



"مقاله پژوهشی"

تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیکی برخی مناطق ژنومی در جمعیت گوسفندان بر پایه فراتحلیل

مهدی بایری یار^۱، سیدحسن حافظیان^۲، امیرحسین خلت آبادی فراهانی^۳، ایوب فرهادی^۳ و حسین محمدی^۴

۱- دانشجوی دکترای، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
۲- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، (نویسنده مسوول: hassanhafezian@yahoo.com)
۳- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
۴- استادیار، گروه علوم دامی، گروه مهندسی علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اراک
تاریخ ارسال: ۹۹/۰۹/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۹/۱۲/۰۲
صفحه: ۱۵۰ تا ۱۵۹

چکیده

انتخاب برای افزایش فراوانی مواتسیون‌های جدیدی که فقط در برخی از زیرجمعیت‌ها سودمند هستند باعث باقی‌گذاشتن نشانه‌هایی در سطح ژنوم می‌شود. اغلب این مناطق با ژن‌ها و QTL‌های مرتبط با صفات مهم اقتصادی در ارتباط هستند. هدف این مطالعه، شناسایی نشانه‌های انتخاب مرتبط با صفات عملکردی در تعدادی از گوسفندان جهان با استفاده از روش‌های نوین بود. برای این منظور فایل‌های تعیین ژنوتیپ با استفاده از تراشه‌های ژنومی مربوطه به ۱۵۹۱ رأس گوسفند از نژادهای مختلف جهان شامل ۵۲ نژاد از ۲۰ کشور تمام قاره‌ها و ۱۳ مطالعه انجام شده که در پایگاه‌های مختلف داده‌های ژنومی (Hapmap، Animal Genom، Zenodo، Frontiers، Dryad) ذخیره شده بودند، استفاده شد. ابتدا جهت تعیین اختلاط جمعیتی بین نژادهای مختلف از مناطق با شرایط آب و هوایی متنوع آنالیز ساختار جمعیتی یا همان لایه‌بندی جمعیتی انجام گرفت. برای شناسایی نشانه‌های انتخاب از آزمون‌های $XpEHH$ ، Rsb ، iHs ، $dapfnk$ ، Fst و در نهایت فرا تحلیل روش‌های فوق استفاده شد. جمعیت با آنالیز PCA در سه گروه جدا از یکدیگر شامل AIT: نژادهای آسیایی، ترکیه‌ای و آفریقایی، AUNZ: نژادهای استرالیایی و نیوزیلند و EU: نژادهای اروپایی قرار گرفتند. براساس آزمون فراتحلیل ۱۰ منطقه ژنگانی روی کروموزوم‌های ۲۲، ۲۰، ۱۲، ۹، ۷، ۶، ۵، ۴، ۳، ۲، شناسایی شدند. به‌طوری‌که ژن MC1R با رنگ پوست، ژن DSG2 با کیفیت و کمیت پشم و ژن AICDA با تولید ایمونوگلوبولین مرتبط هستند. تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیکی نشان داد که برخی از این مناطق ژنگانی به‌طور مستقیم و غیرمستقیم با ژن‌های مؤثر بر سازگاری با شرایط محیطی (ADAMTS9)، تولیدمثلی (GNAQ)، تنظیم ملانوسیت‌ها (KITLG)، تولید ایمونوگلوبولین (MZB1، AICDA، TNFSF13، BATF)، تمایز سلولی (TGFB1، TNFSF13)، فرایند ایمنی (ATG7، AGBL5)، پاسخ سلولی به تحریکات بیرونی (MAP3K2، NFKB1، PRKAA1)، تولید اینترفرون آلفا (DDX58)، فرایند پاسخ دفاعی (CLDN7، LDLR، FAM13B، CCL24)، هموستاز سلولی (DVL2، BAMBI)، تنظیم پروتئین کیناز فعال‌شده با میتوز (PLCE1) و تنظیم پاسخ به استرس (HSPH1، FXR2) همپوشانی دارند. تجزیه و تحلیل تطبیقی فراتحلیل نشانه‌های انتخاب بر اساس پایگاه داده‌های بیوانفورماتیکی می‌تواند مناطق ژنومی مورد انتخاب برای صفات با اهمیت اقتصادی و بیولوژیکی در گوسفند را شناسایی کند.

واژه‌های کلیدی: اختلاط جمعیتی، پویش ژنگانی، فراتحلیل، نشانه‌های انتخاب

مقدمه

بعد مشارکت بیشتری داشته باشند. بدین‌ترتیب فراوانی واریانت جهش یافته، بسته به سهم آن در افزایش شایستگی به سرعت شروع به افزایش خواهد کرد. بنابراین زمانی که یک آلل سودمند در طی زمان‌های مختلف، هدف انتخاب مثبت قرار می‌گیرد باعث ایجاد نشانه‌هایی در سطح ژنوم می‌شود که از طریق بررسی طیف فراوانی آللی و LD قابل شناسایی است (۱۵). از طرفی استفاده از نشانه‌های ژنتیکی در انتخاب و اصلاح نژاد به‌طور مهیجی پیشرفت ژنتیکی را تسریع می‌کند (۲۲) به‌طور کلی در بیشتر کشورهای جهان هدف از اصلاح نژاد گوسفند سودآوری از طریق بهبود یک یا چند صفت اقتصادی در جامعه است (۲۸). این بهبود می‌تواند از طریق انتخاب گوسفندان برتر به‌عنوان والدین نسل آینده بر اساس شایستگی ژنتیکی آنها برای صفات مورد نظر صورت گیرد. همگام با افزایش پیشرفت‌های ژنتیکی، حفظ تنوع ژنتیکی یک جمعیت برای اطمینان از پاسخ به انتخاب بلندمدت، یک وظیفه مهم برنامه‌های اصلاح نژادی است. برنامه‌های اصلاح نژادی بیشتر در جهت بهبود وضعیت

گوسفند به‌عنوان یکی از اولین دام‌های اهلی در حدود ۱۱ هزار سال پیش در ناحیه عراق و ایران امروزی برای تولید گوشت، پشم و شیر اهلی شد (۳۵). پس از اهلی‌سازی گوسفند به‌علت قدرت تطابق‌پذیری بالا با شرایط تغذیه‌ای نامناسب، مقاومت به شرایط اقلیمی مختلف و اندازه قابل مدیریت آن این گونه در یک دامنه وسیع جغرافیایی گسترده شدند به‌طوری‌که هم‌اکنون بیش از ۲۵۰۰ نژاد از این گونه در جهان ثبت شده است (۲). در حال حاضر، تولید گوشت مهمترین دلیل پرورش گوسفند در ایران است و تولیدات دیگر مانند پشم، شیر و پوست در درجات بعدی اهمیت قرار دارند (۳۴). از زمان اهلی‌شدن تا کنون نژادهای مختلف گوسفند در سراسر جهان هدف انتخاب‌های طبیعی و مصنوعی قرار گرفته‌اند که این انتخاب‌ها با ایجاد نشانه‌هایی در سطح ژنوم همراه است. چنانچه یک جهش جدید باعث افزایش شایستگی افراد حامل آن نسبت به سایر افراد جامعه شود، انتخاب باعث می‌شود افرادی که دارای شایستگی بیشتری هستند در تشکیل نسل

