دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشهای تولیدات دامی

"مقاله پژوهشی"

واکاوی ترانسکریپتوم بافت پستانی جهت شناسایی ژن‌های عمده اثر در فرآیند تولید شیر

سعیده اسکندری نسب[۱]، زهرا رودباری[۲] و محمدرضا محمدآبادی[۳]

۱- دانشجوی دکتری گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران
۲- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جیرفت، جیرفت، ایران، (نویسنده مسوول: roudbari.zahra@ujiroft.ac.ir)
۳- استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران
تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۱/۰۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۲/۱۲
صفحه: ۱۶۰ تا ۱۶۶

چکیده

تولید شیر یکی از مهم ترین صفات اقتصادی در صنعت پرورش گاو شیری است که توسط تعداد زیادی ژن کنترل می‌شود و تابعی از فعالیت سلول‌های اپیتلیال می‌باشد که تحت تأثیر چندین مسیر بیولوژیکی و اثر متقابل ژن‌های مختلف و بیان ژن‌ها می‌باشند. بیان ژن فرایندی است که در آن از اطلاعات درون ژن استفاده می‌شود تا یک محصول کاربردی از آن به دست آید، همچنین یکی از مسائل بنیادی است که کمک می‌کند تا ژنوتیپ به صورت فنوتیپ ظاهر شود. هدف از این مطالعه شناسایی ژن‌های مؤثر بر تولید شیر و رسم شبکه ژنی ژن‌های مورد مطالعه جهت شناسایی ژن‌های عمده اثر برای فهم بهتر مکانیسم تولید شیر با استفاده از بررسی الگوی بیان ژن طی بررسی‌های بیوانفورماتیکی می‌باشد. در این مطالعه به منظور شناسایی ژن‌ها با بیان متفاوت در بافت پستان گاو شیری، داده‌های بیان ژن مربوط به بافت پستانی با شماره دسترسی GSE33680 از بخش GEO بانک اطلاعاتی NCBI استخراج گردید. بررسی کیفیت داده‌ها با استفاده از بسته Limma موجود در نرم‌افزار R و با استفاده از روش تحلیل مؤلفه‌های اساسی انجام شد. به منظور بررسی عملکرد ژن‌ها با بیان متفاوت از نرم‌افزار DAVID استفاده شد. پس از شناسایی ژن‌های هدف به پایگاه داده‌ای STRING ارائه شدند، جهت تبین نقش ژن‌ها از نرم‌افزار Cytoscape استفاده شد. در این مطالعه نتایج تجزیه تفاوت بیان ژن‌ها منجر به شناسایی ۱۴۰۲۰ ژن شد که بر اساس آماره Fold change و adj p-Value تعداد ۴۰۹ ژن افزایش بیان و ۳۲۶ ژن کاهش بیان داشتند. از جمله مسیرهای بیولوژیکی شناخته شده مؤثر بر تولید شیر NF-KB signaling, Glycerolipid metabolism, EGFR1, IL6, B cell receptor می‌باشند. مهم‌ترین ژن‌ها براساس درجه ارتباط با ژن‌های دیگر و مرکزیت درونی و بیرونی ژن‌های MYC، KRAS، HSPA8، ATP5B، SRC، JAK1 و FOXA2 می‌باشند که نقش آن‌ها در تنظیم تولید شیر در گزارشات متعددی به اثبات رسیده است.

