



Genome-wide association study to identify genes and biological pathways related to resistance to bovine tuberculosis based on gene set enrichment analysis

Mohsen Abdollahi¹, Mohammad Hossein Moradi^{2,3}, Amir Hossein Khaltabadi Farahani⁴, Hossein Mohammadi⁵

1. Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture and Environmental Sciences, Arak University, Arak, Iran. Iran. Email: sabzineh0@yahoo.com
2. Corresponding Author, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture and Environmental Sciences, Arak University, Arak, Iran.
3. Corresponding Author, Associate Professor, Department of Animal Sciences, University of Tehran, Karaj, Iran. Emails: Hoseinmoradi@ut.ac.ir, H-Moradi@araku.ac.ir
4. Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture and Environmental Sciences, Arak University, Arak, Iran. Email: amfarahanikh@gmail.com
5. Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture and Environmental Sciences, Arak University, Arak, Iran. Email: h-mohammadi64@araku.ac.ir

Article Info	ABSTRACT	
Article type: Research Article	Identifying biological pathways and genes associated with diseases is one of the most important goals of breeding programs in dairy cattle. The aim of the present study was to conduct a genome-wide association study (GWAS) to identify the genes and biological pathways related to resistance to bovine tuberculosis based on gene set enrichment analysis. In total, the information of 1355 cows (consisting 685 cases and 670 controls) from 178 herds were used, of which 592 cases and 559 controls (healthy cows) were passed different quality control steps. These animals were genotyped by using Illumina BovineHD 700k BeadChip for 727252 SNP markers. Genome-wide association study (GWAS) was investigated using mixed linear logistic models, and regions of the genome that were associated with bovine tuberculosis at the 0.05 level were used for identifying the candida genes and biological pathways associated with bovine tuberculosis based on gene set enrichment analysis. The results of this study finally led to the identification of the pathways such as positive regulation of apoptotic process, cell junction organization, negative regulation of cytokine production and regulation of defense response that were significantly associated with bovine tuberculosis. Further investigation of these pathways showed that most of them are related to the immune system, stress and disease resistance. Also, study of function of the genes that were located in these pathways revealed that the direct association of some of these genes, such as <i>SLC11A1</i> , <i>SLC2A2</i> , and <i>CD80</i> , and the indirect association of genes such as <i>BCL6</i> , <i>HSPD1</i> , <i>KCNMA1</i> , <i>SPP1</i> , <i>CD24</i> , <i>MYO1B</i> , <i>CCL20</i> , and <i>LCP2</i> with disease resistance and bovine tuberculosis has also been confirmed in previous studies. In general, due to the importance of identifying the genes affecting bovine tuberculosis from a scientific and economic point of view, the results of this study show that resistance to bovine tuberculosis is closely related to biological pathways and candidate genes associated with nervous system, innate immunity, inflammatory response, immune response regulation, cell junctions, and glucose homeostasis.	
Article history: Received: 21 December 2024 Received in revised form: 30 January 2025 Accepted: 16 February 2025 Published online: Atumn 2025		
Keywords: <i>Genome-wide association study (GWAS), Gene set enrichment, Bovine Tuberculosis, Holstein dairy cattle.</i>		
Cite this article: Abdollahi, M., Moradi, M. H., Khalatbadi Farahani, A. H. & Mohammadi, H. (2025). Genome-wide association study to identify genes and biological pathways related to resistance to bovine tuberculosis based on gene set enrichment analysis. <i>Iranian Journal of Animal Science</i> , 56 (3), 707-722. DOI: https://doi.org/10.22059/ijas.2025.386966.654049		



© The Author(s).

DOI: <https://doi.org/10.22059/ijas.2025.386966.654049>

Publisher: The University of Tehran Press.

Extended Abstract Introduction

The identification of genes and pathways that influence economically important traits is one of the main goals in the breeding of dairy cattle. Bovine tuberculosis (bTB), poses significant economic challenges to the livestock industry due to its detrimental effects on animal health and productivity. Understanding the genetic

basis of resistance to this disease can facilitate better management practices and breeding strategies aimed at enhancing disease resistance in cattle populations. The objective of this study was to conduct a genome-wide association study (GWAS) to identify genes and biological pathways associated with resistance to bovine tuberculosis through gene set enrichment analysis.

Methods and Materials

In this study, data were collected from a total of 1355 cows, including 685 cases (infected with bTB) and 670 controls (healthy animals), derived from 178 herds. Following various quality control measures, 592 cases and 559 healthy controls retained for further analysis. The genotyping was performed using the Illumina BovineHD 700k BeadChip, which provides comprehensive coverage across the bovine genome with a total of 727252 SNP markers. To investigate associations between SNPs and bovine tuberculosis resistance, mixed linear logistic models were employed. Subsequently, gene set enrichment analysis was conducted on the regions that were associated with bovine tuberculosis at the 0.05 level, to elucidate their biological implications regarding pathways related to immune response, stress regulation, and disease resistance.

