



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

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

۱- دانشجوی دکتری، 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 موتاسیون‌های 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، hapflk، 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. به طوری که 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 به طور 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)، فرآیند ایمنی (ATG7، AGBL5)، (MAP3K2، NFKB1، PRKAA1)، پاسخ سلولی به تحریکات بیرونی (PTGS1، TGFB2، TNFSF12، IL17RC، CCL26، PRDX1)، تولید اینترفرون آلفا (DDX58)، فرآیند پاسخ دفاعی (CLDN7، LDLR، FAM13B، CCL24)، هموستاز سلولی (DVL2، BAMBI)، تنظیم پروتئین کیناز فعال‌شده با میتوزن (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، یویش ژنگانی، فراتحلیل، نشانه‌های انتخاب

مقدمه

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 به طوری که 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

بعد مشارکت بیشتری داشته باشند. بدین ترتیب 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 آلی و LD قابل شناسایی است (۱۵). از طرفی استفاده از نشانگرهای 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

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 بپذیرد 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 QTLها 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 (Frontiresin, 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 آلی 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 کبچاس (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 (COL1A2, NCAPG, RXFP2, LCOR1). فارلیو 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، مورفولوژی 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 گوستی 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 آلی 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

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

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 آلی 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 گزارش شده 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 آنلاین 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 هاپلوتیپ 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 شایع‌بودن یک هاپلوتیپ گسترده شده خاص بدون نوترکیبی است که به‌صورت زیر محاسبه می‌شود:

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

که در اینجا n_{a_s} فراوانی هاپلوتیپ‌هایی است که حامل هاپلوتیپ مرکزی a_s هستند، $k_{a_s,t}$ 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).

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

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. his 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

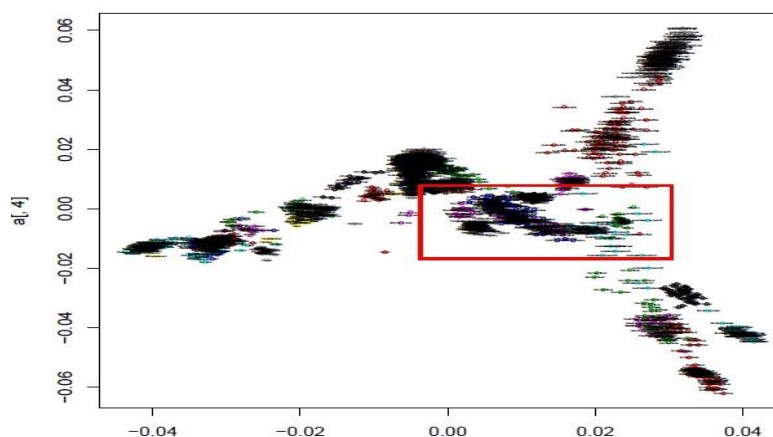
جدول ۲- مراحل مختلف فیلتراسیون داده‌های حاصل از تعیین ژنوتیپ

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 ازدست‌رفته
۱۵۹۱	تعداد کل نمونه‌های باقی‌مانده
۴۹۰۳۴	تعداد کل نشانگرهای مورد بررسی
۱۸۴	حذف نشانگر با $MAF < 0.01$
۱۵۹۲	حذف نشانگرهای بانرخ 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،

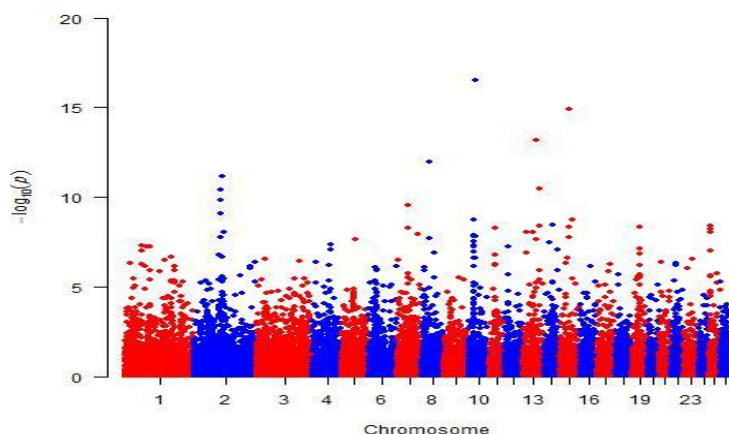


شکل ۱- آنالیز مؤلفه‌های اصلی برای ۳ جمعیت EU، AUNZ، AIT توسط نرم‌افزار R
Figure 1. Principal component analysis for 3 populations of EU, AUNZ, AIT by R software