واژه‌های کلیدی: پروفایل بیانی، تولید شیر، ژن‌های کاندیدا، شبکه ژنی

مقدمه

انتخاب ژنتیکی دام‌ها به منظور بهبود عملکرد صفات اقتصادی امری زمان‌بر است و راهکار مناسب برای بهبود این صفات، جستجوی ژن‌هایی است که به طور مستقیم یا غیر مستقیم بر روی صفات تاثیر دارند تا بتوان از اطلاعات ژنومی در کنار رکوردهای فنوتیپی برای براورد دقیق ارزش‌های اصلاحی استفاده نمود (۲۳). هدف از بهبود ژنتیکی دام‌های اهلی، افزایش سطح ژنتیکی صفات مورد علاقه در جامعه از طریق اصول ژنتیکی است (۱۱)، همچنین هدف اصلی از افزایش تولید، افزایش سرمایه و سود حاصل از فروش محصولات و درآمد ناخالص بیشتر در کارهای تولیدی می‌باشد و گاوداری از این امر مستثنی نمی‌باشد (۱۱). یکی از صفات تولیدی صفت تولید شیر است که در صنعت پرورش گاو شیری مورد توجه قرار گرفته است. این صفت یک صفت کمی می‌باشد که توسط ژن‌های زیادی کنترل می‌شوند. با وجود اینکه علم ژنتیک کمی با بهره‌گیری از علوم مختلفی همچون ریاضیات، آمار، ژنتیک، کامپیوتر، اقتصاد در طی دوران متوالی در دهه‌های اخیر پیشرفت‌های زیادی در زمینه اصلاح نژاد دام آفریده است، با این حال استفاده از روشهائی که بتواند منجر به افزایش صحت و بازده انتخاب گردد، همواره مورد توجه بوده است (۸). شیر از دیرباز به عنوان غذایی کامل و تأمین‌کننده بخشی از نیازهای تغذیه‌ای روزانه انسان مورد توجه بوده و دارای ترکیبات مهمی هستند که در صنایع فرآوری شیر و تکنولوژی تولید محصولات شیری اهمیت به سزایی دارند (۳). مصرف شیر و فراورده‌های آن به ویژه فراورده‌های تخمیری، منجر به افزایش طول عمر، افزایش بازده جسمی و فکری، کاهش بیماری‌های عفونی، بیماری‌های استخوانی و رشد مطلوب کودکان و نوجوانان می‌شود (۲۶). شیر گاو ماده اساسی محصولات لبنی است و به عنوان منبع خوب کلسیم شناخته شده است و اغلب به علت نقشی که در استحکام و تراکم استخوان‌ها دارد، مورد توجه است (۳۲). شیر گاو ترکیبی از چربی‌ها، پروتئین‌ها، ویتامین‌ها، مواد معدنی و هورمون‌هاست که همگی توسط فرآیند تکاملی طبیعت به گونه‌ای تناسب بندی شده‌اند که یک گوساله را در طول چند ماه به وزن چند صد کیلو برساند، بنابراین دور از انتظار نیست که مصرف شیر برای انسان مزایایی به همراه داشته باشد (۱۳). یکی از ابزارهای مورد استفاده در مطالعه‌ی عوامل ژنتیکی مؤثر بر صفات اقتصادی، شناسایی ژن‌های موثر بر آن‌هاست که به عنوان مارکرهای مولکولی در اصلاح نژاد اهمیت ویژه‌ای دارند (۲۰). بیان ژن همچنین فرایندی است که در آن از اطلاعات درون ژن استفاده می‌شود تا یک محصول کاربردی از آن به دست آید. ساز و کار بیان ژن

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-11-14]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1400.12.32.17.0]
[DOI: 10.52547/rap.12.32.160]

اولین بار در باکتری Ecoli کشف شد. مقدار محصولات ژن که در همان بافت و نیز در سایر بافت‌هایی که آن محصول را می‌سازند، ساخته شده سبب تنظیم بیان آن ژن می‌شود (۱۹). بیان ژن یکی از زمینه‌های اصلی برای بررسی عملکرد ژنومی هست که شامل جریان اطلاعات ژنتیکی از DNAی ژنومی و در نهایت تولید پروتئین عملکردی است و میزان فعالیت ژن‌های متعدد را به طور هم‌زمان برای ایجاد تصویری جامع از عملکرد سلول را نشان می‌دهد (۱۰). تنظیم بیان ژن به سلول این امکان را می‌دهد تا بتواند ساختار و کاربرد خود را کنترل کند و همچنین یکی از مسائل بنیادی است که کمک می‌کند تا ژنوتیپ به صورت فنوتیپ ظاهر شود. در واقع کدهای ژنتیکی که در رشته‌های DNA ذخیره شده‌اند به وسیله بیان ژن تفسیر می‌شوند و خصوصیات و نحوه بیان ژن، باعث به وجود آمدن فنوتیپ خاص در موجودات زنده خواهد شد (۱۰). اغلب آزمایش‌های پروفایل بیان ژن براساس اندازه‌گیری مقدار نسبی mRNA در شرایط محیطی متفاوت می‌باشد که این کار به دلیل تغییر توالی mRNA می‌باشد، این تغییر باعث کد کردن پروتئین مربوطه شده که نشان دهنده یک پاسخ هموستاتیکی می‌باشد (۷). شبکه‌های ژنی یکی از مهم‌ترین ابزارهای بیوانفورماتیکی در شناسایی ژن‌های کنترل‌کننده صفات و مسیرهای بیولوژیکی می‌باشند. در این شبکه‌ها به کمک الگوریتم‌های مختلفی روابط بین ژن‌ها بررسی می‌شود و به این ترتیب می‌توان ژن‌هایی که در بالا دست سایر ژن‌ها قرار دارند و بیان آن‌ها را کنترل می‌کنند و یا تحت تأثیر قرار می‌دهند، را جستجو کرد (۳۱). هدف از این مطالعه شناسایی ژن‌های مؤثر بر تولید شیر و رسم شبکه ژنی ژن‌های مورد مطالعه جهت شناسایی ژن‌های هاب[1] برای فهم بهتر مکانیسم تولید شیر با استفاده از بررسی الگوی بیان ژن طی بررسی‌های بیوانفورماتیکی می‌باشد. به این ترتیب در این مطالعه با توجه به اهمیت تولید شیر به بحث و بررسی این مقوله پرداخته می‌شود.

مواد و روش‌ها

در مطالعه حاضر به منظور شناسایی ژن‌ها با بیان متفاوت در بافت پستان گاو شیری، پروفایل بیان ژن مربوط به بافت پستانی ۸ گاو شیری پرتولید و کم تولید با شماره دسترسی GSE33680 از بخش GEO بانک اطلاعاتی NCBI با فرمت TXT استخراج گردید. بیان ژن‌ها با استفاده از پلت فرم GPL11648 Agilent-023647 B. Taurus (Bovine) Oligo Microarray اندازه‌گیری شده بودند. در جدول ۱ شماره دسترسی نمونه استفاده شده در مطالعه حاضر آورده شده است.