صفات چربی و لاشه همپوشانی دارند. علاوه بر این منظری (۱۸) کاوش ژنومی نشانه‌های انتخاب در سه نژاد گوسفند ایرانی زل، لری بختیاری (نژادهای مورد استفاده در مطالعه بالا) و بلوچی توسط دو آماره FST و XP-EHH مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاصل باعث شناسایی ۴۹ منطقه ژنومی روی کروموزوم‌های ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۷، ۸، ۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۳، ۱۵، ۱۶، ۱۸ و X شد. ژن‌های کاندیدای شناسایی‌شده در این نواحی مرتبط با توسعه سیستم اسکلتی و ذم، تولیدمثل، سیتولوژی سلولی، سیستم عصبی، سیستم ایمنی، سیستم ماهیچه‌ای و متابولیسم قند و انرژی مشخص شدند. فراتحلیل عبارت است از به‌کارگیری روش‌های آماری خاص برای ترکیب و خلاصه‌نمودن نتایج مطالعات مستقل ولی مرتبط، برای یافتن دقیق‌ترین شکل ارتباط بین متغیرهای مورد بررسی. این روش‌های آماری کمک می‌کنند تا جمع‌بندی اطلاعات از مطالعات مختلف به‌صورت عینی صورت پذیرد و نظرات شخصی تأثیری در این فرآیند نداشته باشد (۲۵). انتخاب نوع مطالعاتی که برای فراتحلیل استفاده می‌شوند اهمیت بسیاری دارد. اگرچه تمایل کلی، محدودنمودن مطالعات به تحقیقات کاملاً مشخص می‌باشد ولی در بعضی موارد، مثل وجود مشکلات در انجام مطالعات، حجم کم نمونه و مشکلات اجرایی، وارد نمودن نتایج سایر انواع مطالعات مرتبط نیز قابل قبول است (۲۹). ترکیب اطلاعات از مطالعات متعدد موجود می‌تواند قابلیت اعتماد را افزایش و همچنین نتایج را تعمیم دهد. استفاده از تکنیک‌های آماری به‌منظور ترکیب نمودن نتایج از مطالعات مستقل ولی مرتبط را فراتحلیل می‌نامند. البته اصطلاح فراتحلیل برای توصیف کل فرآیند مطالعه گفته می‌شود، نه فقط تکنیک‌های آماری استفاده شده و یک عبارت جایگزین بررسی سیستماتیک می‌باشد. فراتحلیل نسبتاً ارزان است، به‌دلیل اینکه به‌طور کلی از اطلاعات در دسترس استفاده می‌کند. با توجه به مطالب ذکر شده، هدف از پژوهش حاضر، شناسایی QTL ها و ژن‌های مؤثر بر صفات عملکردی در گوسفندان جهان با استفاده از روش‌های نوین و بر پایه فراتحلیل و تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیکی مناطق ژنومی است.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش ابتدا فایل ژنوتیپ‌های تعیین‌شده با استفاده از تراشه‌های ژنومی همراه با رکوردهای فنوتیپی مرتبط با صفات تولیدمثلی که مربوط به گونه گوسفند بوده و در پایگاه‌های مختلف داده‌های ژنومی (Frontiersin, Dryad, Animal Genome Zenodo, Hapmap) ذخیره شده بودند، استخراج شدند. ژنوتیپ نمونه‌ها با استفاده از آرایه‌های 50K-گوسفندی و با به‌کارگیری پروتکل استاندارد شرکت ایلومینا تعیین ژنوتیپ شده بودند. برای فیلتراسیون داده‌های تعیین ژنوتیپ شده از معیارهای فراوانی تعیین ژنوتیپ شده نمونه‌ها، نرخ تعیین ژنوتیپ شده نشانگرها در هر نمونه و حداقل فراوانی آلی (MAF) استفاده شد. در ابتدا نمونه‌هایی که فراوانی تعیین ژنوتیپ شده آنها کمتر از ۹۰ درصد بود، شناسایی و حذف شد. این نمونه‌ها احتمال بیشتری داشته که

تولیدی حیوانات اهلی عمل می‌کنند که توفیق این برنامه‌ها به‌مقدار تنوع ژنتیکی موجود در گله‌ها بستگی دارد. پس از اینکه در سال ۲۰۰۹ اولین تراشه SNP در گوسفند در قالب پروژه SheepHapMap طراحی شد، در پروژه گسترده‌ای در سال ۲۰۱۲ گروهی از دانشمندان جهت شناسایی نواحی تحت انتخاب مثبت در جمعیت گوسفندان سراسر جهان شامل ۷۴ نژاد مختلف، در قالب پروژه Sheep HapMap مورد تجزیه و تحلیل قرار دادند (۱۶). نتایج پویش ژنومی سیگنال‌های انتخاب، ۳۱ ناحیه مرتبط با رنگ پوست، مورفولوژی استخوان، اندازه بدن، رشد و تولید مثل را آشکار نمود. همچنین شناسایی مناطق ژنومی در نژادهای مختلف چینی با حدود ۵۴۰۰۰ نشانگر SNP و بررسی تمایز جمعیتی با استفاده از روش XP-EHH نشان داد که چندین منطقه ژنومی بر روی کروموزوم‌های ۱، ۳، ۵، ۷، ۱۲، ۱۹، ۲۰ و ۲۳ دارای شواهدی از انتخاب می‌باشند. بررسی QTL‌های گزارش‌شده در مناطق کاندیدا نیز حاکی از آن بود که این مناطق با QTL‌های صفات مهم اقتصادی مرتبط با لاشه، تولیدمثل و متابولیسم چربی همپوشانی دارند (۳۵). ژن‌هایی که دارای فراوانی بالا و همچنین EHH بالایی در مجاور آل انتخابی باشند هدف انتخاب‌های مثبت بوده و به‌خصوص در دام‌ها، که علاوه بر انتخاب طبیعی تحت انتخاب مصنوعی نیز قرار دارند می‌توانند پاره‌ای از جایگاه‌های کاندیدا برای ژن‌های عمده اثر باشند (۳۵). در مطالعه دیگر کیجاس (۱۷) با کاوش نشانه‌های انتخاب روی همان ۷۴ نژاد ذکر شده در مطالعه قبلی بود ولی براساس روش‌های مبتنی بر عدم تعادل لینکاژی و طول هاپلوتیپی و آماره hapFLK، ۱۰ منطقه هاپلوتیپی شناسایی که ۵ ناحیه بر روی کروموزوم‌های ۴، ۶، ۱۰ (دو منطقه)، ۱۱ و ۱۳ قویاً حاوی ژن‌های کاندیدای تحت انتخاب مثبت تشخیص داده شد (RXFP2, COL1A2, NCAPG, LCOR1). فاریلو و همکاران (۵) طی تحقیق گسترده بر روی جمعیت گوسفندان جهان با استفاده از مجموعه داده‌های HapMap که شامل ۷۴ نژاد و با تعداد ۳۰۰۰ رأس حیوان بود، نشانه‌های انتخاب را بر پایه تنوع ژنتیکی در گوسفندان مورد بررسی قرار دادند. در این تحقیق حداقل سه سطح تمایز بین قاره‌ای، درون قاره‌ای و سطح داخل نژادی طراحی شد و با استفاده از روش FST مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل منجر به شناسایی ۳۱ منطقه ژنومی با تمایز شدید بین نژادها شد که شامل ژن‌های مربوط به رنگ پشم، مورفولوژیکی اسکلت، اندازه بدن، رشد و تولیدمثل است. مرادی و همکاران (۲۰) با استفاده از دو سری اطلاعاتی مستقل شامل داده‌های پروژه HapMap گوسفند و داده‌های حاصل از تعیین ژنوتیپ دو نژاد ایرانی زل و لری بختیاری، نشانه‌های انتخاب را در نژادهای دنبه‌دار و بدون دنبه را با هدف شناسایی مناطق ژنومی کاندیدای مرتبط با ذخیره چربی مورد بررسی قرار دادند. نتایج این تحقیق سه ناحیه کروموزومی (۵، ۶ و X) را نمایان کرد که در هر دو سری اطلاعاتی مورد استفاده، ارتباط آنها با این صفت تأیید می‌شد. بررسی QTL‌های گزارش‌شده در مناطق اورتولوگوس در گاوهای شیری و گوشتی نشان داد که تمامی این مناطق با QTL‌های شناسایی‌شده مرتبط با

از ۹۰ درصد بود شناسایی و حذف شدند. مراحل مختلف فیلتراسیون با استفاده از نرم‌افزار PLINK انجام شد (۲۱). تعداد و نام نژادهای مورد استفاده در این تحقیق در جدول ۱ ارائه شده است.

