



انجمن علوم دامی ایران



دانشگاه علوم کشاورزی
و منابع طبیعی ساری



مجموعه مقالات

نهمین کنگره ملی و اولین کنگره بین‌المللی علوم دامی ایران

۲۴-۲۵ شهریور ۱۴۰۰ 

دانشگاه علوم کشاورزی
و منابع طبیعی ساری 





بررسی مسیرهای متابولیکی ژن‌های مرتبط با جایگاه صفات کمی مربوط به صفت چندقلوزایی در ژنوم گوسفند با استفاده از شبکه ژنی

یاسمن زراعت‌پیشه^۱، علی جواد منش^{۲*}، سعید زره داران^۲

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک و اصلاح نژاد دام، گروه علوم دامی، دانشگاه فردوسی مشهد

۲. عضو هیئت‌علمی گروه علوم دامی، دانشگاه فردوسی مشهد

ایمیل نویسنده مسئول: javadmanesh@um.ac.ir

چکیده

گوسفند یکی از مهم‌ترین دام‌های سبک سودمند است که به‌عنوان منبع گوشت، شیر، پشم و پوست در سراسر جهان مورد استفاده قرار می‌گیرد. در صنعت پرورش گوسفند، صفات تولیدمثلی مانند باروری و صفت چندقلوزایی به‌عنوان یکی از عمده‌ترین عوامل مؤثر بر سودآوری شناخته شده‌اند. شناخت معماری ژنتیکی این صفات و استفاده از آن در اصلاح نژاد باعث افزایش تولید و بهره‌وری حیوانات اهلی می‌شود. در دسترس بودن داده‌های ژنومی مانند جایگاه صفات کمی (QTL) و هستی‌شناسی ژن از طریق روش‌های بیوانفورماتیک نقش محوری در درک پتانسیل ژنتیکی صفات مختلف داشته است. بدین منظور QTL های مربوط به صفت چندقلوزایی در گوسفند از طریق پایگاه داده AnimalQTL تهیه شد. سپس ژن‌های مربوط به هر QTL از ژنوم مرجع گوسفند در پایگاه داده NCBI به دست آمد. در ادامه، به‌منظور یافتن ارتباط بین ژن‌های به‌دست‌آمده، شبکه‌های ژنی برای هر صفت با استفاده از نرم‌افزار Cytoscape_v3.8.0 ترسیم شد و در نهایت تفسیر شبکه‌های ژنی و بررسی هستی‌شناسی ژن‌ها از طریق نرم‌افزار Cytoscape صورت گرفت. نتایج این مطالعه نشان داد در مجموع ۷۵ QTL برای صفت چندقلوزایی وجود دارد که حاوی ۶۸ ژن بودند. آنالیز هستی‌شناسی این ژن‌ها ۲۳ مسیر بیولوژیکی را نشان داد که ۲ مسیر سهم بیشتری را در این بین داشتند که شامل: روند چرخه تخمک‌گذاری و تغییر مسیر رشد سیگنالینگ گیرنده بتا می‌شوند. نتایج به‌دست‌آمده نشان می‌دهد BMP15، BMPR1B و GDF9 تا از مؤثرترین ژن‌های دخیل در صفت چندقلوزایی گوسفند هستند.