جدول ۱- شماره دسترسی نمونه بافت پستانی

Table 1. Breast tissue sample access number

نوع دام	شماره دسترسی
گاو شیری کم تولید	GSM832716
گاو شیری پر تولید	GSM832717
گاو شیری کم تولید	GSM832718
گاو شیری پر تولید	GSM832719
گاو شیری کم تولید	GSM832720
گاو شیری پر تولید	GSM832721
گاو شیری کم تولید	GSM832722
گاو شیری پر تولید	GSM832723

قبل از آنالیز بیان ژن‌ها کیفیت داده‌ها باید بررسی شود و برای این کنترل کیفیت داده‌ها با استفاده از بسته آماری Limma موجود در نرم‌افزار R و با استفاده از روش تحلیل مؤلفه‌های اساسی (PCA=Principle Component Analysis) انجام شد. تحلیل مؤلفه‌های اساسی روشی برای استخراج مؤلفه‌های اساسی از مجموعه بزرگی متغیرهای موجود در یک مجموعه داده است. ریزآرایه‌ها به طور معمول مجموعه‌ی شناساگری دارند که یک ژن را معرفی می‌کنند. در بسیاری از مطالعات از گرفتن میانگین اعداد بیان ژن و یا از بزرگترین عدد بیان به عنوان شاخص بیان آن مجموعه شناساگر استفاده می‌شود که معیارهای دقیقی برای انتخاب عدد بیان نیستند (۸). در مطالعه حاضر از بین شناساگرهای مختلف معرفی کننده‌ی یک شناسه‌ی ژن، شناساگری با بزرگترین و کوچکترین عدد در محدوده‌ی چارکی (IQR) به عنوان عدد بیان آن ژن انتخاب شد. به منظور کاهش خطا ژن‌هایی که بیان متوسطی داشتند حذف گردیدند. در ادامه ژن‌ها با افزایش بیان و کاهش بیان براساس پارامترهای (1< fold Chang >1-) و (Adj P-Value < 0.05) انتخاب شدند. ژن‌هایی که پس از تحلیل به صورت معنی‌داری تفاوت بیان داشتند، وارد پایگاه داده‌ای آنلاین DAVID شدند تا با طبقه‌بندی گروه‌های هستی‌شناسی ژن بتوان دید جامع‌تری از ژنومیکس عملکردی آن‌ها به دست آورد. این پایگاه با اتصال به پایگاه‌های دیگر مانند GO ، KEGG، Wikipathway به بررسی عملکردی و مسیرهای متابولیکی ژن‌های معنی‌دار می‌پردازد (۱۱). پس از شناسایی ژن‌های هدف ژن‌ها به پایگاه داده‌ای STRING ارائه شدند و با هدف دست‌یابی به آماره‌های شبکه و مصور سازی شبکه و تبیین نقش ژن‌ها در شبکه ژنی، خروجی STRING به نرم‌افزار Cytoscape ارائه شد و پس از آنالیز شبکه و مشخص شدن آماره‌های شبکه از نوار ابزار APP گزینه CYTONCA شبکه براساس درجه ارزش ژن و مرکزیت بینابینی ویرایش شد. به این ترتیب از نظر ارزش، گره‌های بزرگ نشان‌دهنده ژن‌هایی هستند که درجه کنترل کنندگی بیشتری در شبکه دارند و از نظر مرکزیت بینابینی

1- Hub Gene

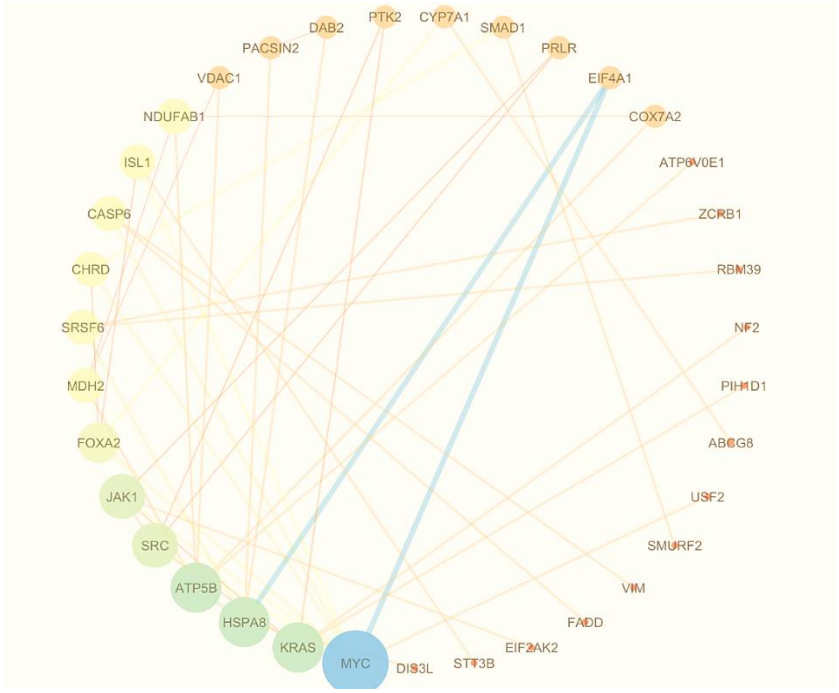
[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-11-14]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1400.12.32.17.0]
[DOI: 10.52547/rap.12.32.160]