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 Fst به‌روش برآوردگر ناریب تا برای کلیه نشانگرهای تک‌نوکلئوتیدی در محیط R محاسبه شد. برای شناسایی بهتر نشانه‌های انتخاب در سطح ژنوم به‌جای در نظر گرفتن ارزش عددی هر SNP میانگین ارزش عددی SNPهای مجاور تحت عنوان پنجره ۵ تایی (win5) در نظر گرفته شد. مناطقی از ژنوم که در صدک بالای ۹۹/۹ درصد ارزش تا قرار داشتند به‌عنوان کاندیدای نشانه انتخاب مشخص شدند. نشانگرهایی که پس از آزمون Fst بیشترین ارزش تا در بین دو جمعیت AIT و AUNZ بودند بر روی کروموزوم‌های ۲۵، ۱۲، ۱۱، ۱۰، ۸، ۶ و نشانگرهای دارای بیشترین ارزش تا در بین دو جمعیت AIT و EU بر روی کروموزوم‌های ۲۷، ۱۰، ۸، ۲ قرار داشتند. نشانگرهایی که دارای بیشترین ارزش تا 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 نشانه‌های 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 نشانه‌های انتخاب بر روی کروموزوم‌های ۱۴، ۱۲، ۱۱، ۱۰، ۸، ۷، ۶، ۲، ۱ شناسایی گردید، درحالی‌که برای جمعیت EU و AUNZ نشانه‌های انتخاب بر روی کروموزوم‌های ۲۱، ۸، ۷، ۳، ۲ شناسایی شد. نتایج بررسی نشانه‌های انتخاب در درون هر جمعیت (آماره iHS) نشان داد که برای جمعیت AIT نشانه‌های انتخاب بر روی کروموزوم‌های ۱۸، ۱۳، ۸، ۵، ۳ برای جمعیت EU نشانه‌های انتخاب بر روی کروموزوم‌های ۲۰، ۱۳، ۲ و برای جمعیت AUNZ نشانه‌های 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 منهن 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،

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



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 شناسایی شده 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