با داده‌های گمشده همراه بوده و خطای تعیین ژنوتیپ شده در آنها بالا باشد. در مرحله بعد نشانگرهایی که حداقل فراوانی آللی در آنها کمتر از ۱ درصد بود حذف شدند. سپس نشانگرهایی که نرخ تعیین ژنوتیپ شده آنها در نمونه‌ها کمتر

جدول ۱- نژاد و تعداد نمونه مورد استفاده در پژوهش

Table 1. Breed and number of sample used in the research

منطقه	نام نژاد	تعداد نمونه	منطقه	نام نژاد	تعداد نمونه
آسیا	Afshari	۳۷	آفریقا	Demani Alg	۴۸
	Deccani	۴۰		Hamara Alg	۴۸
	Garut	۳۵		Namaqua Afrikaner	۱۴
	Local Awassi	۳۴		O.Djellal Alg	۴۸
	Moghani	۳۵		Redmaasai	۴۸
	Qezel	۳۵		Sidaoun Alg	۴۸
	Speal-white	۲۵		Tazgezawth Alg	۴۸
	Sumatra	۲۵		Gulf Coast Nova	۹۶
	Tibetan	۴۲		Morada Nova	۲۱
	Australian Coopworth	۲۴	آمریکا	Brazilian Creole	۲۲
استرالیا	Australian Merino	۴۶		Santa Ines	۴۶
	Australian Poll Merino	۲۴		Altamurana	۲۴
	NewZealand Romney	۲۴		Border Leicester	۲۴
	Arawapa	۲۴		Castellana	۲۲
	Australian Industry Merino	۲۴		Chios	۲۴
	Australian Poll Dorset	۲۴		Comisana	۲۴
	Australian Suffolk	۲۴		EastFriesian Brown	۴۸
	NewZealand Texel	۲۴		Finnsheep	۵۴
	African Dorper	۲۱		IrishSuffolk	۵۵
آفریقا	Barbaine Alg	۴۸	اروپا	Karakas	۱۸
	Barber Alg	۴۸		Norduz	۲۰
	Egyptian Barki	۲۴		Ojalda	۲۴
	Ethiopian Menz	۳۵		Rasaaragonesa	۲۰
	Rembi Alg	۴۸		Sakiz	۲۲
	Scottish Texel	۸۰		ValaisRed sheep	۲۴
	Scottish Black Face	۲۴		German Texel	۴۸
	SwissBlack-Brown Mountain sheep	۲۴		Leccese	۲۲
	Swiss Alpine sheep	۲۴		Rambouillet	۱۰۴
	Churra	۵۰۰	اروپا	SwissMirror sheep	۲۴
اروپا	Cyprus Fat Tail	۳۰		ValaisBlacknose sheep	۲۴
	Galway	۵۰		Wiltssheep	۴۵

زیرجمعیت برای یافتن مناطقی از ژنوم در ارتباط با فشار انتخاب بر روی یک زیرجمعیت در مقایسه با زیرجمعیت دیگر به کار می‌رود. در این پژوهش مقادیر ارزش‌های F_{ST} به روش برآوردگر ناریب تتا برای کلیه نشانگرهای تک نوکلئوتیدی در محیط R محاسبه شد. برای محاسبه F_{ST} از فرمول زیر محاسبه می‌شود:

$$F_{ST} = \frac{H_T - H_S}{H_T} \quad (1)$$

که در اینجا H_T هتروزیگوسیتی مورد انتظار در کل جمعیت و H_S هتروزیگوسیتی داخل زیر جمعیت است.

روش‌های آماری بر پایه آماره hapflk

یک روش مبتنی بر هاپلوتایپ برای تشخیص انتخاب مثبت از داده‌های متعدد جمعیت با استفاده از روش hapflk پیشنهاد شده است بنابراین در این روش یک مدل عدم تعادل لینکاژی چندین نقطه استفاده شده که دوباره کروموزوم‌های

یکی از شیوه‌های آماری برای آزمون ارتباط بین جوامع و اختصاص افراد به آنها با استفاده از ماتریس فاصله، استفاده از آنالیز مؤلفه‌های اصلی (PCA) است (۱۲). به علاوه، در این روش هر مؤلفه مستقل از مؤلفه‌های دیگر است. برای این منظور ابتدا جهت مشخص نمودن SNP‌های مستقل جهت از بین بردن ارباب ناشی از پیوستگی بین SNP‌ها با استفاده از برنامه PLINK با اندازه پنجره‌های ۲۵ نشانگری و گام‌های ۵ نشانگری و r^2 بین هر یک از جفت SNP‌ها بالاتر از ۰/۰۵ حذف شده و تنها یکی از آنها باقی ماند. سپس با استفاده از برنامه R و بسته adegenet آنالیز PCA انجام شد (۱۳). برای شناسایی نشانه‌های انتخاب در این تحقیق از روش‌های زیر استفاده شد.

روش‌های آماری بر پایه تفاوت بین جمعیت‌ها

یکی از متداول‌ترین آماره‌ها برای مطالعه انتخاب، آماره F_{ST} است که با استفاده از تفاوت بین فراوانی آللی بین یک

داده‌هایی که خارج از محدوده مورد نظر هستند به‌عنوان نشانه‌های انتخاب تعیین می‌شود (۲۷).

$$XP - EHH = \log \frac{\int EHH_{pop1}(x) dx}{\int EHH_{pop2}(x) dx} \quad (۴)$$

در این تحقیق جهت تشکیل فازهای هاپلوتیپ از نرم‌افزار FastPHASE استفاده شد.

روش فراتحلیل

در این آزمون از ترکیب P-Value‌های به‌دست‌آمده از آزمون‌های شناسایی نشانه‌های انتخاب، استفاده شد (۳۱). نتایج به‌دست‌آمده از این بررسی نیز مؤید حساسیت و توانایی بالای این روش در شناسایی مناطق ژنومی که تحت انتخاب بوده‌اند، می‌باشد. برای تسهیل در شناسایی برجسب‌های آلل که ممکن است توسط کاربر، اشتباه تعیین شده باشد. METAL گزینه‌ای برای خروج از میانگین، واریانس و حداقل و حداکثر فراوانی آلل برای هر نشانگر است. METAL حتی در هنگام انجام فراتحلیل، آماره‌هایی مانند اندازه نمونه تجمعی را ردیابی می‌کند.

ژن انتولوژی و شناسایی QTLها

پس از شناسایی سیگنال‌های انتخاب، ژن‌های گزارش شده این مناطق در گوسفند و مناطق متناظر در گاو با استفاده از پایگاه اطلاعاتی ENSEMBL و بر اساس سرهمسازی آخرین نسخه ژنومی در دسترس گوسفند OAR از پایگاه اطلاعاتی NCBI و نرم‌افزار BioMart شناسایی شد (۱۹). سپس QTL‌های گزارش‌شده در این مناطق در مرکز اطلاعاتی Animal QTLdb مورد بررسی قرار گرفت. در نهایت به‌منظور بررسی گروه‌های کارکردی (GO) مختلف که مجموعه ژن‌های شناسایی شده از نرم‌افزار DAVID استفاده شد همچنین برای تفسیر بهتر عملکرد ژن‌های به‌دست‌آمده از پایگاه‌های اطلاعاتی آنالین GeneCards و UniProtKB استفاده شد.

نتایج و بحث

بعد از کنترل کیفیت اولیه (در مرحله تعیین ژنوتیپ)، ۷۷ فرد به‌خاطر ژنوتیپ از دست‌رفته بیشتر از ۱۰ درصد حذف شدند و در نتیجه ۱۵۹۱ حیوان برای آنالیزهای بعدی باقی ماندند. از مجموع ۴۹۰۳۴ نشانگر به‌کار رفته در این تحقیق، ۴۷۲۵۸ نشانگر توانستند مراحل مختلف کنترل کیفیت را بگذرانند.