گره‌های با رنگ روشن‌تر نشان‌دهنده‌ی تأثیر کمتر آن‌ها بر سایر ژن‌ها می‌باشد.

نتایج و بحث

برای افزایش تولید شیر، علاوه بر روش‌های نوین مدیریت، بهداشت و تغذیه، استفاده از روش‌های علمی اصلاح نژاد به همراه تکنیک‌های ملکولی نیز ضروری می‌باشد. هدف اصلی اصلاح نژاد گاو شیری افزایش توانایی و همچنین راندمان تولید در حیوانات گله از طریق پیشرفت ژنتیکی برای صفات مهم اقتصادی است (۱۴). صفت تولید شیر و ترکیبات آن در دام‌های شیری به وسیله تعداد زیادی ژن که اثر برخی از آن‌ها زیاد و اثر برخی دیگر کم می‌باشد، کنترل می‌شود. اگر چه تعداد ژن‌های مؤثر بر تولید شیر نامشخص است، اما تعدادی ژن عمده اثر بر روی این صفات شناسائی شده است (۲۱). مطالعه روی ژن‌های مؤثر در فرایندتولید شیر می‌تواند گامی مهم جهت توسعه انتخاب به کمک نشانگر و تدوین برنامه‌های اصلاح‌نژادی برای بهبود این صفت در صنعت تولید شیر به شمار آید (۶،۵). در مطالعه حاضر برای درک بهتر شبکه تنظیمی درگیر در تولید شیر ابتدا ژن‌هایی با بیان متفاوت در هشت نمونه بافت پستانی گاو شیری استخراج گردید داده‌های حاصل شده داده‌های خام می‌باشند، بنابراین در مرحله اول با روش مؤلفه‌های اساسی (PCA) کیفیت داده‌ها کنترل شد در این روش برای کاهش متغیرها نسبت به متغیرهای اساسی به کار می‌رود. نتایج آنالیز تفاوت بیان ژن‌ها منجر به شناسایی ۱۴۰۲۰ ژن شد که بر اساس آماره Fold change و adjp-Value تعداد ۴۰۹ ژن افزایش بیان و ۳۲۶ ژن کاهش بیان داشتند. ژن‌های شناسایی شده به نرم‌افزار DAVID معرفی شدند و سپس ژن‌هایی که بیشترین نقش بر روی تولید و ترکیب شیر داشتند براساس نتایج نرم‌افزار DAVID در بخش مسیرهای بیولوژیکی وگروه‌های هستی شناسی شناسایی شدند. جهت ترسیم شبکه ژن های شناسایی شده به پایگاه داده‌ای STRING ارائه شدند و در نهایت برای مصور سازی شبکه ترسیم شده وارد نرم‌افزار Cytoscape شد. نتایج David منجر به شناسایی مسیرهای بیولوژیکی مؤثر بر تولید شیر تحت عنوان IL6، EGFR1، B cell receptor، NF-KB signaling و Glycerolipid metabolism شد. مسیر سیگنالدهی B cell receptor لنفوسیت B از سیستم ایمنی بدن هستند که نقش اصلی آن تولید پادتن علیه آنتی ژن‌ها می‌باشد و برای رشد مناسب B، فعال‌سازی، تکثیر، تمایز و پاسخ ایمنی هومورال بسیار مهم است (۲۴). یک مسیر بیولوژیکی مرتبط با تولید شیر مسیر IL6 می‌باشد، از مهم‌ترین اینترلوکین‌های بدن است که از گلبول‌های سفید ترشح می‌شود و در ایمنی و تولید پادتن‌ها و تولید شیر نقش مهمی دارد و میزان بیان آن در اواخر دوره شیردهی بیشتر است اینترلوکین۶ در افزایش کربوهیدرات و پروتئین‌های شیر نقش مهمی دارد (۱۸). مسیر دیگرمعنی‌دار مرتبط با تولید شیر را می‌توان Glycerolipid metabolism نام برد که در مطالعات قبلی ارتباط معنی‌داری با صفات مرتبط با تولید شیر در نژادهای مختلف گوسفندان شیری داشته است (۹). از دیگرمسیرهای