کد هستی‌شناسی	نام مسیر (براساس سلسله مراتبی)	ژن‌های موجود در Term	ژن‌های کاندیدای در هر Term	ارزش P- تصحیح شده
GO: 0045634	تنظیم تمایز ملانوسیت	۳	ADAMTS9, GNAQ, KITLG	/۰.۱۲
GO: 0002200	تنوع بدنی گیرنده‌های ایمنی	۶	AICDA, ADAR, BATF, TCF3, TGFB1, TNFSF13	/۰.۱۳
GO: 0016447	نوترکیبی بدنی قطعات ژن ایمونوگلوبولین	۵	AICDA, BATF, TCF3, TGFB1, TNFSF13	/۰.۰۱۸
GO:0016445	تنوع بدنی ایمونوگلوبولین‌ها	۵	AICDA, BATF, TCF3, TGFB1, TNFSF13	/۰.۲۸
GO:0071496	پاسخ سلولی به محرک خارجی	۹	KANK2, LOC101116157, ATG7, MAP3K2, MTMR3, NFKB1, PIK3C2B, PRKAA1, SLC2A1	/۰.۳۸
GO:0002562	تنوع بدنی گیرنده‌های ایمنی از طریق نوترکیبی خط جوانه زنی در داخل یک جایگاه ژنی	۵	AICDA, BATF, TCF3, TGFB1, TNFSF13	/۰.۳۹
GO:0002377	تولید ایمونوگلوبولین	۶	AICDA, BATF, MZB1, TCF3, TGFB1, TNFSF13	/۰.۴۴
GO:0032727	تنظیم مثبت تولید اینترفرون - آلفا	۳	DDX58, TBK1, MAVS	/۰.۰۳۶
GO:0048070	تنظیم رنگدانه رشد	۳	ADAMTS9, GNAQ, KITLG	/۰.۲۶
GO:0002252	فرآیند ایمنی	۲۰	AGBL5, DDX58, FXR2, AICDA, ADAR, ATG7, BATF, CLDN7, LOC101107430, C1S, FAM13B, JAGN1, MZB1, MAVS, PRDX1, PIK3R6, SLC35C1, TGFB1, TGFB2, TNFSF13	/۰.۱۹
GO:0031668	پاسخ سلولی به محرک خارج سلولی	۷	KANK2, LOC101116157, ATG7, MTMR3, PIK3C2B, PRKAA1, SLC2A1	/۰.۳۹
GO:0002208	تنوع بدنی ایمونوگلوبولین‌های درگیر در پاسخ ایمنی	۴	AICDA, BATF, TGFB1, TNFSF13	/۰.۲۹
GO:0002204	نوترکیبی بدنی از ژن‌های ایمونوگلوبولین درگیر در پاسخ ایمنی	۴	AICDA, BATF, TGFB1, TNFSF13	/۰.۱۹
GO:0032647	تنظیم تولید اینترفرون - آلفا	۳	DDX58, TBK1, MAVS	/۰.۰۸۲
GO:0043406	تنظیم مثبت فعالیت MAP کیناز	۷	KITLG, DVL2, PAK1, PDE5A, PIK3R6, PLCE1, TGFB1	/۰.۰۹۶
GO:0002376	فرآیند سیستم ایمنی	۹	AGPAT5, CCL26, BATE, IL17RC, ILF2, TGFB1, TGFB2, TNFSF12, TNFSF13	/۰.۴۶
GO:0080134	تنظیم پاسخ به استرس	۱۲	NT5E, ARL6IP5, CCL24, DDX58, FXR2, GPS2, TBK1, CREB3, HSPH1, IL17RC, SLC35C1, TGFB2	/۰.۰۲۰۱
GO:0032607	تولید اینترفرون - آلفا	۳	DDX58, TBK1, MAVS	/۰.۰۲۵۱
GO:0090263	تنظیم مثبت مسیر عادی سیگنالینگ Wnt	۵	BAMBI, CTDNEP1, RSP03, DVL2, NFKB1	/۰.۳۷۳
GO:0002381	تولید ایمونوگلوبولین در پاسخ ایمنی واسطه ایمونوگلوبولین	۴	AICDA, BATF, TGFB1, TNFSF13	/۰.۱۲۵
GO:0048298	تنظیم مثبت تغییر ایزوتایپ به ایزوتایپ IgA	۲	TGFB1, TNFSF13	/۰.۰۲۰۳
GO:0006952	پاسخ دفاعی	۲۲	NT5E, AGLB5, CCL24, FXR2, NFKBIZ, TBK1, TMF1, ADAR, ATG7, BATF, CLDN7, FAM13B, IL17RC, JAGN1, LDLR, NFKB1, PELL1, PRDX1, PIK3R6, PARP9, PTGDR, PTGS1, SLC35C1, TGFB1, TRIM8	/۰.۳۷۵
GO:0034714	اتصال به گیرنده‌های بتا فاکتور رشد تبدیل‌کننده نوع III	۲	TGFB1, TGFB2	/۰.۰۲۴
GO:0005160	تبدیل اتصال گیرنده بتا به فاکتور رشد	۲	TGFB1, TGFB2	/۰.۰۱۷۶