به‌طور کلی ۱۸۴ نشانگر به‌دلیل حداقل فراوانی آللی کمتر از ۱ درصد و ۱۵۹۲ نشانگر به‌دلیل نرخ ژنوتایپینگ کمتر از ۹۰ درصد در هر نمونه حذف شدند. مراحل مختلف کنترل کیفیت در جدول ۲ نشان داده شده است.

فرد داخل محل هاپلوتایپ طبقه‌بندی می‌شود. این آماره‌ها از فراوانی هاپلوتیپ به‌جای فراوانی آللی از SNP استفاده می‌کند (۸).

روش‌های مبتنی بر عدم تعادل پیوستگی

آنالیز هاپلوتیپ‌ها روش دیگری برای شناسایی سیگنال‌های انتخاب توسط روش‌های متعددی است که بیشتر بر پایه روش EHH توسعه یافته‌اند (۲۷). در واقع EHH احتمال شایع بودن یک هاپلوتیپ گسترده شده خاص بدون نوترکیبی است که به‌صورت زیر محاسبه می‌شود:

$$EHH_{s,t} = \frac{1}{n_{as}(n_{as}-1)} \sum_{k=0}^{k_{as,t}} n_k(n_k - 1) \quad (۲)$$

که در اینجا n_{as} فراوانی هاپلوتیپ‌هایی است که حامل هاپلوتیپ مرکزی a_s هستند، $k_{as,t}$ تعداد هاپلوتیپ‌های منحصر به فردی است که حامل هاپلوتیپ مرکزی از اسنیپ S تا اسنیپ t در طول کروموزوم هستند و n_k نشانگر تعداد نمونه‌های هاپلوتیپ‌های منحصر به فرد است. یکی از متداولترین روش‌های مبتنی بر روش‌های عدم تعادل پیوستگی استفاده از آماره iHS است، این آماره یک معیار استاندارد از کاهش EHH آلل‌های مشتق‌شده در یک منطقه (برای مثال یک SNP) نسبت به آلل‌های اجدادی را فراهم می‌کند. مناطقی با روند آهسته کاهش EHH در آلل‌های مشتق‌شده به‌عنوان نشانه‌ای از انتخاب تلقی می‌گردد. در این روش انتگرال زیر منحنی EHH در تمام جایگاه‌های اطراف SNP مرکزی تا زمانی که EHH به ۰/۵ می‌رسد محاسبه و ارزش‌های به‌دست‌آمده برای آلل‌های اجدادی و آلل‌های مشتق‌شده با هم مقایسه می‌شوند. این روش به‌صورت موفقیت‌آمیزی در تحقیقات مختلف شامل انسان و گاو گزارش شده است (۳، ۹).

$$iHS = \frac{\ln\left(\frac{iHHA}{iHHD}\right) - Ep\left[\ln\left(\frac{iHHA}{iHHD}\right)\right]}{SDp\left[\ln\left(\frac{iHHA}{iHHD}\right)\right]} \quad (۳)$$

که A آلل اجدادی و D آلل اشتقاقی است. انحراف استاندارد مورد انتظار $\ln(iHHA/iHHD)$ از توزیع تجربی SNP برآورد شده که p فراوانی آلل مشتق‌شده با فراوانی SNP هسته منطبق شده است. iHS ساخته شده تقریباً توزیع نرمال دارد و از این رو اندازه سیگنال‌های آلل‌های مختلف به‌طور مستقیم قابل مقایسه با فراوانی آللی آن با دیگر SNPها است. همچنین بعد از محاسبه EHH از نرم‌افزار R و بسته rehH برای محاسبه روش Rsb (۱۰) استفاده شد. XPEHH برخلاف دو روش iHS و EHH که سیگنال‌های انتخابی تثبیت‌نشده را شناسایی می‌کنند، شناسایی سیگنال‌هایی که در برخی زیرجمعیت‌ها نسبت به کل جمعیت به تثبیت رسیده‌اند را بر عهده دارد که در این روش برای کنترل تنوع نرخ نوترکیبی، هاپلوتیپ‌ها را بین جمعیت مقایسه می‌کند و

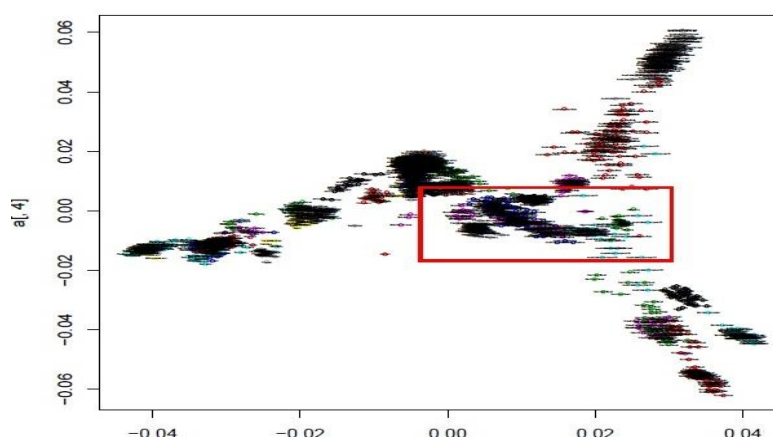
جدول ۲- مراحل مختلف فیلتراسیون داده‌های حاصل از تعیین ژنوتیپ

Table 2. Different stages of filtering the data obtained from genotyping

تعداد	موارد
۱۶۶۸	تعداد حیوانات
۷۷	حذف نمونه‌هایی با بیش از ۱۰ درصد ژنوتیپ از دست رفته
۱۵۹۱	تعداد کل نمونه‌های باقی‌مانده
۴۹۰۳۴	تعداد کل نشانگرهای مورد بررسی
۱۸۴	حذف نشانگر با $MAF < 0.01$
۱۵۹۲	حذف نشانگرهای با نرخ فراوانی کمتر از ۹۰ درصد در هر نمونه
۴۷۲۵۸	تعداد نشانگرهای باقی‌مانده

ترکیه‌ای و آفریقایی، AUNZ: نژادهای استرالیایی و نیوزیلند و EU: نژادهای اروپایی قرار گرفتند.

نتایج آنالیز نشان داد که جمعیت‌های گوسفندان جهان بر اساس اطلاعات دو مؤلفه اصلی (PC1 و PC2) در سه گروه‌های جدا از یکدیگر شامل AIT: نژادهای آسیایی،

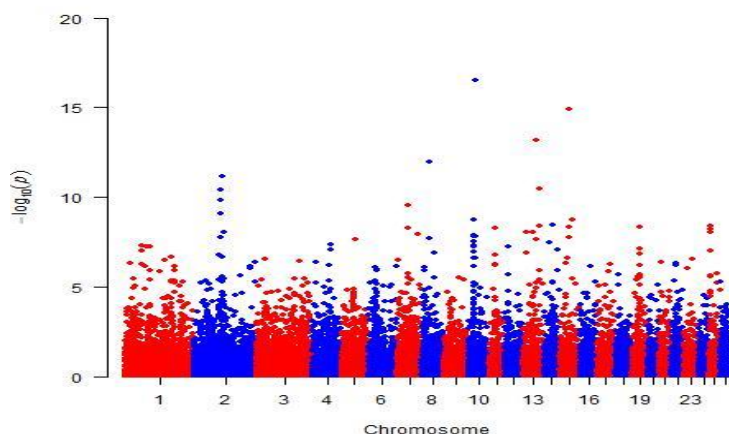


شکل ۱- آنالیز مؤلفه‌های اصلی برای ۳ جمعیت EU، AUNZ، AIT توسط نرم‌افزار R
Figure 1. Principal component analysis for 3 populations of EU, AUNZ, AIT by R software