زیستی مهم و معنی‌دار شده, مسیر EGFR1 می‌باشد که نقش یک گیرنده برای فاکتور رشد اپیدرمی با لیگاند خارج سلولی عمل می‌کند این پروتئین نوعی تیروزین کیناز است که که در رشد و متابولیسم سلول‌های غدد پستان نقش زیادی دارد (۲۲). NF-KB signaling یک مسیر بسیار مهم در تولید شیر است که طبق آزمایش Wu و همکاران در سال ۲۰۱۵ انجام دادند، نشان داده شده که ۷۰ ژن روی سیگنالدهی این مسیر تأثیر دارند (۲۹). همچنین، این مسیر در فعال‌سازی مسیر MAPK هم مؤثر است که یکی از مسیرهای خیلی مهم در تولید شیر است (۴). مسیر MAPK یکی از کلیدی‌ترین تنظیم کننده‌های تمایز سلول‌های اپیتلیال پستان است. این مسیر سیگنالدهی بر تکثیر سلول‌های آلوئل تأثیرگذار می‌باشد و افزایش انشعابات را کنترل می‌کند ودر انتها سبب افزایش ترشح و تولید شیر می‌شود(۲۵). تولید شیر یکی از فرایندهای بیولوژیکی است که ژن‌های زیادی روی آن تأثیر می‌گذارند این ژن‌ها شامل ژن‌های کد کننده مولکول‌های مؤثر بر مسیرهای سیگنالدهی برون سلولی که در انتقال اطلاعات دخالت دارند (۲۷). بررسی ارتباطات این ژن‌ها به کمک مطالعات شبکه‌های ژنی، کمک می‌کند تا به ژن‌های اصلی کنترل‌کننده تولید شیر نزدیک شده و ژن‌های مؤثری را شناسایی کرد که قابلیت استفاده در اصلاح نژاد دام به منظور بهبود تولید شیر به کمک روش انتخاب بر اساس ژن‌ها و یا روش انتخاب ژنومی را دارند (۲). در این مطالعه سعی شده است ژن‌های مؤثر بر تولید شیر مورد بررسی قرار گیرد و پس از شناسایی ژن‌های کنترل کننده، این ژن‌ها به عنوان ژن‌هایی که احتمالا نقش کلیدی‌تری در تولید شیر دارند، برای بررسی فنوتیپ مورد مطالعه قرار گیرند. در شکل ۱ شبکه ژن‌های مورد مطالعه آورده شده است. روش‌های اصلی و برنامه‌های کاربردی در آنالیز شبکه به سه موضوع اصلی جهت تفسیر فنوتیپ‌های پیچیده می‌پردازند. نخستین جنبه، شناسایی اهمیت هر گره در شبکه است که مهمترین ژن‌های شبکه و همچنین کم اهمیت‌ترین ژن‌ها تعیین می‌شود. جنبه دیگر، شناسایی ژن‌های کلیدی‌تر در کل شبکه است که با اندازه‌گیری ارتباطات مستقیم یک ژن با سایر ژن‌ها و توجه به کل ارتباطات شبکه بدست می‌آید. برخی از پارامترها کمک می‌کنند تا از میان تمام ژن‌های شبکه، آن‌هایی که عامل اصلی ارتباط داخل شبکه هستند شناسایی شوند. آماره‌ای به نام مرکزیت بینابینی یا میانی در شبکه برای هر گره تعریف می‌شود. این پارامتر نشان می‌دهد گره‌هایی که دارای همسایگان نیز می‌باشد دارای رتبه بالاتری است. آماره بعدی که در تشخیص ژن‌های مؤثر در شبکه به کار می‌رود مرکزیت درونی می‌باشد. این پارامتر به تعداد گره‌هایی اشاره دارد که در نزدیکترین فاصله نسبت به گره مورد نظر قرار دارد و به سرعت می‌توانند با سایر گره‌ها ارتباط برقرار کنند (۱۲). نقش اکثر ژن‌های مذکور در تنظیم تولید شیر در گزاراشات متعددی به اثبات رسیده است که در ادامه به برخی از آن‌ها اشاره شده است.