Results

Our findings revealed several significant genomic regions linked with bovine tuberculosis susceptibility at $p < 0.05$ level through GWAS analyses. Gene set enrichment analysis led to the identification of the pathways that were significantly associated with bovine tuberculosis. Further investigation of these pathways showed that most of them are related to the immune system, stress and disease resistance. Also, study of function of the genes that were located in these pathways revealed that some of these genes such as *HSPD1*, *BCL6*, *KCNMA1*, *SPP1*, *CD24*, *CD80*, *MYO1B*, *CCL20*, *SLC11A1*, *LCP2* and *SLC2A2*, have also been confirmed to be directly or indirectly associated with disease resistance and bovine tuberculosis in previous studies.

Conclusion

In general, the results of this study elucidate critical biological pathways involved in the mechanisms of disease resistance, specifically in relation to bovine tuberculosis. These findings not only have the potential to improve animal health but also to enhance overall productivity within dairy farms. Furthermore, this research contributes significantly to identifying genomic regions associated with key phenotypic traits, particularly those related to disease resistance, immunity, and adaptability. Given the increasing economic importance of these traits amid observable climatic changes in recent years across various countries, our findings could help future breeding strategies aimed at developing more resilient livestock populations.

Author Contributions

Conceptualization, M.A. and M.H.M; methodology, M.H.M, and H.M; software, M.H.M, and A.H.K.F; validation, M.H.M, and M.A; formal analysis, M.A; investigation, M.H.M, H.M; resources, M.H.M; data curation, M.H.M, A.H.K.F; writing-original draft preparation, M.A; writing-review and editing, M.H.M, A.H.K.F, H.M; visualization, M.H.M; supervision, M.H.M; project administration, M.H.M, H.M; funding acquisition, M.H.M. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.”

Data Availability Statement

This article contains all the data that were created or evaluated during the research.

Acknowledgements

We sincerely thank all authors who made their data available for the present research. The authors also acknowledge the supports and contributions of Arak University for the approval and support of this research.

Ethical considerations

The study was approved by the Ethics Committee of the Agricultural Science and Natural Resources University of Arak, Iran (Code: 1403.0731). The authors avoided data fabrication, falsification, plagiarism, and misconduct.

Conflict of interest

The author declares no conflict of interest.



پوش پیوستگی ژنومی جهت شناسایی ژن‌های کاندیدا و مسیرهای زیستی مرتبط با مقاومت به بیماری سل گاوی بر پایه آنالیز غنی‌سازی مجموعه‌های ژنی

محسن عبداللہی^۱ | محمدحسین مرادی^{۲،۳} | امیرحسین خلت‌آبادی فراہانی^۴ | حسین محمدی^۵

۱. گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و محیط زیست، دانشگاه اراک، اراک، ایران. رایانامه: sabzineh0@yahoo.com

۲. نویسنده مسئول، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و محیط زیست، دانشگاه اراک، اراک، ایران. رایانامه: H-Moradi@Araku.ac.ir

۳. نویسنده مسئول، دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: Hoseinmoradi@ut.ac.ir

۴. گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و محیط زیست، دانشگاه اراک، اراک، ایران. رایانامه: amfarahanikh@gmail.com

۵. گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و محیط زیست، دانشگاه اراک، اراک، ایران. رایانامه: h-mohammadi64@araku.ac.ir

اطلاعات مقاله چکیده

نوع مقاله:

مقاله پژوهشی

شناسایی مسیرهای زیستی و ژن‌های مرتبط با بیماری‌ها یکی از مهم‌ترین اهداف برنامه‌های اصلاح‌نژادی در گاو شیری است. پژوهش حاضر به منظور مطالعه پوش پیوستگی ژنومی جهت شناسایی ژن‌های کاندیدا و مسیرهای زیستی مرتبط با مقاومت به بیماری سل گاوی بر پایه آنالیز غنی‌سازی مجموعه‌های ژنی انجام شد. به این منظور از اطلاعات مجموع، ۱۳۵۵ رأس گاو هلشتاین (۶۸۵ حیوان بیمار و ۶۷۰ حیوان شاهد) از ۱۷۸ گله استفاده شد که پس از انجام مراحل مختلف کنترل کیفیت، اطلاعات ژنوتیپ ۵۹۲ نمونه گاو بیمار و ۵۵۹ نمونه گاو سالم در آنالیزهای نهایی استفاده شدند. تعیین ژنوتیپ این حیوانات با استفاده از تراشه‌های ژنومی Illumina BovineHD 700k BeadChip برای ۷۲۷۲۵۲ جایگاه نشانگری SNP انجام شد. پوش پیوستگی ژنومی (GWAS) با استفاده از مدل‌های خطی مختلط لجستیک مورد بررسی قرار گرفت و مناطقی از ژنوم که در سطح ۰/۰۵ با بیماری سل گاوی در ارتباط بودند به منظور شناسایی ژن‌های کاندیدا و مسیرهای زیستی مرتبط با مقاومت به بیماری سل گاوی بر پایه آنالیز غنی‌سازی مجموعه‌های ژنی استفاده شد. نتایج این تحقیق در نهایت منجر به شناسایی مسیرهایی، از قبیل مسیرهای تنظیم مثبت فرایند آپوپتوز، سازمندی اتصالات سلولی، تنظیم منفی تولید سیتوکین و تنظیم پاسخ دفاعی شد که به طور معنی‌داری با بیماری سل گاوی در ارتباط بودند. بررسی این مسیرها نشان داد که اغلب آنها با سیستم ایمنی، کنترل استرس و مقاومت در برابر بیماری‌ها در ارتباط هستند. همچنین ارزیابی عملکرد ژن‌های موجود در این مسیرها نشان داد که ارتباط مستقیم برخی از این ژن‌ها مانند *SLC11A1*، *SLC2A2* و *CD80* و غیر مستقیم ژن‌هایی مانند *BCL6*، *HSPD1*، *KCNMA1*، *SPP1*، *CD24*، *MYO1B*، *CCL20* و *LCP2* با مقاومت به بیماری‌ها و سل گاوی در تحقیقات گذشته نیز تأیید شده است. در مجموع، با توجه به اهمیت شناسایی جایگاه‌های ژنی تأثیرگذار بر سل گاوی از دیدگاه علمی و اقتصادی، نتایج این تحقیق نشان می‌دهد مقاومت به بیماری سل گاوی با مسیرهای زیستی و ژن‌های کاندیدای مرتبط با سیستم عصبی، ایمنی ذاتی، پاسخ به التهابات، تنظیم پاسخ ایمنی، اتصالات سلولی و هموستازی گلوکز ارتباط نزدیکی دارد.

کلیدواژه‌ها:

پوش کل ژنومی، غنی‌سازی مجموعه ژنی، سل گاوی، گاو شیری هلشتاین

استناد: عبداللہی، محسن؛ مرادی، محمدحسین؛ خلت‌آبادی فراہانی، امیرحسین و محمدی، حسین (۱۴۰۴). پوش پیوستگی ژنومی جهت شناسایی ژن‌های کاندیدا و مسیرهای زیستی مرتبط با مقاومت به بیماری سل گاوی بر پایه آنالیز غنی‌سازی مجموعه‌های ژنی. نشریه علوم دامی ایران، ۵۶ (۳)، ۷۹۴۹-۷۰۷. DOI: <https://doi.org/10.22059/ijas.2025.386966.654049>

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.



© نویسندگان.

DOI: <https://doi.org/10.22059/ijas.2025.386966.654049>

مقدمه

عفونت سل گاوی^۱ (bTB) به عنوان یکی از دغدغه‌های مهم اقتصادی پرورش گاو شیری در بسیاری از کشورهای جهان محسوب می‌شود. هزینه‌های سالانه برای کنترل این بیماری در انگلیس و ایرلند به ترتیب ۱۹۰ و ۶۳ میلیون یورو گزارش شده است (Abernethy et al., 2013). این بیماری، پیامدهای جدی در تجارت بین‌المللی و صادرات محصولات دامی از جمله گوشت گاو به همراه دارد و از طرف دیگر یک نگرانی برای بهداشت عمومی از طریق توسعه بیماری و انتقال به انسان محسوب می‌شود (Allen et al., 2018). این نگرانی‌ها به ویژه در کشورهای در حال توسعه بیشتر نیز می‌شود چرا که در این مناطق عمدتاً انسان و دام‌ها در مجاورت یکدیگر زندگی می‌کنند. هر چند عامل پاتوژن بیماری سل گاوی (Mycobacterium bovis) با سل انسانی (Mycobacterium tuberculosis) متفاوت است اما در انسان نیز می‌تواند موجب بروز بیماری شود. در مقیاس جهانی، تخمین زده می‌شود که این پاتوژن باعث ایجاد ۱۵-۱۰٪ موارد ابتلا به سل انسانی در کشورهای در حال توسعه می‌باشد (Michel et al., 2010) و از نظر تأثیر بر سلامت انسان و اقتصاد در این کشورها چهارمین بیماری مهم دامی محسوب می‌شود (Perry et al., 2002). شیوع رو به رشد این بیماری در کشورهای مختلف و محدودیت‌های موجود در روش‌های تشخیصی و کنترلی نیاز به تدوین رویکردهای جدید برای کمک به کنترل این بیماری را ضروری می‌کند.