با توجه به شکل ۱ نتایج حاکی از این است که افرادی که دورترند نسبت به افرادی که در میانه قرار گرفته‌اند، خلوص بیشتری دارند. در این شکل سطح افقی (PC1) جمعیت‌ها را از لحاظ کشورها و سطح عمودی (PC2) جمعیت‌ها را از لحاظ قاره‌ها تفکیک کرده است. جهت بررسی الگوی ژنومی انتخاب مثبت در سه جمعیت گوسفند AIT، AUNZ و EU مقادیر ارزش‌های F_{st} به‌روش برآوردگر ناریب تتا برای کلیه نشانگرهای تکنوکلوتیدی در محیط R محاسبه شد. برای شناسایی بهتر نشان‌های انتخاب در سطح ژنوم به‌جای در نظر گرفتن ارزش عددی هر SNP میانگین ارزش عددی SNPهای مجاور تحت عنوان پنجره ۵تایی (win5) در نظر گرفته شد. مناطقی از ژنوم که در صدک بالای ۹۹/۹ درصد ارزش تتا قرار داشتند به‌عنوان کاندیدای نشان انتخاب مشخص شدند. نشانگرهایی که پس از آزمون F_{st} بیشترین ارزش تتا در بین دو جمعیت AIT و AUNZ بودند بر روی کروموزوم‌های ۲۵، ۱۲، ۱۱، ۱۰، ۸، ۶ و نشانگرهای دارای بیشترین ارزش تتا در بین دو جمعیت AIT و EU بر روی کروموزوم‌های ۲۷، ۱۰، ۸، ۲ قرار داشتند. نشانگرهایی که دارای بیشترین ارزش تتا در بین دو جمعیت AUNZ و EU بودند بر روی کروموزوم ۱۹ قرار داشت. با بررسی نقاط به‌دست‌آمده با استفاده از آزمون hapflk (۵)، مشخص شد که ۶ منطقه روی کروموزوم‌های ۲۲، ۲۰، ۱۹، ۱۴، ۱۳، ۱ دارای

تمایز بیشتری هستند. طبق بررسی نتایج حاصل از آنالیز Rsb نشان‌های انتخاب بین جمعیت AIT و AUNZ و نشان‌های انتخاب بر روی کروموزوم‌های ۲۵، ۲۱، ۱۵، ۱۱، ۱۰، ۷، ۶، ۲، ۱ شناسایی گردید. با انجام آنالیز Rsb برای جمعیت AIT و EU نشان‌های انتخاب بر روی کروموزوم‌های ۱۴، ۱۲، ۱۱، ۱۰، ۸، ۷، ۶، ۲، ۱ شناسایی گردید، درحالی‌که برای جمعیت AUNZ و EU نشان‌های انتخاب بر روی کروموزوم‌های ۲۵، ۲۱، ۸، ۷، ۳، ۲ شناسایی شد. نتایج بررسی نشان‌های انتخاب در درون هر جمعیت (آماره iHS) نشان داد که برای جمعیت AIT نشان‌های انتخاب بر روی کروموزوم‌های ۱۸، ۱۳، ۸، ۵، ۳ برای جمعیت EU نشان‌های انتخاب بر روی کروموزوم‌های ۲۰، ۱۳، ۲ و برای جمعیت AUNZ نشان‌های انتخاب بر روی کروموزوم‌های ۲۷، ۱۸، ۱۲، ۳، ۱ شناسایی شد. در بررسی آماره XP-EHH برای جمعیت AIT با AUNZ کروموزوم‌های ۲۵، ۲۱، ۱۹، ۱۸، ۱۷، ۱۵، ۱۱، ۱۰، ۸، ۱ و برای جمعیت AIT با EU کروموزوم‌های ۲۳، ۲۲، ۲۱، ۱۹، ۱۸، ۱۳، ۸، ۷، ۴، ۱ و برای جمعیت AUNZ با EU کروموزوم‌های ۲۵، ۲۴، ۲۱، ۱۸، ۱۶، ۱۲، ۱۱، ۱۰، ۷، ۶، ۳، ۱ مورد انتخاب واقع شدند. گراف منهتن برای فراتحلیل کل داده‌های جمعیتی گوسفندان جهان در شکل ۲ ارائه شده است و به‌طور کلی بر اساس فراتحلیل، نقاط دارای تمایز بیشتر برای تمام گروه‌های این تحقیق در روی کروموزوم‌های ۲۲،

۲۰، ۱۲، ۹، ۷، ۶، ۵، ۴، ۳، ۲ شناسایی شدند که لیست کامل مکان آنها و ژن‌های اساسی هر منطقه شناسایی شده در جدول ۳ به‌طور مفصل ارائه شده است.



شکل ۲- گراف منتهن برای کروموزوم‌های مورد انتخاب کل جمعیت‌های گوسفندان با فراتحلیل
Figure 2. Manhattan graph for selected chromosomes of the world's total sheep population by meta-analysis

جدول ۳- فهرست ژن‌ها و QTL‌های شناسایی‌شده مربوط به نواحی تحت انتخاب بر اساس آزمون فراتحلیل در جمعیت گوسفندان جهان
Table 3. List of genes and QTLs identified in selected areas based on meta-analysis test in total sheep population

ارزش P- تصحیح‌شده	ژن‌های کاندیدی در هر Term	ژن‌های موجود در Term	نام مسیر (براساس سلسله مراتبی)	کد هستی‌شناسی
۰/۰۱۲	ADAMTS9, GNAQ, KITLG	۳	تنظیم تمایز ملانوسیت	GO: 0045634
۰/۰۱۳	AICDA, ADAR, BATF, TCF3, TGFB1, TNFSF13	۶	تنوع بدنی گیرنده‌های ایمنی	GO: 0002200
۰/۰۰۱۸	AICDA, BATF, TCF3, TGFB1, TNFSF13	۵	نوترکیبی بدنی قطعات ژن ایمونوگلوبولین	GO: 0016447
۰/۰۲۸	AICDA, BATF, TCF3, TGFB1, TNFSF13	۵	تنوع بدنی ایمونوگلوبولین‌ها	GO:0016445
۰/۰۳۸	KANK2, LOC101116157, ATG7, MAP3K2, MTMR3, NFKB1, PIK3C2B, PRKAA1, SLC2A1	۹	پاسخ سلولی به محرک خارجی	GO:0071496
۰/۰۳۹	AICDA, BATF, TCF3, TGFB1, TNFSF13	۵	تنوع بدنی گیرنده‌های ایمنی از طریق نوترکیبی خط جوانه زنی در داخل یک جایگاه ژنی	GO:0002562
۰/۰۴۴	AICDA, BATF, MZB1, TCF3, TGFB1, TNFSF13	۶	تولید ایمونوگلوبولین	GO:0002377
۰/۰۰۳۶	DDX58, TBK1, MAVS	۳	تنظیم مثبت تولید اینترفرون - آلفا	GO:0032727
۰/۰۲۶	ADAMTS9, GNAQ, KITLG	۳	تنظیم رنگدانه رشد	GO:0048070
۰/۰۱۹	AGBL5, DDX58, FXR2, AICDA, ADAR, ATG7, BATF, CLDN7, LOC101107430, C1S, FAM13B, JAGN1, MZB1, MAVS, PRDX1, PIK3R6, SLC35C1, TGFB1, TGFB2, TNFSF13	۲۰	فرایند ایمنی	GO:0002252
۰/۰۳۹	KANK2, LOC101116157, ATG7, MTMR3, PIK3C2B, PRKAA1, SLC2A1	۷	پاسخ سلولی به محرک خارج سلولی	GO:0031668
۰/۰۲۹	AICDA, BATF, TGFB1, TNFSF13	۴	تنوع بدنی ایمونوگلوبولین‌های درگیر در پاسخ ایمنی	GO:0002208
۰/۰۱۹	AICDA, BATF, TGFB1, TNFSF13	۴	نوترکیبی بدنی از ژن‌های ایمونوگلوبولین درگیر در پاسخ ایمنی	GO:0002204
۰/۰۰۸۲	DDX58, TBK1, MAVS	۳	تنظیم تولید اینترفرون - آلفا	GO:0032647
۰/۰۰۹۶	KITLG, DVL2, PAK1, PDE5A, PIK3R6, PLCB1, TGFB1	۷	تنظیم مثبت فعالیت MAP کیناز	GO:0043406
۰/۰۴۶	AGPAT5, CCL26, BATF, IL17RC, ILF2, TGFB1, TGFB2, TNFSF12, TNFSF13	۹	فرایند سیستم ایمنی	GO:0002376
۰/۰۰۲۰۱	NT5E, ARL6IP5, CCL24, DDX58, FXR2, GPS2, TBK1, CREB3, HSPH1, IL17RC, SLC35C1, TGFB2	۱۲	تنظیم پاسخ به استرس	GO:0080134
۰/۰۰۲۵۱	DDX58, TBK1, MAVS	۳	تولید اینترفرون - آلفا	GO:0032607
۰/۰۳۷۳	BAMBI, CTDNEP1, RSP03, DVL2, NFKB1	۵	تنظیم مثبت مسیر عادی سیگنالینگ Wnt	GO:0090263
۰/۰۱۲۵	AICDA, BATF, TGFB1, TNFSF13	۴	تولید ایمونوگلوبولین در پاسخ ایمنی واسطه ایمونوگلوبولین	GO:0002381
۰/۰۲۰۳	TGFB1, TNFSF13	۲	تنظیم مثبت تغییر ایزوتایپ به ایزوتایپ IgA	GO:0048298
۰/۰۳۷۵	NT5E, AGLB5, CCL24, FXR2, NFKB1, TBK1, TMF1, ADAR, ATG7, BATF, CLDN7, FAM13B, IL17RC, JAGN1, LDLR, NFKB1, PELL1, PRDX1, PIK3R6, PARP9, PTGDR, PTGS1, SLC35C1, TGFB1, TRIM8	۲۲	پاسخ دفاعی	GO:0006952
۰/۰۲۴	TGFB1, TGFB2	۲	اتصال به گیرنده‌های بتا فاکتور رشد تبدیل‌کننده نوع III	GO:0034714
۰/۰۰۱۷۶	TGFB1, TGFB2	۲	تبدیل اتصال گیرنده بتا به فاکتور رشد	GO:0005160

