

IBC2022-202206-923

بررسی مسیرهای متابولیکی ژن‌های مهم مرتبط با جایگاه صفات کمی مربوط به صفت وزن تولد در

گوسفند با استفاده از رسم شبکه ژنی و هستی‌شناسی ژن

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

۱. گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

ایمیل نویسنده مسئول: javadmanesh@um.ac.ir

چکیده

گوسفند یکی از مهم‌ترین حیوانات اقتصادی است که به‌عنوان منبع گوشت، شیر، پشم و پوست در سراسر جهان مورد استفاده قرار می‌گیرد. در صنعت پرورش گوسفند، صفات مربوط به رشد و وزن تولد به‌عنوان یکی از عوامل مؤثر بر سودآوری شناخته شده‌اند. لذا؛ هدف از این مطالعه بررسی ژن‌های اصلی و مسیرهای متابولیکی مرتبط با صفت وزن تولد از طریق بررسی QTL های شناخته شده و هستی‌شناسی ژنی در گونه‌های گوسفند است. پس از دریافت لیست QTL های مربوط به این صفت در گوسفند از طریق پایگاه داده AnimalQTL و حاشیه‌نویسی ژنوم گوسفند نسخه 2.0 از پایگاه داده NCBI دریافت شد و سپس ژن‌های مرتبط با هر QTL از طریق برنامه‌نویسی در محیط R به دست آمد. در ادامه به‌منظور یافتن ارتباط بین ژن‌های به‌دست آمده، شبکه‌ی ژنی برای این صفت با استفاده از افزونه STRING در نرم‌افزار Cytoscape_v3.9.1 ترسیم شد. سپس برای مشخص کردن ژن‌های مهم از افزونه MCODE استفاده شد و در نهایت بررسی هستی‌شناسی ژن‌های مهم در وزن تولد از طریق افزونه ClueGO در نرم‌افزار Cytoscape صورت گرفت. نتایج این مطالعه نشان داد در مجموع ۳۷ QTL برای صفت وزن بدن در تولد وجود دارد که حاوی ۱۴۷۴ ژن بود که از این بین ۲۳۷ ژن ارتباط بیشتری با سایر ژن‌ها داشتند. آنالیز هستی‌شناسی این ژن‌های مهم نشان داد که مسیر زیستی عمده در صفت وزن تولد گوسفند مسیر RNA پلیمراز II، کاتابولیسم پروتئین سلولی، زیر واحد بزرگ ریبوزومی، تنظیم پروتئولیز در فرآیند کاتابولیک پروتئین سلولی، اتصال گیرنده فاکتور رشد بودند.

کلمات کلیدی: گوسفند، جایگاه صفات کمی، هستی‌شناسی ژن‌ها، مارکرهای مولکولی

مقدمه

گوسفند در بسیاری از کشورها، به‌ویژه در مناطق گرمسیری مانند کشورهای خاورمیانه، حیوان مهمی در تولید گوشت است و کارایی اقتصادی آن عمدتاً به توانایی رشد و تولیدمثل آن بستگی دارد (۱). بیشترین بخش درآمد در سیستم تولید گوسفند از طریق تولید بره تأمین می‌شود (۲)؛ از این رو صفات مربوط به رشد از نظر اقتصادی در صنعت دامداری دارای جایگاه مهمی هستند. در این بین وزن هنگام تولد اولین صفت رشد موجود است که تأثیرات قابل توجهی بر قابلیت بقا و عملکرد رشد بره دارد (۳). کارایی انتخاب برای عملکرد رشد را می‌توان با استفاده از روش‌های ژنتیکی بهبود بخشید، زیرا داده‌های ژنومی اطلاعات ارزشمندی را برای ارزیابی حیوانات فراهم می‌کند (۴). در این بین استفاده از روش‌های مربوط به نشانگرهای DNA یکی از گزینه‌های مطلوب‌تر برای بهبود ژنتیکی سریع‌تر در برنامه‌های اصلاح نژاد حیوانات است. به دلیل دشوار بودن اندازه‌گیری و شناسایی صفات کمی، می‌توان از نشانگرهای مولکولی مانند QTL بهره برد (۵). بنابراین، شناسایی نشانگرهای مولکولی، مرتبط با ژن‌ها یا جایگاه صفات کمی (QTL) مؤثر بر صفات مهم حیوانات مزرعه، دقت و صحت انتخاب



IBC2022-202206-923

را افزایش می‌دهد (۶). در واقع QTL یک جایگاه صفات کمی در ژنوم است که بررسی موقعیت آن می‌تواند به درک بهتر ارتباط بین ژنوم و فنوتیپ کمک کند (۵).