یک روش بالقوه کنترل این بیماری شناسایی حیواناتی است که از نظر ژنتیکی نسبت به bTB مقاوم‌تر هستند (Abernethy et al., 2013)، زیرا بسیاری از شواهد نشان می‌دهد که ژنتیک میزبان به طور قابل توجهی در کنترل عفونت به بیماری سل تأثیرگذار می‌باشد و موجودات مختلف در برابر این بیماری طیف وسیعی از پاسخ‌ها را نشان می‌دهند (Perry et al., 2010; Michel et al., 2002). بطور کلی انتخاب شدید برای افزایش تولید شیر در گاوهای هلشتاین طی دهه‌های اخیر سبب کاهش عملکرد حیوانات در برابر برخی از صفات از جمله کاهش مقاومت دام و به دنبال آن افزایش بیماری‌هایی نظیر سل گاوی شده است. با وجود پنج دهه آزمایش اجباری پوست و کشتار در بسیاری از کشورهای دنیا از جمله انگلیس و ایرلند هنوز این کشورها درگیر بیماری سل گاوی می‌باشند (Abernethy et al., 2013). با توسعه ابزارهای ارزیابی ژنومی در طی سال‌های اخیر یکی از روش‌های بالقوه جهت شناسایی و انتخاب دام‌های مقاوم که اخیراً مورد توجه قرار گرفته است بهره‌برداری از تنوع ژنتیکی حیوانات در مقاومت میزبان در برابر bTB می‌باشد. هدف از این استراتژی این است که گاوهایی که از نظر ژنتیکی نسبت به عفونت به سل گاوی مقاوم هستند را انتخاب کنند و سایر روش‌های کنترل را نیز توسعه دهند (Alonso-Hearn et al., 2022). انتخاب حیوانات مقاوم در این استراتژی نیازمند شناسایی مناطقی از ژنوم است که با این صفت در ارتباط می‌باشند.

در سال‌های اخیر مطالعات متعددی برای شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با مقاومت به بیماری سل گاوی انجام شده است. چندشکلی در ژن‌های کاندید *SLC11A1* در گاوهای زبو آفریقایی (Kadarmideen et al., 2011)، *TLR1* در هلشتاین چینی (Sun et al., 2012)، و ژن‌های *IL10RA* و *IL12RB2* در گاوهای بومی ایتالیایی (Mazzone et al., 2023) ارتباط معنی‌داری را با ابتلا به سل گاوی نشان داده است. عمده تحقیقات انجام شده در سال‌های اخیر بر پایه مطالعه پیوستگی در سطح ژنوم (GWAS) انجام شده است که در نتیجه آنها ژن‌های کاندیدای متعددی در گاوهای هلشتاین مانند *SLC6A6* (Finlay et al., 2012)، *PTPRT* و *MYO3B* (Bermingham et al., 2014)، *FKBP5* (Richarson et al., 2016)، *CD80*، *CTSS*، *FCGR1A*، *HFE*، *IL21R* و *ANO9* (González-Ruiz et al., 2019) و *SIL1R* (Canive et al., 2022) گزارش شده است. بنابراین، در مجموع نتایج تحقیقات گذشته نشان می‌دهد کنترل ژنتیکی مقاومت به بیماری سل در گاوها احتمالاً دارای سازوکار پیچیده‌ای است و شامل تعداد زیادی مکان ژنی با اثرات متفاوت است.

یکی از مشکلات پژوهش‌های مبتنی بر GWAS در نظر گرفتن آستانه معنی‌داری برای جلوگیری از بروز خطای نوع اول است که این عمل باعث می‌شود SNP‌های دارای اثر معنی‌دار پایین‌تر از آستانه در نظر گرفته نشوند (محمدی و همکاران، ۱۴۰۱). از طرفی در مطالعات GWAS به بررسی منفرد نشانگرها پرداخته می‌شود که با توجه به اینکه اکثر نشانگرها فقط با جهش‌های سببی در عدم تعادل هستند، ممکن است در جمعیت دیگر این ارتباط متفاوت باشد. لذا تکرارپذیری پایین این تحقیقات می‌تواند در نتیجه عدم حضور جهش‌های سببی و همچنین فراوانی بسیار کم در بین ژنوتیپ‌ها و توجه درصد محدودی از واریانس ژنتیکی توسط مجموع جهش‌های معنی‌دار در مطالعات GWAS باشد (Vischer et al., 2010). یکی از راهکارهای مناسب برای حل این مشکل، انجام مطالعات پویش کامل ژنوم بر پایه آنالیز غنی‌سازی مجموعه‌های ژنی است. در واقع در این روش به جای انجام تجزیه برای یک SNP یا یک ژن، ارتباط بین صفت مورد مطالعه و واریانت‌های ژنتیکی در یک دسته یا گروه ژنی که به طور عملکردی با هم مرتبط هستند بررسی می‌شود. به عبارتی دیگر، تجزیه و تحلیل پیوستگی بین یک مجموعه ژنی معنی‌دار زیستی با فنوتیپ مورد آزمون قرار می‌گیرد. در این روش ژن‌هایی مورد بررسی قرار می‌گیرند که به تنهایی اثر آنها بر صفت مورد نظر معنی‌دار نشده و دارای اثرات متوسط هستند، اما اثر تجمعی آنها روی صفت معنی‌دار می‌شود (عزیزپور و همکاران، ۱۳۹۹). از این روش به طور موفقیت‌آمیزی برای شناسایی مناطق ژنومی مؤثر بر صفت نرخ باروری گاوهای نر (Peñagaricano et al., 2013)، تولید شیر در گاو هلشتاین (عزیزپور و همکاران، ۱۳۹۹)، خلق و خوی در گاو براهمن (محمدی و همکاران، ۱۴۰۱) و ورم‌پستان در گاو شیری (Brajnik and Ogorevc, 2023) استفاده شده است. علاوه بر این، اپی ژنوم شامل مکانیسم‌های مختلفی است، به عنوان مثال متیلاسیون DNA، بازسازی مجدد، اصلاحات دم هیستون، microRNAهای کروماتین و RNAهای بلند غیر کدکننده، با عوامل محیطی مانند تغذیه، عوامل بیماری‌زا، و آب و هوا برای تأثیر بر مشخصات بیان ژن‌ها و ظهور فنوتیپ‌های خاص در تعامل هستند (Barazandeh et al., 2016). تعاملات چند سطحی بین ژنوم، اپی ژنوم و عوامل محیطی ممکن است رخ دهد (Amiri Roudbar et al., 2020). همچنین، شواهد متعددی حاکی از تأثیر تنوع اپی ژنوم بر سلامت و تولید است (Alavi et al., 2022). بیان ژن‌های یوکاریوتی به طور موقت و چند بعدی کنترل می‌شود. تنها مجموعه نسبتاً کوچکی از کل ژنوم در هر نوع بافت بیان می‌شود و بیان ژن‌ها به مرحله رشد بستگی دارد (Heidarpour et al., 2011; Khabiri et al., 2023). بنابراین، بیان ژن در یوکاریوت‌ها برای هر بافت خاص است (Safaei et al., 2023). همچنین میزان فراورده‌های ژنی که در همان بافت و همچنین سایر بافت‌های سازنده آن محصول ساخته می‌شود، بیان آن ژن را تنظیم می‌کند. یکی از فعالیت‌های اساسی، مطالعه ژن‌ها و پروتئین‌های مرتبط با صفات و بررسی آنها در سطح سلولی یا کروموزومی است (Bordbar et al., 2022; Mohammadabadi et al., 2024).