مرتبط است. استرادا رييس و همكاران (۴) نشان دادند كه چندين ژن از *CCL26* به عنوان نشانگر بالقوه براي مقاومت در برابر قرار گرفتن در معرض انگل داخلي همونكوس كنتورتوس (نماتد) متعارف شناخته شدند. همچنين در مطالعه‌اي بيان نمودند كه شناسايي سيتوكينين‌ها مانند *IL17RC* و *IL23A* ممكن است با مقاومت به انگل داخلي دستگاه گوارش همراه باشد (۲۳). ژن‌هاي *PRKAA1*, *MAP3K2*, *NFKB1* بر روي كروموزوم ۹ قرارداشتند و در پاسخ سلولي به تحريكات بيروني نقش دارند. هو و همكاران (۱۱) در بين ژن‌هاي كانديدای به دست آمده از داده‌هاي توالی‌یابی، لیستی از ژن‌ها (*SOCS2*, *NFKB1*, *CAMK2D*) را نشان دادند كه به احتمال زياد با سازگاري گوسفندان به ارتفاعات در ارتباط هستند. در مطالعه‌اي دريافتند كه در صفات شير، *PRKAA1* با درصد چربي همراه است و ممكن است در متابوليسم چربي مؤثر بر صفات توليد شير در گاوها باشد (۳۲). ژن *DDX58* بر روي كروموزوم ۳ قرارداشت و در توليد اينترفرون آلفا نقش دارد. در پژوهش انجام شده محققين دريافتند كه خوشه سوم ژن‌هاي القايي *LPS* (ليپوبلي ساكاريد) در ماكروفاژها، خوشه ۶۴ حاوي زيرمجموعه‌اي از ژن‌هاي مؤثر ضدويروسي القايي *IFN* از جمله *DDX58*, *IFIT1*, *RSAD2* و *XAF1* است كه از طريق موش و انسان القا مي‌شوند (۳). ژن *LDLR*, *FAM13B*, *CCL24* بر روي كروموزوم ۲۲ قرار گرفته اند و در فرايند پاسخ دفاعي نقش دارند در مطالعه‌اي كه انجام شده مشاهده گرديد كه اتوزينو فيل‌هاي بالغ فعال شده و در پاسخ به شيمي درماني مختلfi مانند *CCL11*, *CCL24* به محل عفونت مهاجرت مي‌كنند (۴). ژن‌هاي *BAMBI*, *DVL2* بر روي كروموزوم ۵ قرارداشتند و در هموستاز سلولي نقش دارند. كانگ و همكاران (۱۴) در تجزيه و تحليل شبكه و مسير، برخي از مسيرهاي متعارف اثبات شده در طي فرايند چربي‌سازي و يا فرايند متابوليك ليپيدي را شناسايي كردند. ژن *PLCE1* بر روي كروموزوم ۷ قرارداشت كه در تنظيم پروتئين كيناز فعال شده با ميتوژن نقش دارد. در مطالعه‌اي كه محققين انجام دادند *PLCE1* با وزن كلي پروتئين در شير همراه است و *SUFU* با سيستم پستانداران، تعداد سلول‌هاي سوماتيك و بقا همراه است (۳۲). ژن‌هاي *HSPH1*, *FXR2* بر روي كروموزوم ۱۲ قرار گرفته اند و در فرايند تنظيم پاسخ به استرس نقش دارند. در مطالعه‌اي چندين ژن را يافتند كه در سازگاري حرارتي در ارتباط هستند (۳۳). نتايج تحقيق حاضر با استفاده از مجموعه متنوعي از نشانه‌هاي انتخاب منتشر شده در سراسر نژادهاي گوسفند در سراسر جهان، رويكرد جديدي را براي استنتاج نقاط مثبت نشانه‌هاي انتخاب در ژنوم گوسفند اجرا مي‌كند. در مجموع، نتايج اين تحقيق مي‌تواند منبع اطلاعاتي باارزشي در جهت شناسايي ژن‌هاي متمايزكننده و شناسايي نواحي ژنومي كانديد براي بسياري از صفات مهم اقتصادي موجود در برخي از گوسفندان جهان را فراهم آورد.