کلمات کلیدی: گوسفند، چندقلوزایی، جایگاه صفات کمی، هستی‌شناسی ژن‌ها

مقدمه

نژادهای بومی هر کشوری به‌عنوان بخشی از سرمایه ملی در جهت رونق اقتصاد آن کشور محسوب می‌شوند که حفظ و نگهداری این نژادها بسیار بااهمیت است. در این میان گوسفندان، نقش بسزایی را در این زمینه ایفا می‌کنند؛ چراکه این حیوانات در مقایسه با سایر نشخوارکنندگان بزرگ دارای مزایای متعددی هستند که از جمله آن‌ها می‌توان به سرمایه‌گذاری اندک، چرخه کوتاه‌تر تولید، سرعت رشد سریع‌تر و سازگاری بیشتر با محیط‌زیست اشاره کرد. علاوه بر این، شرایط دام‌پروری راحت‌تر و نرخ بازده بالاتر گوسفندان نسبت به سایر حیوانات، توجه بسیاری از دام‌پروران را به خود جلب کرده است (هراندز و همکاران، ۲۰۱۸). در حال حاضر بهبود صفاتی همچون صفات تولیدمثلی اهداف اصلی پرورشی است. چندقلوزایی (تعداد بره در هر زایش) و میزان تخمک‌گذاری از صفات باروری مهم در گوسفندان باارزش اقتصادی بالا می‌باشند (ژانگ لی و همکاران، ۲۰۱۷). به همین منظور مطالعات متعددی به‌منظور بهبود این صفات صورت گرفته است که از جمله آن‌ها می‌توان به مطالعات کل ژنومی اشاره کرد که در گوسفند نسبت به گاو شیری کمتر به آن پرداخته شده است. از این‌رو، یکی از اصلی‌ترین محدودیت‌ها در خصوص صفات تولیدی گوسفند، کمبود اطلاعات ژنومی و فقدان داده‌های دقیق فنوتیپی است (ژانگ و همکاران، ۲۰۱۳). از آنجایی که صفات تولیدمثلی به‌طور معمول دارای توارث کم و متوسط هستند و پاسخی قابل توجه به انتخاب فنوتیپی از خود نشان نمی‌دهند؛ بنابراین بررسی اطلاعات ژنتیکی مرتبط با توانایی



تولیدمثل می‌تواند به‌طور مؤثر انتخاب را افزایش دهد (ژانگ لی و همکاران، ۲۰۱۷). در بعضی از مطالعات ژنتیکی نشان داده‌شده که چندقلوزایی و میزان تخمک ریزی می‌تواند تحت تأثیر چند ژن بزرگ اثر باشند (عبدلی و همکاران، ۲۰۱۶).

یکی از راه‌های مطالعه صفات تولیدی در انواع دام بخصوص گوسفندان، بررسی ژن‌ها و استفاده از نشانگرهای مختلف است. در طول دهه‌های اخیر، پیشرفت در فن‌آوری نشانگرهای مبتنی بر DNA باعث شده مناطق ژنومی جایگاه صفات کمی (QTL) شناسایی شوند (هو و همکاران، ۲۰۱۳). در واقع، QTL یک جایگاه ژنتیکی از صفات کمی در ژنوم است و نقش مهمی در ارزیابی ژنتیکی حیوانات پرورشی دارد؛ که امروزه به‌عنوان یک نشانگر در نظر گرفته می‌شود. در طی سال‌های گذشته، روش‌های بیوانفورماتیک به‌منظور بررسی عملکرد و ویژگی‌های ژن‌ها گسترش یافته‌اند. هستی‌شناسی ژن، یکی از مهم‌ترین ابتکارات بیوانفورماتیک است که برای متحد کردن ویژگی‌های ژن و محصولات ژنی در انواع گونه‌ها به‌کاربرده می‌شود (کنسورتیم هستی‌شناسی ژن، ۲۰۰۸). بنابراین، با توجه به در دسترس نبودن مستقیم صفات مربوط به ژن‌ها در گوسفند و لزوم بررسی این ارتباط از طریق نشانگرهای مولکولی، هدف از انجام این تحقیق بررسی و یافتن ژن‌های اصلی و مسیرهای متابولیکی مرتبط باصفت چندقلوزایی از طریق بررسی QTL های شناخته‌شده و هستی‌شناسی ژن‌ها در گونه گوسفند است.