با توجه به اینکه بر اساس بررسی منابع انجام شده تاکنون تحقیقی در این زمینه برای شناسایی مسیرهای زیستی مرتبط با سل گاو انجام نشده است، هدف از این تحقیق انجام مطالعات پویش کل ژنومی (GWAS) بر پایه آنالیز غنی‌سازی مجموعه-های ژنی جهت شناسایی ژن‌های کاندید و مسیرهای زیستی مرتبط با مقاومت به بیماری سل در گاوهای هلشتاین بود. لذا به عنوان یکی از اولین مطالعات انجام شده بر پایه تجزیه و تحلیل غنی‌سازی مجموعه ژنی، انتظار می‌رود مسیرهای شناسایی شده در این پژوهش ما را به سمت ژن‌های مؤثر بر سل در گاوهای هلشتاین هدایت نماید.

روش‌شناسی پژوهش

داده‌ها و اطلاعات مورد نیاز

در این تحقیق از اطلاعات ژنومی مربوط به ۱۳۵۵ رأس گاو هلشتاین شامل ۶۸۵ حیوان بیمار و ۶۷۰ حیوان سالم استفاده شد که از ۱۷۸ گله در کشور ایرلند جمع‌آوری شده بودند. تشخیص بیماری سل گاوی در حیوانات و گروه‌بندی آنها بر پایه آزمون توپرکولین مقایسه‌ای داخل جلدی (SICTT) انجام شده است که جزئیات این آزمون و نحوه جمع‌آوری داده‌ها به ترتیب

1. Causal mutations
2. Single intradermal comparative tuberculin test (SICTT)

توسط Abernethy و همکاران (۲۰۰۶) و Bermingham و همکاران (۲۰۱۴) ارائه شده است. تعیین ژنوتیپ این حیوانات با استفاده از تراشه‌های ژنومی Illumina BovineHD 700k BeadChip برای ۷۲۷۲۵۲ جایگاه نشانگری SNP انجام شده است. داده‌های ژنوتیپی و رکوردهای فنوتیپی مورد استفاده در این تحقیق در پایگاه ذخیره‌ای برخط Dryad به آدرس <https://doi.org/10.5061/dryad.519bm> در دسترس می‌باشد.

بررسی کنترل کیفیت داده‌ها

کنترل کیفیت حیوانات و نشانگرهای SNP تعیین ژنوتیپ شده طی دو مرحله انجام شد. ابتدا حیواناتی که دارای نرخ فراخوانی ژنوتیپی کمتر از ۹۰٪ و همچنین میانگین امتیاز GC کمتر از ۰/۶۵ بودند از آنالیزهای بعدی کنار گذاشته شدند. سپس نشانگرهایی که دارای فراوانی آلل نادر^۳ (MAF) کوچکتر از ۰/۰۵ و همچنین نرخ فراخوانی نشانگری کمتر از ۹۰٪ بودند حذف شدند (Bermingham et al., 2014). برای کنترل کیفیت داده‌ها و انجام دو مرحله بالا از نرم‌افزار PLINK نسخه ۱/۹ استفاده شد (Purcell et al., 2007). بطوریکه در نهایت اطلاعات ژنوتیپی ۱۱۵۱ حیوان (شامل ۵۹۲ حیوان بیمار و ۵۵۹ حیوان شاهد)، برای ۶۱۷۰۱۰ جایگاه نشانگری جهت انجام آنالیزهای بعدی مورد استفاده قرار گرفت.