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-11-14]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1400.12.32.17.0]
[DOI: 10.52547/rap.12.32.160]



شکل ۱- آنالیز شبکه ژنی بازسازی شده توسط ژن‌های مؤثر بر فرآیند تولید شیردر نرم‌افزار Cytoscape که اندازه گره‌ها ازبزرگ به کوچک نشان‌دهنده افزایش ارزش آن‌ها در تولید شیر می‌باشد و یال های بین گره‌ها نشان‌دهنده اثر متقابل بین ژنی می باشد.

Figure1. Analysis of gene interaction network for genes affecting in the milk production. the size of nodes from large to small indicates an increase in their value in milk production and edges between them represent the interactions between the genes.

جدول ۲- ژن‌هایی با بیشترین اثرکنترل‌کنندگی بر فرآیند بیولوژیکی تولید شیر

Table 2. Genes with the most controlling effect on the biological process of milk production

ژن‌های موثر	درجه	مرکزیت میانی	مرکزیت درونی
MYC	۹	۲۱۷۱/۲۸	۰/۷۴
KRAS	۶	۱۶۳۱/۵۶	۰/۱۴
HSPA8	۶	۷۲۵/۸۰	۰/۵۵
TP5B	۶	۴۲۴/۳۵	۰/۴۹
SRC	۵	۷۳۶/۲۴	۰/۰۵
JAK1	۵	۱۵۲/۰۸۲	۰/۰۸
FOXA2	۴	۳۶۴/۱۲۲	۰/۱۱

یکی از اقداماتی مرتبط با صفت مورد نظر مطالعه ژن‌ها و پروتئین‌های مرتبط با صفت اقتصادی و مطالعه آن‌ها در سطح سلولی و کروموزومی است. در پژوهش کنونی، بررسی بیشتر ژن‌های دارای اثر تنظیم شوندگی بالاتر و معنی‌دار در مسیر تولید شیر منجر به شناسایی ۷ ژن تاثیرگذار بر فرآیند بیولوژیکی تولید شیر شد که بصورت مختصر مورد بحث قرار گرفته‌اند. اولین ژن مطرح در شبکه ژن *MYC* با درجه پیوند ۹ می‌باشد که در مسیرهای سیگنالدهی استروژن و *NF-KB* فعال است این مسیرها در رشد و نمو غده پستان مؤثرند نقش دارد. *MYC* به عنوان یک فعال کننده رونویسی RNA پلیمراز II برای مجموعه بزرگی از ژن‌های هدف عمل می‌کند و از این طریق بر چرخه سلول، رشد سلول، متابولیسم، مرگ سلولی، چسبندگی سلول و سایر عملکردهای سلول تأثیر می‌گذارد با توجه به تأثیری که بر روی مسیرهای سیگنالدهی، هورمون‌ها و موارد دیگر که اشاره شد به احتمال زیاد *MYC* نقش مهمی در رشد غده پستان دارد (۲۸). ژن *KRAS* با درجه پیوند ۶ بعنوان یک GTPase معروف است و در سیگنالینگ سلولی و تکثیر سلول‌های اپیتلیال نقش دارد (۱۵). ژن دیگری که نتایج این تحقیق به مؤثر بودن آن در تولید شیر اشاره دارد، ژن *HSPA8* است که طبق آزمایشی که Li و همکاران در سال ۲۰۱۶ جهت شناسایی مهم‌ترین ژن‌های پروتئین شیر گاو هلشتاین انجام دادند، نشان داده‌اند که ژن *HSPA8* یکی از ژن‌های مهم شناخته شده مؤثر بر پروتئین شیر می‌باشد (۱۶). ژن *Src* با درجه پیوند ۵ به عنوان یکی از ژن‌های مهم تأثیرگذار بر صفت تولید شیر می‌باشد که این ژن گیرنده پرولاکتین می‌باشد که یک ژن مهم در تولید و ترکیب شیر می‌باشد. همچنین در رشد سلول‌های آلوئل، تنظیم رونویسی، بیان بتا کازئین که یک ژن اساسی در تولید شیر می‌باشد و ترجمه ژن‌های شیر نقش دارد (۱۷). این ژن بر روی تولید شیر نقش مهمی دارد در آزمایشی که Liu و

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-11-14]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1400.12.32.17.0]
[DOI: 10.52547/rap.12.32.160]

همکاران انجام دادند مشخص کردند که حذف این ژن از موش‌های ماده منجر به نارسایی تولید شیر می‌شود (۱۷). ژن *JAK1* با درجه پیوند ۵ تنظیم کننده اصلی تکثیر سلول‌های آلوئل و تمایز سلول‌های غدد پستانی می‌باشد (۱). ژن دیگری که در شبکه بیانی جزء ژن‌های اصلی قرار گرفت و آخرین ژن مطرح ژن *FOXA2* با درجه پیوند ۴ می‌باشد که در سنتز چربی شیر نقش مهمی دارد (۳۰).

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به اهمیت بیان و عملکرد ژن‌های مؤثر بر تولید شیر که در بسیاری از مطالعات دیگر هم نقش آن‌ها بر تولید شیر مشخص شده است و همچنین میزان عملکرد و بیان ژن‌ها در مطالعه حاضر، خصوصا ژن‌های *MYC*، *KRAS*، *HSPA8*، *ATP5B*، *SRC*، *JAK1* و *FOXA2* که طی آنالیزهای بیوانفورماتیکی به اهمیت تنظیمی و میزان ارتباط آن‌ها در شبکه ژنی به دست آمده در این پژوهش پی برده شد، می‌توان نتیجه گرفت این ژن‌ها در فرایند تولید شیر نقش دارند و می‌توان در برنامه اصلاح نژادی از این ژن‌ها جهت افزایش تولید شیر استفاده کرد و در جهت بهبود صفت مورد نظر میزان بیان آنها را با روش‌های مناسب سلولی و مولکولی و یا با استفاده از روش‌های اپی ژنتیک تنظیم نمود.