بنابراین، تشخیص چندشکلی ژن‌های کاندید یا نشانگرهای ژنتیکی مولکولی می‌تواند به‌عنوان یک پارامتر ارزشمند برای مطالعات جمعیتی برای درک تفاوت‌های ژنتیکی و ایجاد انتخاب به کمک نشانگر در نظر گرفته شود (۱).

روش‌های بیوانفورماتیکی یکی از راه‌های شناخت و درک ارتباط بین ژن‌ها و پتانسیل صفات است. در واقع بیوانفورماتیک یک دانش بین‌رشته‌ای است که شامل روش‌ها و نرم‌افزارهایی برای فهم اطلاعات زیستی می‌شود.

هستی‌شناسی ژنی یکی از ابزارهای مهم بیوانفورماتیک است و به توصیف همه‌جانبه‌ی ژن‌ها می‌پردازد؛ و شامل سه حوزه اصلی بیولوژیکی، چون عملکرد مولکولی، فرآیند بیولوژیکی و اجزای سلولی می‌شود (۸). بنابراین، با توجه به کمبود اطلاعات در رابطه با صفات مربوط به ژن‌ها در گونه گوسفند و توانایی بررسی این ارتباط از طریق مارکرهای مولکولی، هدف از انجام این تحقیق یافتن ژن‌های مهم اثر در صفت وزن تولد و همچنین هستی‌شناسی این ژن‌ها و بررسی مسیرهای متابولیکی مرتبط با این صفت در گونه گوسفند است.

مواد و روش

اطلاعات جامع مربوط به کلیه‌ی QTL های صفت وزن تولد گوسفند از پایگاه داده AnimalQTL (<https://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/OA/browse>) نسخه OAR_rambo2 به دست آمد همچنین اطلاعات مربوط به حاشیه‌نویسی ژنوم مرجع گوسفند نسخه 2.0 از پایگاه داده NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov) دریافت شد. در ادامه ژن‌های مرتبط با هر QTL با استفاده از پکیج‌های data.table و dplyr در محیط R به دست آمد. برای به دست آوردن ارتباط بین ژن‌های دخیل در این صفت، شبکه ژنی با استفاده از افزونه STRING در نرم‌افزار Cytoscape_v3.9.1 رسم شد. همچنین برای یافتن کلاستر و ژن‌های مهم در صفت وزن تولد از افزونه MCODE استفاده شد. در نهایت برای پیدا کردن مسیرهای متابولیکی و هستی‌شناسی ژن‌های مهم اثر نیز از افزونه ClueGO در نرم‌افزار Cytoscape استفاده شد (۹).

نتایج:

پس از بررسی QTL های مرتبط به صفت وزن تولد در سایت Animal QTLdb در مجموع ۳۷ QTL برای این صفت یافت شد؛ و تعداد ۱۴۷۴ ژن مرتبط با QTL های این صفت توسط برنامه R به دست آمد. در ادامه پس از رسم شبکه ژنی توسط افزونه STRING برای بررسی ژن‌های مهم اثر و کلاسترهای مهم از افزونه MCODE استفاده شد. در بین ۳۰ کلاستر به‌دست‌آمده، ۱۰ کلاستر دارای بالاترین اسکور بودند که شامل ۲۳۷ ژن مهم اثر می‌شدند (شکل ۱). در نهایت این ژن‌ها در افزونه ClueGO قرار گرفتند و تعداد ۲۸۸ مسیر متابولیکی به دست آمد در این بین تعداد ۵ مسیر بیشترین سهم را داشتند که شامل: مسیر زیستی RNA پلیمراز II، کاتابولیسم پروتئین سلولی، زیر واحد بزرگ ریبوزومی، تنظیم پروتئولیز در فرآیند کاتابولیک پروتئین سلولی، اتصال گیرنده فاکتور رشد می‌شدند. ژن‌های مرتبط با هر یک از این مسیرها نیز در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱. ژن‌های دخیل در پنج مسیر متابولیکی مهم

