature.
- 15- Diez-Tascón, C., O. M. Keane, T. Wilson, A. Zadissa, D. L. Hyndman, D. B. Baird, J. C. McEwan and A. M. Crawford. 2005. Microarray analysis of selection lines from outbred populations to identify genes involved with nematode parasite resistance in sheep. *Physiological Genomics* 21: 59-69.
- 16- Heino, M. Section. 2014. Quantitative traits. 59-76. Stock identification methods. Elsevier;
- 17- Hu, Z.-L., C. A. Park and J. M. Reecy. 2022. Bringing the Animal QTLdb and CorrDB into the future: meeting new challenges and providing updated services. *Nucleic Acids Research* 50: D956-D961.
- 18- Hu, Z.-L., C. A. Park, X.-L. Wu and J. M. Reecy. 2013. Animal QTLdb: an improved database tool for livestock animal QTL/association data dissemination in the post-genome era. *Nucleic Acids Research* 41: D871-D879.
- 19- Jiang, L., P. Sørensen, B. Thomsen, S. M. Edwards, A. Skarman, C. M. Røntved, M. S. Lund and C. T. Workman. 2012. Gene prioritization for livestock diseases by data integration. *Physiological Genomics* 44: 305-317.
- 20- Lopez, B. I., K. G. Santiago, D. Lee, S. Ha and K. Seo. 2020. RNA sequencing (RNA-Seq) based transcriptome analysis in immune response of Holstein cattle to killed vaccine against bovine viral diarrhea virus type 1. *Animals* 10: 344.
- 21- Marshall, K., J. Maddox, S. H. Lee, Y. Zhang, L. Kahn, H. U. Graser, C. Gondro, S. W. Walkden-Brown and J. Van Der Werf. 2009. Genetic mapping of quantitative trait loci for resistance to *Haemonchus contortus* in sheep. *Animal Genetics* 40: 262-272.
- 22- Marshall, K., J. Mugambi, S. Nagda, T. Sonstegard, C. Van Tassell, R. Baker and J. P. Gibson. 2013. Quantitative trait loci for resistance to *Haemonchus contortus* artificial challenge in Red Maastricht and Dorper sheep of East Africa. *Animal Genetics* 44: 285-295.
- 23- Mohammadi, F., M. Tahmoorespur and A. Javadmanesh. 2019. Study of differentially expressed genes, related pathways and gene networks in sheep fetal muscle tissue in thin- and fat-tailed breeds. *Animal Science Journal (Pajouhesh and Sazandegi)* 32(123): 301-312.
- 24- Quan, S., X. Nan, K. Wang, L. Jiang, J. Yao and B. Xiong. 2019. Different Diets Change the Expression of Bovine Serum Extracellular Vesicle-miRNAs. *Animals* 9: 1137.
- 25- Riggio, V., O. Matika, R. Pong-Wong, M. Stear and S. Bishop. 2013. Genome-wide association and regional heritability mapping to identify loci underlying variation in nematode resistance and body weight in Scottish Blackface lambs. *Heredity* 110: 420-429.
- 26- Sayre, B. and G. Harris. 2012. Systems genetics approach reveals candidate genes for parasite resistance from quantitative trait loci studies in agricultural species. *Animal Genetics* 43: 190-198.
- 27- Shannon, P., A. Markiel, O. Ozier, N. S. Baliga, J. T. Wang, D. Ramage, N. Amin, B. Schwikowski and T. Ideker. 2003. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. *Genome Research* 13: 2498-2504.
- 28- Shin, M.-K., H.-T. Park, S. W. Shin, M. Jung, Y. B. Im, H.-E. Park, Y.-I. Cho and H. S. Yoo. 2015. Whole-blood gene-expression profiles of cows infected with *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* reveal changes in immune response and lipid metabolism. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 25: 255-267.
- 29- Squire, S., I. Robertson, R. Yang, I. Ayi and U. Ryan. 2019. Prevalence and risk factors associated with gastrointestinal parasites in ruminant livestock in the Coastal Savannah zone of Ghana. *Acta Tropica* 199: 105126.
- 30- Zhang, L., J. Liu, F. Zhao, H. Ren, L. Xu, J. Lu, S. Zhang, X. Zhang, C. Wei and G. Lu. 2013. Genome-wide association studies for growth and meat production traits in sheep. *PloS One* 8: e66569.