منابع

1. Arun, S.J., P.A. Thomson, M.S. Khatkar, H.W. Raadsma and P. Williamson. 2015. Targeted analysis reveals an important role of JAK-STAT-SOCS genes for milk production traits in Australian dairy cattle. Frontiers In Genetics, 6: 342-354.
2. Bao, Z., J. Lin, L. Ye, Q. Zhang, J. Chen, Q. Yang and Q. Yu. 2016. Modulation of mammary gland development and milk production by growth hormone expression in GH transgenic goat. Frontiers in Physiology, 7: 74-79.
3. Bionaz, M. and J.J. Loor. 2008. Gene networks driving bovine milk fat synthesis during the lactation cycle. BioMedCentral Genomics, 9(1): 366.
4. Biranvad, Z., M. Ghaderi-Zefrehei, S.Z. Mirhoseini, S.H. Hosseinimoghaddam and A. Fazeli. 2019. Bioinformatics study of the role of microRNAs bta-mir-146a, bta-mir 21-5p, bta-mir-181 and bta-mir-16a in the cellular signaling pathways of mastitis in dairy cows. Agricultural Biotechnology Journal, 11(1): 1-24.
5. Buitenhuis, A., U. Sundekilde, N. Poulsen, H. Bertram, L. Larsen, P .Sørensen. 2013. Estimation of genetic parameters and detection of quantitative trait loci for metabolites in Danish Holstein milk. Journal of Dairy Science, 96(5): 3285-95.
6. Dehghanzadeh, H., S.Z. Mirhoseini, M. Ghaderi-Zefrehei, H. Tavakoli and S. Esmaeilkhaniyan. 2019. Clustering of a Number of Genes Affecting in Milk Production using Information Theory and Mutual Information. Research On Animal Production (Scientific and Research), 10(23): 117-132.
7. Gao, Y., X. Line, K. Shin, Z. Yan and Z. Wang. 2013. Bovine mammary gene expression profiling during the onset of lactation. Plost One, 8(8): e700393.
8. Gentleman, R., V. Carey, W. Huber, R. Irizarry and S. Dudoit. 2006. Bioinformatics and computational biology solutions using Rand Bioconductor. Stat Papers, 50: 453-454
9. Gerlando, R., A.M. Sutera, S. Mastrangelo, M. Tolone, B. Portolano, G. Sottile, A. Bagnato and M.T. Strillacci. 2019. Genome-wide association study between CNVs and milk production traits in valle del Belice sheep. PLoS ONE, 14: e0215204.
10. Gottesfeld, J.M. and C.F. Barbas. 2003. RNA as a transcriptional Activator. Chemistry and Biology, 10(7): 584-595.
11. Goujon, M., H. Mcwilliam, W. Li, F. Valentin, S. Squizzato, J. Peam and R. Lopez. 2010. A new bioinformatics analysis tools framework at EMBL-EBI. Nucleic acids Research, 38(2): 695-699.
12. Huang, D.W. and R.A. Sherman. 2009. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources. Nature Protocols, 4: 44-57.
13. Kharrati, K.H., M.R. Mohammdabadi, M.S. Ansari, A.K. Esmailizaeh, A. Tarang and M. Nikbakhti. 2012. Effect of DGATI variants on milk composition traits in Iranian Holstein cattle population. Animal Science Paper and Report, 30(3): 231-239.
14. Kamel, K., S.H. Hafezian and M. Gholizadeh. 2019. Estimation of Genetic Parameters for Production and Reproduction Traits of Holstein Cows of Mazandaran Province using Bayesian Approach. Research On Animal Production (Scientific and Research), 10(25): 104-111.
15. Koyaljuk, N.V., V.F. Satsuk, A.E. Volchenko and E.V. Machulskaia. 2015. LEP gene allelic polymorphism in a subpopulation of Ayrshire cattle. Russian Journal of Genetics, 51(2): 214-217.
16. Li, C., W. Cai, C. Zhou, H. Yin, Z. Zhang, J.J. Loor and S. Zhang. 2016. RNA-Seq reveals 10 novel promising candidate genes affecting milk protein concentration in the Chinese Holstein population. Scientific Reports, 6: 26813.
17. Liu, W., J. Wang, Q. Li, Z. Ju, J. Huang, H. Wang and C. Wang. 2010. Correlation analysis between three novel SNPs of the Src gene in bovine and milk production traits. Molecular Reports, 37(8): 3771-3777.

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-11-14]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1400.12.32.17.0]
[DOI: 10.52547/rap.12.32.160]