مسیر زیستی RNA پلیمراز II

CCNH, GTF2F1, GTF2H5,
POLR2E, TAF7

کاتابولیسیم پروتئین سلولی

CAMLG, CSNK1D, LDLR,
PRKACA, RACK1, RAD23A,
TMEM259, WNT1

زیر واحد بزرگ ریبوزومی

MRPL12, MRPL18, MRPL22,
MRPL34, MRPL38, MRPL4,
MRPL54, MRPL55

پروتئولیز در فرآیند کاتابولیک پروتئین
سلولی

CAMLG, CSNK1D, PRKACA,
RACK1, RAD23A, TMEM259,
WNT1

اتصال گیرنده فاکتور رشد

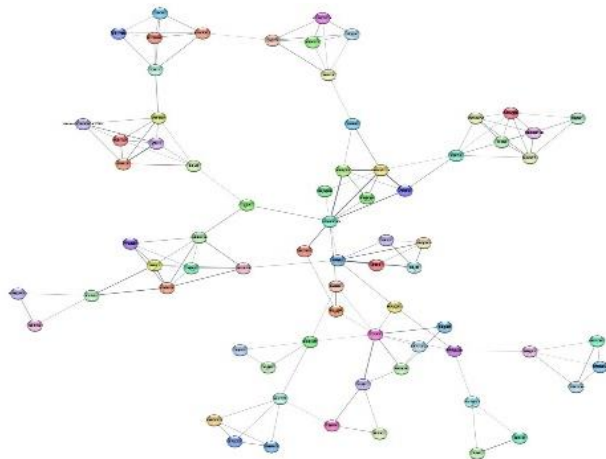
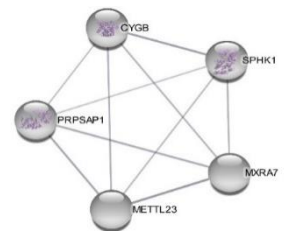
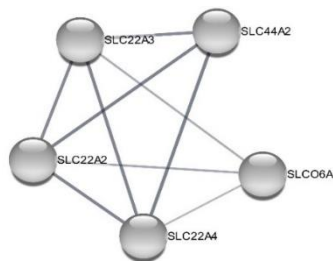
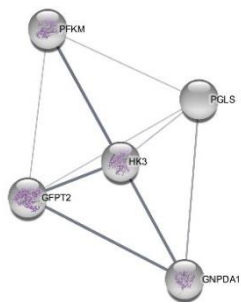
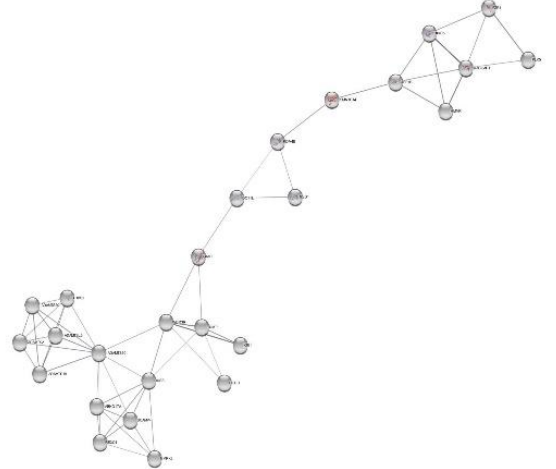
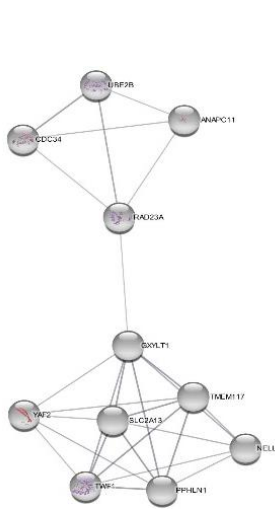
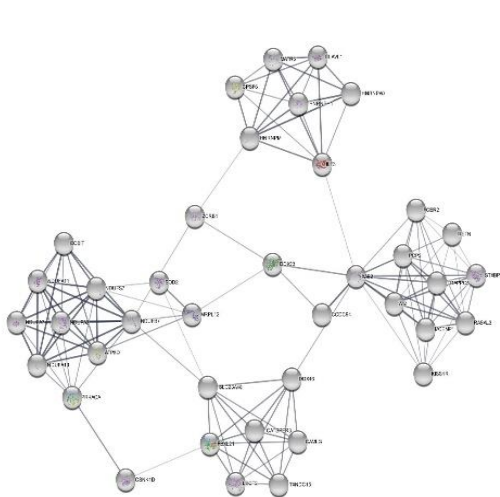
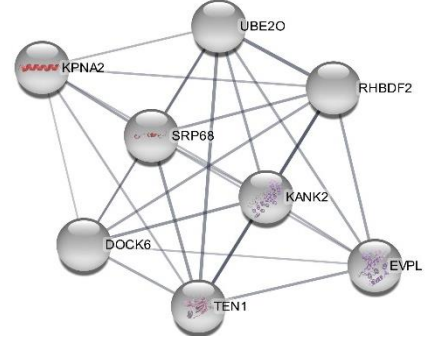
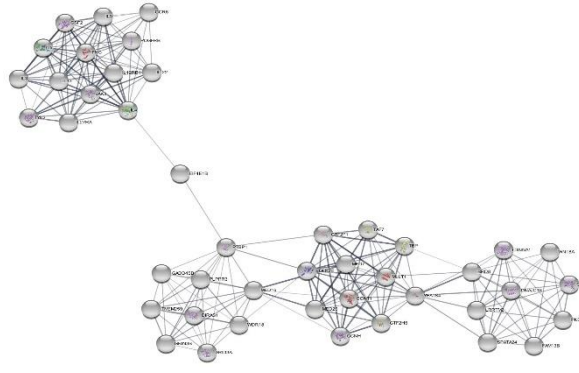
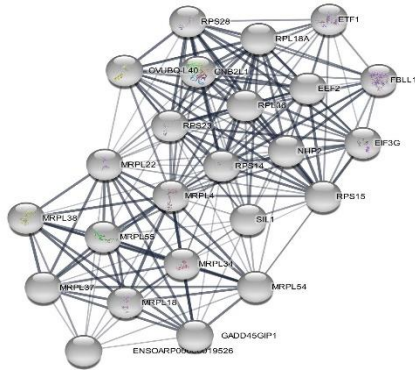
CSF2, FRS2, IL12RB1, IL3,
IL4, IL5, PDGFRB, SNX2