آنالیزهای آماری پوشی پیوستگی در سطح ژنوم (GWAS)

این آنالیز به منظور شناسایی اثرات افزایشی تمام نشانگرهای SNP تأثیرگذار بر مقاومت به بیماری سل در گاوهای هلشتاین با سطح معنی‌داری ۰/۰۵ انجام شد. ابتدا برای تعیین اثرات ثابت موثر بر صفت مورد مطالعه یک تجزیه لجستیک اولیه با استفاده از رویه GLM در محیط R نسخه ۴/۳/۱ انجام شد، تا اثرات ثابت معنی‌دار به عنوان عوامل ثابت در تجزیه و تحلیل‌های پیوستگی در نظر گرفته شوند. اثرات ثابت مورد بررسی شامل سن، گله، فصل، و سال بودند. سپس آنالیزهای پیوستگی ژنومی بین ژنوتیپ‌ها و فنوتیپ‌ها برای همه نشانگرهای SNP که مراحل کنترل کیفیت را گذارنده بودند، بر پایه مدل‌های لجستیک با استفاده از PLINK نسخه ۱/۹ (Purcell et al., 2007) مورد ارزیابی قرار گرفت. برای مشاهده توزیع معنی‌داری نشانگرها در سطح ژنوم از گراف منهن استفاده شد. برای ترسیم گراف‌های منهن که موقعیت ژنومی نشانگرها را در مقابل مقدار p در نظر گرفته شده ترسیم می‌نماید، از نرم‌افزار SNPEVG نسخه ۳/۲ استفاده گردید (Wang et al., 2012).

آنالیز غنی‌سازی مجموعه‌های ژنی

آنالیزهای غنی‌سازی مجموعه‌های ژنی با هدف شناسایی نواحی ژنومی، ژن یا ژن‌های موثر بر عملکرد صفت، تعیین مسیرهای بیولوژیکی و تخصیص عملکرد و خصوصیات بیولوژیکی به ژن‌ها و ارتباط آن با فنوتیپ، انجام می‌شود (Wang et al., 2015) که به طور کلی مراحل آن عبارتند از (Mooney et al., 2014):

تخصیص یا ارتباط دادن نشانگرهای SNP به ژن‌های مربوطه

SNP‌هایی که سطح معنی‌داری آنها کمتر از ۰/۰۵ بود با استفاده از بسته نرم‌افزاری biomaRt2 در محیط R نسخه ۳/۶/۱ با دستور getBM و با استفاده از ژنوم مرجع گاو (*Bos taurus* UMD 3.0) به ژن‌هایی که نشانگر SNP موردنظر در داخل آن ژن و یا 30 kb بالادست یا پایین‌دست آن ژن (Peñagaricano et al., 2013) قرار داشت، ارتباط داده شدند. برای تفسیر بهتر عملکرد ژن‌های به دست آمده از پایگاه‌های اطلاعاتی آنلاین GeneCards (<http://www.genecards.org>) و UniProtKB (<http://www.uniprot.org>) استفاده گردید.

1. Animal call rate
2. Genotype Call Score
3. Minor Allele Frequency
4. SNP Call Rate
1. GO terms

تخصیص ژن‌ها به گروه‌های عملکردی^۱ و مسیرهای بیولوژیکی

جهت تعیین طبقات عملکردی ژنی و مسیرهای متابولیکی و تنظیمی ژن‌های معنی‌دار از نرم‌افزار GO2MSIG (<http://www.go2msig.org/cgibin/prebuilt.cgi?taxid=9913>) استفاده شد. برنامه GO2MSIG از پنج پایگاه اطلاعاتی شامل هستی‌شناسی ژن (GO, <http://www.geneontology.org>)، مسیر بیوشیمیایی KEGG (<http://www.genome.jp/keg>)، Panther (<http://www.pantherdb.org>)، Metacyc (<http://www.reactome.org>) و Reactome جهت تعیین طبقات عملکردی و مسیرهای بیوشیمیایی استفاده می‌نماید. در این مرحله فرض بر این است که ژن‌هایی که در یک طبقه عملکردی قرار می‌گیرند، می‌توانند به‌عنوان یک گروه از ژن‌هایی که برخی از ویژگی‌های خاص و مشترک مانند شرکت در سه فرایند هستی‌شناسی شامل فرایندهای زیستی، عملکرد مولکولی و اجزای سلولی را دارند، در نظر گرفته شوند. ژن‌هایی که به این ترتیب به GO یا مسیرهای مشابهی اختصاص داده شدند، به عنوان اعضای از یک مجموعه ژنی می‌باشند که نسبت به یک صفت، مرتبط‌تر هستند.