ژن *ADAMTS9* بر روي كروموزوم شماره ۳ قرارداشت كه نقش سازگاري با شرايط محيطي دارد. برخي از اين مناطق ژن‌ها به طور بالقوه در صفات مورفولوژيكي (*SOCS2*, *NCAPG/LCORL*, *MSRB3*)، رنگ پوست (*MC1R*) و سازگاري با شرايط محيطي (*ADAMTS9*) نقش دارند (۲۶). ژن *GNAQ* بر روي كروموزوم ۳ قرار داشت كه نقش توليد مثلي دارد. در مطالعه‌اي كه يورچنكو و همكاران (۳۳) روي ۱۵ نژاد گوسفند نژاد بومي انجام دادند مناطقي را شناسايي كردند كه در بين اين مناطق شناسايي شده، سيگنال‌هاي قدرتمندي از تمايز در مناطقي كه حاوي ژن‌هاي شناخته شده به مورفولوژي، سازگاري و اهلي كردن (*KIT*, *KITLG*, *MITF*, *MC1R*)، كيفيت و كميت پشم (*DSC2*, *DSG2*)، توليد مثل (*UBQLN1*, *GNAQ*, *HTRA1*, *CMTM6*) و *IFT88*) مرتبط هستند. ژن *KITLG* بر روي كروموزوم ۳ قرار داشت كه نقش تنظيم ملانوسيت‌ها را بر عهده دارد. فلاچ و همكاران (۶) بسياري از نشانه‌هاي انتخاب در اطراف ژن‌هاي مرتبط در رنگ مو، چشم يا پوست را شناسايي کرده‌اند به طور خاص، چندين منطقه شناسايي شده شامل ژن‌هاي كانديدا هستند كه در رشد و مهاجرت ملانوسيت‌ها و رنگدانه‌سازي نقش دارند: *MC1R*, *KITLG*, *KIT*, *EDN3* و *MITF*. ژن‌هاي *MZB1*, *AICDA*, *TNFSF13*, *BATF* بر روي كروموزوم ۶ قرار داشتند و در توليد ايمونوگلوبولين نقش دارند. هيشيدا و همكاران (۱۰) در مطالعه‌اي كه بر روي انسان در بيماري سرطان معده انجام دادند دريافتند كه بيان ناهنجار *AICDA* تقريباً به عنوان يك جهش دهنده ژنومي عمل مي‌كند كه منجر به ايجاد تومور مي‌شود. مكانيسم‌هاي بررسي شده كه با استفاده از آنها *Batf* رونويسي ژن را در تكامل *CD4* سلول‌هاي T مؤثر انجام مي‌دهد. اين نتايج نقش مشاركتي *Batf*, *Ets1* و *Ctcf* را در سازماندهي مجدد كروماتين كه پايه رونويسي سلول‌هاي T مؤثر است را مشخص مي‌كند (۲۴). گاتير و ويتاليس (۷) به اين نتيجه رسيدند كه *Mzb1* با تنظيم Ca^{2+} ، ترشحات آنتي‌بادي و فعال‌سازي اينترگرين به تنوع عملکرد سلول‌هاي محيطي B-cell كمك مي‌كند. با تجزيه و تحليل بلات RNA، رونوشت‌هاي فراوان *Mzb1* مي‌تواند در تمام رده‌هاي سلولي B تغيير يافته صرف نظر از مرحله تمايز آنها مورد بررسي قرار گيرد. ژن‌هاي *TGFB1*, *TNFSF13* بر روي كروموزوم ۶ قرار داشتند و در تمايز سلولي نقش ايفا مي‌كنند. در مطالعه‌اي كه كلارك و همكاران (۳) انجام دادند بيان ژن‌هاي مورد مطالعه را در بافت‌هاي حاوي سلول‌هاي جوانه‌اي در گوسفند نشان مي‌دهد كه آنها در ميوز و تمايز سلولي نقش دارند. ژن‌هاي *PRDX1*, *ATG7*, *AGBL5* بر روي كروموزوم ۲۰ و ژن‌هاي *TGFB2*, *TNFSF12*, *JL17RC*, *CCL26* بر روي كروموزوم ۹ و ژن *PTGS1* بر روي كروموزوم ۲۲ قرار گرفته‌اند و در فرايند ايموني نقش دارند. الشاوي و همكاران (۱) دريافتند كه *PARM1* يك ژن پاسخ ايموني ذاتي (*BTA6*)، كه با فعاليت ضدآپوپتوز خصوصاً در مرحله باروري مرتبط است و *ATG7* (ژن پاسخ ذاتي *BTA22*) با فرايند اتوفاژي

منابع

1. Alshawwi, A., A. Essa, S. Al-Bayatti and O. Hanotte. 2019. Genome analysis reveals genetic admixture and signature of selection of productivity and environment traits in Iraqi cattle. *Frontiers in Genetics*, 10: 609.
2. Chessa, B., F. Pereira, F. Arnaud, A. Amorim, F. Goyache, I. Mainland, R.R. Kao, J.M. Pemberton, D. Beraldi and M.J. Stear. 2009. Revealing the history of sheep domestication using retrovirus integrations. *Science*, 324(5926): 532-536.
3. Clark, E., S.J. Bush, M.E.B. McCulloch, I.L. Farguhar, R. Yang, L. Lefever, C. Paridans, H.G. Tsang, C. Wu, C. Afraciabi, M. Watson, C.B. Whitelaw, T.C. Freeman, K.M. Summers, A.L. Archibald and D.A. Hume. 2017. A high resolution atlas of gene expression in the domestic sheep (*ovis aries*). *Plos Genetics*, 13(9): e1006997.
4. Estrada-Reyes, Z.M., O. Rae, C. Postley, M.B.J. Medranto, D.L. Gutierrez and R.G. Mateescu. 2019. Association study reveals th17, Treg and TH2 loci related to resistance to *haemonchus contortus* native sheep. *Animal Science*, 98(11): 1-22.
5. Fariello, M.I., S. Bertrand, T.K. Gwenola, R. Rachal, M. Carole, S.C. Magali and B. Simon. 2014. Selection signatures in worldwide sheep population. *Plos one*, 9(8): e103813.
6. Flach, H., M. Rosenbaum, M. Duchniewicz, S. Kim, S.L. Zhang, M.D. Cahalan, G. Mittler and R. Grosschedl. 2010. Mzb1 protein regulates calcium homeostasis antibody secretion, and integrin activation in innate like B cells. *Cell Press*, 33: 723-735.
7. Gautier, M. and R. Vitalis. 2012. Rehh: An R package to detect footprints of selection ingenome-wide SNP data from haplotype structure. *Bioinformatics*, 15(28): 1176-7.
8. Gholami, M., R. Christian, E. Malena, P. Rodolf, W. Annet, W. Stefen, S. Bertrand and S. Henner. 2015. Genome scan for selection in structured layer chicken population exploiting linkage disequilibrium information. *Plos one*, 10(7): e01300497.
9. Hayes, B.J., P.J. Bownman, A.J. Chamberlin and M.E. Goddard. 2009. Genomic selection in dairy cattle: progress and challenges. *Journal of Dairy Science*, 92(2): 433.
10. Hishida, A., K. Matsuo, Y. Goto, A. Hiraki, M. Naito, K. Wakai, K. Tajima and N. Hmajima. 2010. No association between AICDA 7888 C/T polymorphism, *Helicobacter pylori* seropositivity, and the risk of atrophic gastritis and gastric cancer in Japanese. *Gastric Cancer*, 13(1): 43-49.
11. Hu, X.J., J. Yang, X.L. Xie, F. Lv, Y.H. Cao, W.R. Li, M.J. Liu, Y.T. Wang, J.Q. Li, Y.G. Liu, Y.L. Ren, Z.Q. Shen, F. Wang, E. Hehua, J.L. Han and M.H. Li. 2018. The Genome ladscape of Tibetan sheep reveals adaptive Introgression from Argali and the history of early human settlements on the Qinghai-Tibetan plateau. *Molecular Biology Evolution*, 36(2): 283-303.
12. Jombart, T. and I. Ahmed. 2011. Adegenet 1.3-1: New tools for the analysis of genome-wide SNP data. *Bioinformatics*, 27(21): 3070-3071.
13. Jombart, T., S. Devillard and F. Balloux. 2010. Discriminant analysis of principal components: A new method for the analysis of genetically structured population. *BMC genetics*, 11: 94.
14. Kang, D., G. Zhou, S. Zhou, J. Zeng, X. Wang, Y. Jiang, Y. Yang and Y. Chen. 2017. Comparative transcriptome analysis reveals potentially novel roles Homeobox genes in adipose deposition in fat-tails sheep. *Science Reports*, 7: 14491.
15. Khanahmadi, A.R., G. Rahimi Mianji, H. Moradi Shahrababak, S.H. Hafezian and M.B. Zandi Baghcheh Maryam. 2018. Genomic scan for detection of selective sweep in Turkmen horse Breed. *Research on Animal Production*, 9(19): 54-62 (In Persian).
16. Kijas, J.W., D. Townley, B.P. Dalrymple, M.P. Heaton, J.F. Maddox, A. McGrath, P. Wilson, R.G. Ingersoll, R.M.C. Culloch and S.M.C. William. 2009. A genome wide survey of SNP variation reveals the genetic structure of sheep breeds. *PLoS One*, 4(3): e4668.
17. Kijas, J.W. 2014. Haplotype-based analysis of selective sweeps in sheep. *Genome*, 57(8): 433-437.
18. Manzari, Z. 2016. Genomic scan of selection signatures in some sheep breeds and identification of candidate regions associated with fat deposition. MSc. Thesis. Tehran University, Karaj, Iran, 87 pp (In Persian).
19. Mohammadi, H. 2017. Genome-wide association study for identify candidate regions with some important economic related traits and genomic scan of selective sweeps in Zandi sheep breed. Ph.D. Thesis, Tabriz University, Tabriz, Iran, 151 pp (In Persian).
20. Moradi, M.H. 2012. Genomic scan of selection signatures in some sheep breeds and identification of candidate regions associated with fat deposition. Ph.D. Thesis, Tehran University, Karaj, Iran, 152 pp (In Persian).
21. MosaviKashani, S.M., G. Rahimi Mianji and H. Moradi Shahrababak. 2018. Genome-wide scan for selection signatures in Iranian Sarabi and Taleshi Indigenous Breed. *Research on Animal production*, 9(20): 88-99 (In Persian).
22. Mousavizadeh, A., M.R. Mohammadabadi, A. Torabi, M.R. Nassiry and A.K. Esmailizadeh. 2009. Genetic polymorphism at the growth hormone locus in Iranian Talli goats by polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism (PCR-SSCP). *Iranian Journal of Biotechnology*, 7: 51-53.