مواد و روش

در پژوهش حاضر QTL های مربوط به صفت چندقلوزایی در گوسفند از طریق پایگاه داده AnimalQTL (www.animalgenome.org) به دست آمد. در ابتدا تمامی QTL های موجود بر روی کروموزوم‌ها خصوصیات هر QTL شامل شماره کروموزوم و موقعیت QTL موردبررسی قرار گرفتند. سپس با استفاده از موقعیت‌های به‌دست‌آمده، ژن‌های مربوط به هر QTL از ژنوم مرجع گوسفند (نسخه oar_v4.0) در پایگاه داده NCBI (www.ncbi.com) به دست آمد. در ادامه، به‌منظور یافتن ارتباط بین ژن‌های به‌دست‌آمده و نیز یافتن ژن‌های جدید مرتبط با ژن‌های شناخته‌شده، شبکه‌های ژنی برای هر صفت ترسیم شد. بدین منظور برای رسم شبکه‌های ژنی مرتبط با ژن‌های موردنظر از نرم‌افزار Cytoscape_v3.8.0 (شانون و همکاران، ۲۰۰۳) که یک نرم‌افزار منبع باز به‌منظور تصویرسازی و تجزیه و تحلیل شبکه، برای داده‌های بیولوژیکی است استفاده گردید. در ادامه برای تفسیر شبکه‌های ژنی و بررسی هستی‌شناسی ژن‌ها نیز از افزونه ClueG (نسخه v2.5.7) در نرم‌افزار Cytoscape استفاده شد (ملکنیک و همکاران، ۲۰۱۰).

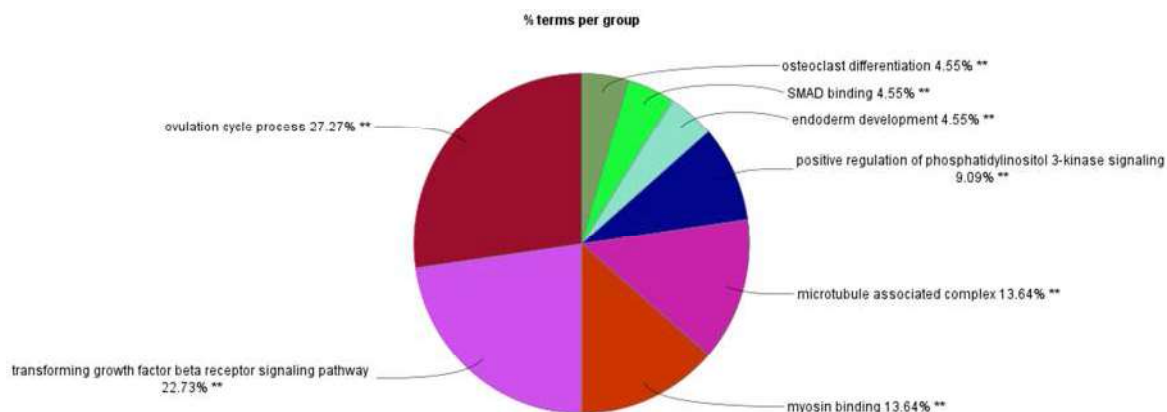
نتایج و بحث

در این بخش برای انجام بررسی جایگاه صفات کمی از پایگاه داده AnimalQTL بهره گرفته شد و پس از بررسی این پایگاه به‌منظور پیدا کردن جایگاه صفات کمی موردنظر، در مجموع ۷۵ QTL برای صفت چندقلوزایی وجود داشت. در ادامه با جستجوی موقعیت هر QTL در پایگاه داده NCBI، ۶۸ ژن مرتبط با این صفت (تعداد بره به ازای هر زایش) پیدا شد. در این باره، مطالعه‌ای جهت بررسی ژن‌های درگیر در میزان تخمک‌گذاری و صفت بره زایی در گوسفندان انجام شده است. بدین منظور به مطالعه‌ی ژن‌های BMP15, BMPR-1B, و GDF9 و جهش در آن‌ها پرداخته شد. این ژن‌ها نقش مهمی را در تخمک‌گذاری و تعداد بره به ازای هر زایش ایفا می‌کنند (جانسون، ۲۰۱۴). در مطالعه‌ای دیگر نیز به شناسایی SNP های ژن BMPR-1B، به‌عنوان یک ژن کاندید مهم در باروری گوسفند پرداختند. نتایج این تحقیق نشان داد که BMPR-1B یک ژن اصلی است که بر میزان تولیدمثل در گوسفندان تأثیر می‌گذارد و می‌تواند به‌عنوان یک نشانگر ژنتیکی مولکولی برای انتخاب اولیه برای باروری زیاد در گوسفند استفاده شود (چو و همکاران، ۲۰۱۱).