بحث

استفاده از روش های مربوط به نشانگرهای DNA یکی از گزینه های مطلوب برای بهبود ژنتیکی سریع تر در برنامه های اصلاح نژاد حیوانات است. در این خصوص مطالعه ای باهدف بررسی و یافتن ژن ها و مسیرهای متابولیکی مرتبط باصفت مقاومت به انگل با استفاده از نشانگر QTL صورت گرفت. در این تحقیق ۱۹۸ ژن مرتبط با این صفت و ۴ مسیر متابولیکی مهم یافت شد (۱۰). در مطالعه ای دیگر که به منظور شناسایی ژن های کاندید احتمالی یا QTL های مرتبط با وزن هنگام تولد در گوسفند نوع گوشتی انجام شده بود؛ ۳ ژن مهم بر روی کروموزوم ۱ به عنوان ژن های مؤثر در صفت وزن تولد معرفی شدند (۱۱). همچنین در طی یکی دیگر از تحقیقات انجام شده برای بررسی ژن های اصلی و مسیرهای متابولیکی مرتبط باصفت تولید مثلی از طریق بررسی QTL های شناخته شده و هستی شناسی ژن ها در گونه گوسفند، ۳۸۸ ژن و در آنالیز هستی شناسی برای این ژن ها ۳۲ مسیر بیولوژیکی یافت شد (۱۲). QTL راهی برای ارتباط بخش هایی از ژنوم با صفاتی کمی است؛ که نمایانگر اندازه گیری اکثر فنوتیپ های مهم اقتصادی در دام است (۱۳).

نتیجه گیری نهایی

نتایج بررسی QTL ها در این پژوهش نشان داد که برای صفت وزن تولد تعداد ۱۴۷۴ ژن دخیل وجود دارد که از این بین ۲۳۷ ژن جز مهم ترین ژن ها هستند. همچنین بعد از انجام هستی شناسی ژن های مهم اثر از طریق QTL های این صفت، ۲۸۸ مسیر بیولوژیکی مرتبط با این صفت شناسایی شد که ۵ مسیر بیشترین سهم را داشتند. با توجه به فقدان اطلاعات دقیق در رابطه با صفات کمی در گوسفندان این پژوهش به بررسی ژن ها و مسیرهای بیولوژیکی دخیل در صفت وزن تولد به عنوان یک عامل مهم در تولید پرداخت است.