23. Onzima, R.B., M.R. Upadhyay, H.P. Doekes, L.F. Brito, M. Bosse, E. Kanis, M.A.M. Groenen and R.P.M.A. Crooijmans. 2018. Genome wide characterization of selection signatures and runs homozygosity in Ugandan goat breeds. *Frontier in Genetics*, 9: 318.
24. Pham, D., C.E. Moseley, D. Savic, C.J. Winstead, M. Sun, B.L. Kee, R.M. Myers, C.T. Weaver and R.D. Hatton. 2019. Batf pioneers the reorganization of chromatin in developing effector Tcells via Ets1-dependent Recruitment of Ctcf. *Cell reports*, 29: 1203-1220.
25. Ramasamy, A., A. Mondry, C.C. Holmes and D.G. Altman. 2008. Key issues in conducting a meta-analysis of gene expression microarray datasets. *PLoS Medicine*, 5(9): e184.
26. Rochus, C.M., F. Tortereau, F. Plissoon-petir, G. Restoux, C. Moreno-Romieux, G. Tosser-klopp and B. Servin. 2017. High density genome scan for selection signatures in French sheep reveals allelic heterogeneity and introgression at adaptive loci. *BioRxiv*, e103010.
27. Sabeti, P.C., P. Varilly, B. Fry, J. Lohmueller, E. Hostetter, C. Cotsapas and M. Faggart. 2007. Genome wide detection and characterization of positive selection in human populations. *Nature*, 449(7164): 913-918.
28. Soufy, B., M.R. Mohammadabadi, K. Shojaeyan, A. Baghizadeh, S. Ferasaty, N. Askari and O. Dayani. 2009. Evaluation of Myostatin gene polymorphism in Sanjabi sheep by PCR-RFLP method. *Animal Science Researches*, 19: 81-89.
29. Spampinato, A.G. and S. Cavallaro. 2016. Meta-analysis of genomic data: Between strengths, weaknesses and new perspective. *International Journal of Biomedical Data Mining*, 5(1): e1000117.
30. Tang, K., K.R. Thornton and M. Stoneking. 2007. A new approach for using genome scans to detect recent positive selection in the human genome. *PLoS Biology*, 5(7): e171.
31. Utsunomiya, Y.T., A.M.P. O'Brien, T.S. Sonstegard, C.P. Van Tassell, A.S. Do Carmo, G. Meszaros, J. Solkner and J.F. Garcia. 2013. Detecting loci under recent positive selection in dairy and beef cattle by combining different genome wide scan methods. *PLOS One*, 8(5): e64280.
32. Wang, H., L. Zhang, J. Cao, M. Wu, X. Ma, Z. Liu, R. Liu, F. Zhao, C. Wei and L. Du. 2015. Genome wide specific selection in three domestic sheep breeds. *Plos one*, 10(6): e0128688.
33. Yourchenko, A.A., T.E. Deniskova, N.S. Yudin, A.V. Dotsev, T.N. Khamiruev, M.I. Selinova, S.V. Egorov, H. Reyer, K. Wimmers, G. Berm, N.A. Zinovieva and D.M. Larkin. 2019. High-density genotyping reveals signatures of selection related to acclimation and economically important traits in 15 local sheep breeds from Russia. *BMC Genomics*, 20(3): 294.
34. Zamani, P., M. Akhondi and M.R. Mohammadabadi. 2015. Associations of Inter-Simple Sequence Repeat loci with predicted breeding values of body weight in sheep. *Small Ruminant Research*, 132: 123-127.
35. Zhao, F.P., C.H. Wei, L. Zhang, J.S. Liu, G.K. Wang, T. Zeng and L.X. Du. 2016. A genome scan of recent positive selection signatures in three sheep populations. *Journal of Integrative Agriculture*, 15: 162-174.

Bioinformatics Analysis of Some Genomic Regions in Sheep Population Based on Meta-Analysis

Mehdi Bayeriyar¹, Seyyed Hasan Hafezian², Amir Hossein Khaltabadi Farahani⁴,
Ayoub Farhadi³ and Hossein Mohammadi⁴

1- PhD. Student, Faculty of Animal and Aquatic science, Sari Agricultural Science and Natural Resources University, Sari

2- Associate Professor, Faculty of Animal and Aquatic Science, Sari Agricultural Science and Natural Resources University, Sari, (Corresponding author: hassanhafezian@yahoo.com)

3- Associate Professor, Faculty of animal and Aquatic science, Sari Agricultural Science and Natural Resources University, Sari

4- Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Aatural Resources, University of Arak, Arak

Received: December 15, 2020

Accepted: February 20, 2021

Abstract

Selection to increase the frequency of new mutations useful only in some subpopulations leaves markers at the genome level. Most of these regions are related to genes and QTLs associated with significant economic traits. The aim of this study was to identify selection traits related to functional traits in the number of world's sheep using modern methods. For this purpose, genotyping files were used using genomic chips related to 1591 sheep from different breeds of the world, (Dryad, Frontiersin, Zenodo, Animal Genom, Hapmap) including 52 breeds from 20 countries on all continents, and 13 studies were stored in various genomic databases. First, to determine the population mixing between different breeds from regions with different climatic conditions, population structure analysis or population stratification was carried out. Fst, hapflk, iHs, Rsb, XpEHH tests were used to identify the selection signatures, and finally, a meta-analysis of the above methods was used. The population was divided into three groups by PCA analysis: AIT: Asian, Turkish and African breeds, AUNZ: Australian and New Zealand breeds, and EU: European breeds. Based on the meta-analysis test, 10 genus regions were identified on chromosomes 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 12, 20, 22. For example, the MC1R gene is associated with skin color, the DSG2 gene with the quality and quantity of wool, and the AICDA gene with the production of immunoglobulin. Bioinformatics analysis showed that some of these gene regions are directly and indirectly associated with genes affecting environmental adaptation (ADAMTS9), reproduction (GNAQ), melanocyte regulation (KITLG), and immunoglobulin production (BATF, TNFSF13, AICDA, MZB1), Cell differentiation (TNFSF13, TGFB1), Immune process (AGBL5, ATG7, PRDX1, CCL26, IL17RC, TNFSF12, TGFB2, PTGS1), Cellular response to external stimulation, NKK1, PRF3 (PR) Interferon alpha (DDX58), defense response process (CCL24, FAM13B, LDLR, CLDN7), cellular homeostasis (BAMBI, DVL2), regulation of mitogen-activated protein kinase (PLCE1) and regulation of stress response (FXR2, HSPH1). Comparative analysis of meta-analysis of selection cues based on bioinformatics databases can identify selected genomic regions for traits of economic and biological importance in sheep.

Keywords: Genomic scan, Meta-analysis, Population mixing, Selection signature