پس از قرار دادن ژن‌های موردنظر در نرم‌افزار Cytoscape با استفاده از افزونه ClueGo، ۲۳ مسیر بیولوژیکی یافت شد که ۲ مسیر سهم بیشتری را در این بین داشتند که شامل روند چرخه تخمک‌گذاری و تغییر مسیر رشد سیگنالینگ گیرنده بتا بودند (شکل ۱). در تأیید نتایج به‌دست‌آمده، مطالعه‌ای به‌منظور شناسایی و بررسی خصوصیات miRNA ها در تخمدان‌های نژاد گوسفندان با باروری بالا انجام شده است. در این تحقیق پس از هستی‌شناسی ژن‌های فرضی برای هر miRNA، دریافتند که ژن‌های BMP, SMAD1, BMPR1B در مسیر بیولوژیکی سیگنالینگ مسیر فاکتور رشد بتا نقش دارند (هو و همکاران، ۲۰۱۶). در مطالعه‌ای دیگر که باهدف بررسی پروفایل بیان circRNA رحم در سیکل تولیدمثل



انجام گرفته است یکی از مسیرهای بیولوژیکی یافت شده در طی هستی‌شناسی ژن‌های میزبان circRNA نیز تغییر مسیر رشد سیگنالینگ گیرنده بتا بود (لا و همکاران، ۲۰۱۹). با توجه به در دسترس نبودن مستقیم صفات مربوط به ژن‌ها در گوسفند و لزوم بررسی این ارتباط از طریق نشانگرهای مولکولی، نتایج بررسی QTL ها در این پژوهش نشان داد که BMP15, BMPR-1B, و GDF9 سه تا از مؤثرترین ژن‌های دخیل در صفت چندقلوایی هستند. همچنین با انجام هستی‌شناسی ژن‌های یافت شده از طریق QTL های این صفت، ۲۳ مسیر بیولوژیکی مرتبط با این صفت مشخص و بررسی شد.



شکل ۱: مسیرهای بیولوژیکی مرتبط با چندقلوایی در گوسفند

منابع

- Abdoli, R, P Zamani, SZ Mirhoseini, N Ghavi Hossein-Zadeh, and S Nadri. 2016. 'A review on prolificacy genes in sheep', *Reproduction in Domestic Animals*, 51: 631-37.
- Chu, Mingxing, Lihua Jia, Yingjie Zhang, Mei Jin, Hongquan Chen, Li Fang, Ran Di, Guiling Cao, Tao Feng, and Qianqian Tang. 2011. 'Polymorphisms of coding region of BMPR-1B gene and their relationship with litter size in sheep', *Molecular Biology Reports*, 38: 4071-76.
- Consortium, Gene Ontology. 2008. 'The gene ontology project in 2008', *Nucleic Acids Research*, 36: D440-D44.
- Hernandez, D Garza, S Mucha, G Banos, K Kaseja, K Moore, N Lambe, J Yates, and L Bunger. 2018. 'Analysis of single nucleotide polymorphisms variation associated with important economic and computed tomography measured traits in Texel sheep', *Animal*, 12: 915-22.
- Hu, Xiaojun, Kisun Pokharel, Jaana Peippo, Nasser Ghanem, Ismail Zhaboyev, Juha Kantanen, and Meng-Hua Li. 2016. 'Identification and characterization of mi RNA s in the ovaries of a highly prolific sheep breed', *Animal Genetics*, 47: 234-39.
- Hu, Zhi-Liang, Carissa A Park, Xiao-Lin Wu, and James 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-D79.
- Jansson, Towe. 2014. 'Genes involved in ovulation rate and litter size in sheep'.