IBC2022-202206-923

شکل ۱: ۱۰ کلاستر مهم مربوط به صفت وزن تولد

منابع

1. Aljubouri TR, Al-Shuhaib MB, Javadmanesh A. HMGA2 gene polymorphisms and their effects on main growth traits indices in Awassi and Karakul sheep. *Agriculture and Natural Resources*. 2020 Dec 30;54(6):587-94.
2. Sodiq A, Yuwono P, Santosa S. Litter size and lamb survivability of Batur sheep in upland areas of Banjarnegara Regency, Indonesia. *Animal Production*. 2011;13.
3. Hernández-Montiel W, Martínez-Núñez MA, Ramón-Ugalde JP, Román-Ponce SI, Calderón-Chagoya R, Zamora-Bustillos R. Genome-wide association study reveals candidate genes for litter size traits in pelibuey sheep. *Animals*. 2020;10(3):434.
4. Dodds K, McEwan J, Davis G. Integration of molecular and quantitative information in sheep and goat industry breeding programmes. *Small Ruminant Research*. 2007;70(1):32-41.
5. Jiang L, Liu J, Sun D, Ma P, Ding X, Yu Y, et al. Genome wide association studies for milk production traits in Chinese Holstein population. *PloS one*. 2010;5(10):e13661.
6. Dekkers JC. Commercial application of marker-and gene-assisted selection in livestock: strategies and lessons. *Journal of animal science*. 2004;82(suppl_13):E313-E28.
8. Consortium GO. The gene ontology project in 2008. *Nucleic acids research*. 36(suppl_1):D440-D4.
9. Mlecnik B, Tosolini M, Charoentong P, Kirilovsky A, Bindea G, Berger A, et al. Biomolecular network reconstruction identifies T-cell homing factors associated with survival in colorectal cancer. *Gastroenterology*. 2010;138(4):1429-40.
10. Zeraatpisheh Y, Zerehdaran S, Javadmanesh A. Investigation of metabolic pathways of genes related to the QTL of parasite resistance trait in sheep genome using gene network and gene ontology. *Veterinary Researches & Biological Products*. 2022.
11. Ghasemi M, Zamani P, Vatankhah M, Abdoli R. Genome-wide association study of birth weight in sheep. *Animal*. 2019;13(9):1797-803.
12. Zeraatpisheh Y, Javadmanesh A, Zerehdaran S. Investigation of metabolic pathways of genes related to the QTL of reproduction traits in sheep genome using gene network and gene ontology 2022.
13. Zhang L, Liu J, Zhao F, Ren H, Xu L, Lu J, et al. Genome-wide association studies for growth and meat production traits in sheep. *PloS one*. 2013;8(6):e66569.

Investigation of metabolic pathways of genes related to the QTL of birth weight trait in sheep genome using gene network and ontology

Yasaman Zeraatpisheh¹, Ali Javadmanesh^{1*} and Saeed Zerehdaran¹

1. Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

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

Sheep is one of the most important economic animals and are used as a source of meat, milk, wool and skin all over the world. In the sheep breeding industry, traits related to growth and birth weight are recognized as one of the factors affecting profitability. The aim of this study was to investigate the main genes and metabolic pathways associated with birth weight through the study of known QTLs and gene ontology in sheep species. After receiving the list of QTLs related to this trait in sheep through AnimalQTL database and sheep genome annotation version 2.0 was received from NCBI database and then the genes related to each QTL were obtained through programming in R environment. In order to find the relationship between the obtained genes, a gene network for this trait was mapped using the STRING plugin in Cytoscape_v3.9.1 software. Then, the MCODE plugin was used to identify important genes, and finally,



IBC2022-202206-923

the ontology of important genes in birth weight was examined through the ClueGO plugin in Cytoscape software. The results of this study showed that there were a total of 37 QTLs for the trait of body weight at birth, which contained 1474 genes, of which 237 genes were more closely related to other genes. Ontological analysis of these important genes showed that the major biological pathways in sheep birth weight were RNA polymerase II pathway, cellular protein catabolism, large ribosomal subunit, regulation of proteolysis in the cellular catabolic process, and growth factor receptor binding.

Keywords: Sheep, Quantitative trait locus, Gene ontology, Molecular marker