آنالیز ارتباطی بین هر GO و فنوتیپ صفت مورد مطالعه

ارتباط‌های معنی‌دار مسیرهای عملکردی با صفت مقاومت به بیماری سل گاوی با استفاده از توزیع فوق هندسی و آماره Fisher's exact test مورد آزمون قرار گرفت. P-value مسیرهای عملکردی با سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ که تعداد k ژن معنی‌دار در آن قرار دارد با کمک رابطه زیر محاسبه شد (محمدی و همکاران، ۱۴۰۱):

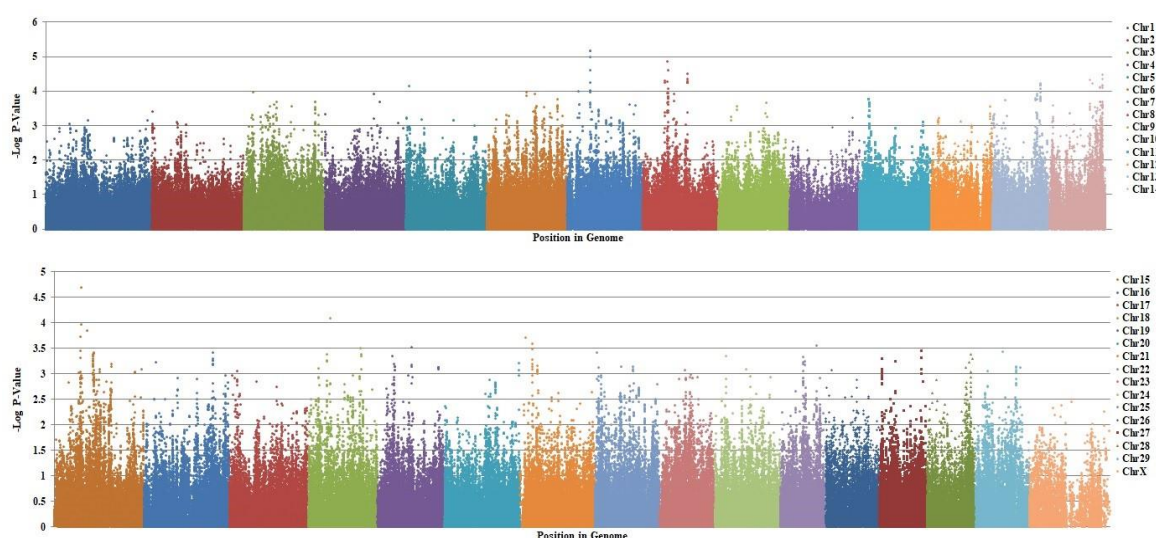
$$P - Value = 1 - \sum_{i=1}^{k-1} \frac{\binom{S}{i} \binom{N-S}{m-i}}{\binom{N}{m}}$$

که در این رابطه k، برابر با تعداد ژن‌های معنی‌دار در طبقه عملکردی؛ S، برابر با تعداد کل ژن‌های معنی‌دار مرتبط با صفت موردبررسی؛ N، برابر با کل تعداد ژن‌هایی که در این مطالعه تجزیه و تحلیل شدند و m، برابر با تعداد کل ژن‌های موجود در مسیر عملکردی می‌باشد. تجزیه غنی‌سازی مجموعه ژنی با استفاده از بسته نرم‌افزاری goseq در محیط نرم‌افزار R نسخه ۳/۶/۱ انجام شد.

یافته‌های پژوهشی و بحث

مطالعه پویش پیوستگی ژنومی (GWAS)

مطالعه پویش پیوستگی ژنومی جهت شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با بیماری سل گاوی انجام و نتایج حاصل بصورت گراف منهتن در شکل ۱ نمایش داده شده است. در این شکل هر چه ارزش p-value هر نشانگر SNP بیشتر باشد نشان‌دهنده ارتباط بیشتر آن نشانگر با بیماری سل گاوی بر اساس مطالعات پویش ژنومی در این تحقیق است. نتایج حاصل نشان داد هرچند معنی‌دارترین نشانگرهای مرتبط با این صفت روی کروموزوم‌های ۷، ۸، ۱۵ و ۱۴ قرار دارند (شکل ۱)، اما بیشترین تعداد نشانگر معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ مربوط به کروموزوم‌های ۶ (۲۱۶۱ نشانگر)، ۳ (۱۸۷۸ نشانگر)، ۷ (۱۸۵۶ نشانگر) و ۱ (۱۳۷۷ نشانگر) بودند.