- La, Yongfu, Jishun Tang, Ran Di, Xiangyu Wang, Qiuyue Liu, Liping Zhang, Xiaosheng Zhang, Jinlong Zhang, Wenping Hu, and Mingxing Chu. 2019. 'Differential expression of circular RNAs in polytocous and monotocous uterus during the reproductive cycle of sheep', *Animals*, 9: 797.
- Mlecnik, Bernhard, Marie Tosolini, Pornpimol Charoentong, Amos Kirilovsky, Gabriela Bindea, Anne Berger, Matthieu Camus, Mélanie Gillard, Patrick Bruneval, and Wolf-Herman Fridman. 2010. 'Biomolecular network reconstruction identifies T-cell homing factors associated with survival in colorectal cancer', *Gastroenterology*, 138: 1429-40.
- Shannon, Paul, Andrew Markiel, Owen Ozier, Nitin S Baliga, Jonathan T Wang, Daniel Ramage, Nada Amin, Benno Schwikowski, and Trey Ideker. 2003. 'Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks', *Genome research*, 13: 2498-504.
- Zhang, Li, Jiasen Liu, Fuping Zhao, Hangxing Ren, Lingyang Xu, Jian Lu, Shifang Zhang, Xiaoning Zhang, Caihong Wei, and Guobin Lu. 2013. 'Genome-wide association studies for growth and meat production traits in sheep', *PloS one*, 8: e66569.
- Zhang, Yanli, Fengzhe Li, Xu Feng, Hua Yang, Aoxiang Zhu, Jing Pang, Le Han, Tingting Zhang, Xiaolei Yao, and Feng Wang. 2017. 'Genome-wide analysis of DNA Methylation profiles on sheep ovaries associated with prolificacy using whole-genome Bisulfite sequencing', *BMC Genomics*, 18: 1

Investigation of metabolic pathways of genes related to the *QTL* of litter size trait in sheep genome using gene network

Yasaman zeraatpisheh¹, Ali javadmanesh^{2*} Saed zerehdaran²

1. Master Student of Livestock Genetics And Breeding, Department of Animal Science, Ferdowsi University, Mashhad

2. Faculty member of Animal Science Department, Ferdowsi University, Mashhad

* Corresponding Author's Email: javadmanesh@um.ac.ir

Abstract

Sheep is one of the major economically important small ruminant used as a source of meat, milk, wool, and fur around the world. In sheep production, reproductive traits such as fertility and litter size have been recognized as major factors influencing profitability. Understanding the genetic background of these traits and their application in animal breeding would promote the increase in productivity of domestic animals. The availability of genomic data such as quantitative trait locus (QTL) and gene ontology through bioinformatics methods have come to play a pivotal role in understanding the genetic background of different animal traits. QTLs related to litter size in sheep were prepared through AnimalQTL database. Then, the genes for each QTL were obtained from the NCBI database. After that, in order to find the relationship between the obtained genes, gene networks for each trait were drawn using Cytoscape v3.8.0 software. Finally, the interpretation of gene networks and the study of gene ontology was done through Cytoscape software. The results of this study showed that there were a total of 75 QTLs for litter size trait, of which 68 genes were related to this trait. The gene ontology analysis revealed 23 biological pathways, which two of them were more important, including: ovulation cycle process, and growth pathway of beta receptor signaling. The results showed that *BMPR-1B*, *BMP15* and *GDF9* are three of the most effective genes involved in sheep litter size.

Key words: Sheep, Litter size, Quantitative trait locus, Gene ontology