18. Miles, M., S.D. Pearson, J.M. Andring, J.R. Kidd and S.L. Volpe. 2007. Effect of carbohydrate intake during recovery from eccentric exercise on interleukin-6 and muscle damage markers. Internation Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism, 17(6): 507-520.
19. Mohammadabadi, M.R. and F. Tohidinejad. 2017. Charachteristics determination of Rhrb gene and protein in Raini Cashmere. Iranian Journal of Applied Animal Science, 7(2): 289-295.
20. Molinelli, E.J., W. Korkut, M.L. Wang, N.P. Miller and X. Gauthier. 2013. Perturbation biology inferring signaling networks in cellular systems PLoS Computational Biology, 9(12): 1003-1017.
21. Ogorevc, J.T. Kunej, A. Razpet and P. Dovc. 2009. Database of cattle candidate genes and genetic markers for milk production and mastitis. Animal Genetics, 40: 832-851.
22. Osinska, E., Z. Wicik, M.M. Godlewski, K. Pawlowski, A. Majewska and J. Mucha. 2014. Comparison of stem /progenitor cell number and transcriptomic profile in the mammary tissue of dairy and beef breed heifers. Journal of Applied Genetics, 55(3): 383-395.
23. Pimental, G., S. Bauersachs, M. Tietze, H. Simianer, G. Thaller, F. Reinhardt, E. Wolf and S. Konig. 2011. Exploration of relationships between production and fertility traits in dairy cattle via association studies of SNPs within candidate genes derived by expression profiling. Animal Genetics, 42(3): 251-262.
24. Sanchez, L., M. Calvo and J.H. Brock. 1992. Biological role of lactoferrin. Archive of Disease in Childhood, 67(5): 657-670.
25. Skandarynasab, S., Z. Roudbari and M.R. Bahreini Behzadi. 2019 Analysis of the expression profile of microRNA in cattle Mammary gland to identify the biological pathways involved in the milk production. Veterinary Researches and Biological Products, 128: 49-58 (In Persian).
26. Sundekilde, U.K., L.B. Larsen and H.C. Bertram. 2013. NMR-Based milk metabolomics. Metabolites, 3: 204-222.
27. Tohidi, F., M.R. Mohammadabadi, A.K. Esmailizadeh and A. Najminoori. 2015. Comparison of different levels of rheb gene expression in different tissues of Raini Cashmir goat. Agric Biotechnology Journal, 16: 35-50.
28. Wilmut, I., A.L. Archibald, M. McClenaghan, Simons, J.P.C.B. A. Whitelaw and A.J. Clark. 1991. Production of pharmaceutical proteins in milk. Experientia, 47(9): 905-912.
29. Wu, J., L. Li, Y. Sun, S. Huang, J. Tang, P. Yu and G. Wang. 2015. Altered molecular expression of the TLR4/NF-Kb signaling pathway in mammary tissue of Chinese Holstein cattle wwith mastitis. PloS one, 10(2): e0118458.
30. Yanting, C., Q. Yang, G.L. Ma, M. Du, J.H. Harrison and E. Block. 2018. Dose and type dependent effects of long-chain fatty acids on adipogenesis of bovine adipocytes. Journal of Dairy Science, 101(2): 1601-1615.
31. Zali, H., M. ReazeeTavirani, K. Haidarbegi and M. Shahriari noor. 2013. Network Analysis Method for Interpreting Complex Phenotypes in Biological Networks. Scientific Journal of Ilam University of Medical Science, 20(5): 225-233 (In Persian).
32. Zhang, J.L., L.S. Zan, P. Fang, G.L. Zhang and W.Q. Tian. 2008. Genetic variation of PRLR gene and association with milk performance traits in dairy cattle. Canadian Journal of Animal Science, 88(1): 33-39.

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-11-14]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1400.12.32.17.0]
[DOI: 10.52547/rap.12.32.160]

Transcriptome Analysis of Mammary Gland Tissue to Identify Major Genes Involved in the Milk Production

Saideh Eskandarynasab[1], Zahra Roudbari[2] and Mohamadreza Mohamadabadi[3]

1- PhD Student, Department of Animal Science, Zabol University, Zabol, Iran.
2- Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Jiroft, Jiroft, Iran (Corresponding author: roudbari.zahra@ujiroft.ac.ir)
3- Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Iran.
Received: 26 January, 2021 Accepted: 2 May, 2021

Abstract

Milk production is one of the most important economic traits in the dairy cattle industry, which is controlled by a large number of genes and is a function of the activity of epithelial cells that are influenced by several biological pathways and the interaction of different genes and gene expression. Gene expression is a process in which information within a gene is used to obtain a functional product. It is also one of the fundamental issues that helps the genotype to appear as a phenotype. The aim of this study was to identify the genes affecting milk production and to construct the gene interaction network of the studied genes to identify the major genes of the effect to better understand the mechanism of milk production using the gene expression pattern during bioinformatics studies. in this study, in order to identify genes with different expression in dairy cow breast tissue, gene expression data related to breast tissue with access number GSE33680 were download from the GEO section of the NCBI database. Data quality was assessed using the limma package available in R software and the basic component analysis method. DAVID software was used to evaluate the function of genes with different expression. After identifying the target genes, they were presented to STRING databases. Cytoscape software was used to explain the role of genes. In this study, the results of analysis of gene expression differences led to the identification of 14020 genes, which according to fold change and adj P-Value statistics, 409 gene increased expression and 326 genes decreased expression. Among the known biological pathways affecting milk production are NF-KB signaling, Glycerolipid metabolism, EGFR1, IL6, B cell receptor. The most important genes are based on the degree of association with other genes and the internal and external centrality of MYC, KRAS, HSPA8, ATP5B, SRC, JAK1 and FOXA2 genes, which play a role in regulating milk production in several reports.

Keywords: Candida Gene, Gene expression profile, Gene network Milk production

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-11-14]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1400.12.32.17.0]
[DOI: 10.52547/rap.12.32.160]