مرتبط است. استرادا رییس و همکاران (۴) نشان دادند که چندین ژن از *CCL26* به‌عنوان نشانگر بالقوه برای مقاومت در برابر قرار گرفتن در معرض انگل داخلی همونکوس کنتورتوس (نماتد) متعارف شناخته شدند. همچنین در مطالعه‌ای بیان نمودند که شناسایی سیتوکینین‌ها مانند *IL17RC* و *IL23A* ممکن است با مقاومت به انگل داخلی دستگاه گوارش همراه باشد (۲۳). ژن‌های *PRKAA1*، *MAP3K2*، *NFKB1* بر روی کروموزوم ۹ قرار داشتند و در پاسخ سلولی به تحریکات بیرونی نقش دارند. هو و همکاران (۱۱) در بین ژن‌های کاندیدای به‌دست‌آمده از داده‌های توالی‌یابی، لیستی از ژن‌ها (*SOCS2*، *NFKB1*، *CAMK2D*) را نشان دادند که به احتمال زیاد با سازگاری گوسفندان به ارتفاعات در ارتباط هستند. در مطالعه‌ای دریافتند که در صفات شیر، *PRKAA1* با درصد چربی همراه است و ممکن است در متابولیسم چربی مؤثر بر صفات تولید شیر در گاوها باشد (۳۲). ژن *DDX58* بر روی کروموزوم ۳ قرار داشت و در تولید اینترفرون آلفا نقش دارد. در پژوهش انجام‌شده محققین دریافتند که خوشه سوم ژن‌های القایی *LPS* (لیپوبلی ساکارید) در ماکروفاژها، خوشه ۶۴ حاوی زیرمجموعه‌ای از ژن‌های مؤثر ضدویروسی القایی *IFN* از جمله *DDX58*، *IFIT1*، *RSAD2* و *XAF1* است که از طریق موش و انسان القا می‌شوند (۳). ژن *LDLR*، *FAM13B*، *CCL24*، *CLDN7* بر روی کروموزوم ۲۲ قرار گرفته‌اند و در فرآیند پاسخ دفاعی نقش دارند در مطالعه‌ای که انجام شده مشاهده گردید که آنوزینوفیل‌های بالغ فعال‌شده و در پاسخ به شیمی درمانی مختلفی مانند *CCL11*، *CCL24* به محل عفونت مهاجرت می‌کنند (۴). ژن‌های *BAMBI*، *DVL2* بر روی کروموزوم ۵ قرار داشتند و در هموستاز سلولی نقش دارند. کانگ و همکاران (۱۴) در تجزیه و تحلیل شبکه و مسیر، برخی از مسیرهای متعارف اثبات‌شده در طی فرآیند چربی‌سازی و یا فرآیند متابولیک لیپیدی را شناسایی کردند. ژن *PLCE1* بر روی کروموزوم ۷ قرار داشت که در تنظیم پروتئین کیناز فعال‌شده با میتوز نقش دارد. در مطالعه‌ای که محققین انجام دادند *PLCE1* با وزن کلی پروتئین در شیر همراه است و *SUFU* با سیستم پستانداران، تعداد سلول‌های سوماتیک و بقا همراه است (۳۲). ژن‌های *HSPH1*، *FXR2* بر روی کروموزوم ۱۲ قرار گرفته‌اند و در فرآیند تنظیم پاسخ به استرس نقش دارند. در مطالعه‌ای چندین ژن را یافتند که در سازگاری حرارتی در ارتباط هستند (۳۳). نتایج تحقیق حاضر با استفاده از مجموعه متنوعی از نشانه‌های انتخاب منتشر شده در سراسر نژادهای گوسفند در سراسر جهان، رویکرد جدیدی را برای استنتاج نقاط مثبت نشانه‌های انتخاب در ژنوم گوسفند اجرا می‌کند. در مجموع، نتایج این تحقیق می‌تواند منبع اطلاعاتی باارزشی در جهت شناسایی ژن‌های متمایزکننده و شناسایی نواحی ژنومی کاندید برای بسیاری از صفات مهم اقتصادی موجود در برخی از گوسفندان جهان را فراهم آورد.

ژن *ADAMTS9* بر روی کروموزوم شماره ۳ قرار داشت که نقش سازگاری با شرایط محیطی دارد. برخی از این مناطق ژن‌ها به‌طور بالقوه در صفات مورفولوژیکی (*SOCS2*، *MCIR*، *MSRB3*، *NCAPG/LCORL*)، رنگ پوست (*MCIR*) و سازگاری با شرایط محیطی (*ADAMTS9*) نقش دارند (۲۶). ژن *GNAQ* بر روی کروموزوم ۳ قرار داشت که نقش تولید مثلی دارد. در مطالعه‌ای که یورچنکو و همکاران (۳۳) روی ۱۵ نژاد گوسفند نژاد بومی انجام دادند مناطقی را شناسایی کردند که در بین این مناطق شناسایی‌شده، سیگنال‌های قدرتمندی از تمایز در مناطقی که حاوی ژن‌های شناخته‌شده به مورفولوژی، سازگاری و اهلی‌کردن (*KIT*، *KITLG*، *MITF*، *MCIR*)، کیفیت و کمیت پشم (*DSC2*، *DSG2*)، تولید مثل (*UBQLN1*، *GNAQ*، *HTRA1*، *CMTM6*) و *IFT88*) مرتبط هستند. ژن *KITLG* بر روی کروموزوم ۳ قرار داشت که نقش تنظیم ملانوسیت‌ها را بر عهده دارد. فلاچ و همکاران (۶) بسیاری از نشانه‌های انتخاب در اطراف ژن‌های مرتبط در رنگ مو، چشم یا پوست را شناسایی کرده‌اند به‌طور خاص، چندین منطقه شناسایی‌شده شامل ژن‌های کاندیدا هستند که در رشد و مهاجرت ملانوسیت‌ها و رنگدانه‌سازی نقش دارند: *MCIR*، *KITLG*، *KIT*، *EDN3* و *MITF*. ژن‌های *MZB1*، *AICDA*، *TNFSF13*، *BATF* بر روی کروموزوم ۶ قرار داشتند و در تولید ایمونوگلوبولین نقش دارند. هیشیدا و همکاران (۱۰) در مطالعه‌ای که بر روی انسان در بیماری سرطان معده انجام دادند دریافتند که بیان ناهنجار *AICDA* تقریباً به‌عنوان یک جهش‌دهنده ژنومی عمل می‌کند که منجر به ایجاد تومور می‌شود. مکانیسم‌های بررسی شده که با استفاده از آنها *Batf* رونویسی ژن را در تکامل *CD4* سلول‌های T مؤثر انجام می‌دهد. این نتایج نقش مشارکتی *Batf*، *Ets1* و *Ctcf* را در سازماندهی مجدد کروماتین که پایه رونویسی سلول‌های T مؤثر است را مشخص می‌کند (۲۴). گاتیر و وینالیس (۷) به این نتیجه رسیدند که *Mzb1* با تنظیم Ca^{2+} ، ترشحات آنتی‌بادی و فعال‌سازی اینترگرین به تنوع عملکرد سلول‌های محیطی B-cell کمک می‌کند. با تجزیه و تحلیل بلات RNA، رونوشت‌های فراوان *Mzb1* می‌تواند در تمام رده‌های سلولی B تغییر یافته صرف نظر از مرحله تمایز آن‌ها مورد بررسی قرار گیرد. ژن‌های *TGFB1*، *TNFSF13* بر روی کروموزوم ۶ قرار داشتند و در تمایز سلولی نقش ایفا می‌کنند. در مطالعه‌ای که کلارک و همکاران (۳) انجام دادند بیان ژن‌های مورد مطالعه را در بافت‌های حاوی سلول‌های جوانه‌ای در گوسفند نشان می‌دهد که آن‌ها در میوز و تمایز سلولی نقش دارند. ژن‌های *PRDX1*، *ATG7*، *AGBL5* بر روی کروموزوم ۹ و ژن *PTGS1* بر روی کروموزوم ۲۲ قرار گرفته‌اند و در فرآیند ایمنی نقش دارند. الشاوی و همکاران (۱) دریافتند که *PARMI* یک ژن پاسخ ایمنی ذاتی (*BTA6*)، که با فعالیت ضدآپوپتوز خصوصاً در مرحله باروری مرتبط است و *ATG7* (ژن پاسخ ذاتی *BTA22*) با فرآیند اتوفاجی

منابع

1. Alshawi, 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 controtus* 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 Shahrabak, 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 Shahrabak. 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 Ctf. *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