شکل ۱. گراف منهن مطالعه پویش پیوستگی ژنومی (GWAS) برای بیماری سل گاوی: در این گراف روی محور X موقعیت SNPها در کروموزومهای مختلف و روی محور Y ارزشهای منفی لگاریتم مربوط به P-Value پیوستگی در سطح ژنوم برای بیماری سل گاوی نمایش داده شده است. نتایج مربوط به ۱۴ کروموزوم روی گراف بالا و بقیه کروموزومها در گراف پایین قابل مشاهده است. در این گراف کلیه نشانگرهای SNP که دارای ارزش بالای $1/3$ و 2 هستند به ترتیب در سطح معنی داری $0/05$ و $0/01$ با صفت مورد مطالعه در ارتباط می‌باشند.

آنالیز GWAS بر پایه عدم تعادل پیوستگی (LD) بین نشانگر SNP و واریانتهای علی استوار هستند. در این مطالعات به دلیل این که میزان LD بین نشانگرهای SNP و واریانتهای علی در سطح جمعیت معمولاً کم است و از طرف دیگر سطح معنی داری جهت انتخاب و گزارش نشانگرهای مرتبط با صفات با استفاده از آزمونهای چندگانه (مانند آزمون بنفرونی یا نرخ تشخیص اشتباه FDR) بسیار پایین است (Kadarmideen, 2014)، در نتیجه تعداد بسیار کمی نشانگر در نهایت باقی می‌ماند، که می‌تواند بخش کوچکی از کل واریانس ژنتیکی را توجیه و توصیف نماید. این نکته سبب چشم‌پوشی از SNPها و نواحی ژنومی کمتر معنی دار، و در نتیجه از دست دادن بعضی از ژنهای کاندید کلیدی و مسیرهای وابسته می‌شود (Peñagaricano *et al.*, 2013). مطالعات GWAS علاوه بر این که اثر متقابل بین نشانگرها را در نظر نمی‌گیرند، دارای معایبی از قبیل عدم تایید نتایج حاصل از یک جمعیت، در جوامع دیگر تحت عنوان وراثت‌پذیری گمشده می‌باشند (Visscher *et al.*, 2012). در نظر گرفتن اثر بین ژن‌ها در یک مجموعه ژنی به عنوان یکی از راهبردهای مؤثر در جهت کاستن این محدودیت‌ها پیشنهاد شده است (Chen *et al.*, 2016). تئوری غنی‌سازی مجموعه ژنی علاوه بر این که امکان مطالعه نقش ژن‌ها در مسیرهای زیست‌شناسی را فراهم می‌آورد، با تجزیه و تحلیل مجموعه‌ای از ژنهای مؤثرتر بر تغییر بروز صفات، امکان شناسایی نشانگرهای مؤثر بر بروز صفت با صحت بالاتر را نیز فراهم می‌سازد (Mazzoni *et al.*, 2017).

تجزیه و تحلیل غنی‌سازی مجموعه‌های ژنی

پس از انجام GWAS جهت شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با بیماری سل گاوی، کلیه ژنهای گزارش شده در مناطقی که در سطح $0/05$ با این صفت در ارتباط بودند ($-\text{Log P-Value} > 1.3$) شناسایی شد و سپس جهت تجزیه و تحلیل غنی‌سازی مجموعه‌های ژنی معنی دار مرتبط با بیماری سل مورد استفاده قرار گرفت. قابل ذکر است با توجه به اینکه در این مطالعه تعداد جایگاههای نشانگری معنی دار در سطح $0/05$ ، شامل ۲۷۸۸۱ SNP (از مجموع ۶۱۷۰۱۰ جایگاه نشانگری SNP مورد بررسی) بود، تعداد ۱۶۲۶ ژن در داخل یا مجاورت نشانگرهای معنی دار شناسایی شدند. در نتیجه تعداد زیادی مسیرهای هستی‌شناسی در سه بخش فرآیندهای بیولوژیکی، اجزای سلولی و عملکرد مولکولی شناسایی شدند که پس از بررسی عملکرد

هر کدام از GO Term ها، تنها مسیرهایی که با سیستم ایمنی ذاتی، اکتسابی و مقاومت به بیماری مرتبط و معنی‌دار بودند، در جدول ۱ گزارش شدند.

جدول ۱. تجزیه و تحلیل غنی‌سازی مجموعه‌های ژنی معنی‌دار مرتبط با بیماری سل گاوی

ارزش- تصحیح شده (Adjusted p-value)	ژن‌های کاندیدای در هر مسیر in each of the (Candidate genes Term)	کل ژن‌های موجود در مسیر (No. genes in the GO term)	نام مسیر (براساس سلسله مراتبی) (GO Term)	کد هستی شناسی (GO ID)
فرایند زیستی (Biological process)				
1.21E-05	<i>BCL6</i> , <i>HSPD1</i> , <i>KCNMA1</i> , <i>BIN1</i> , <i>MPP5</i> , <i>ECT2</i> , <i>FRZB</i> , <i>RHOB</i> , <i>ERBB4</i>	31	Positive regulation of apoptotic process	GO:0043065
1.96E-03	<i>SPP1</i> , <i>IBSP</i> , <i>IFT80</i> , <i>NOG</i> , <i>PSMC2</i> , <i>RRAS2</i> , <i>SEMA7A</i> , <i>TMEM119</i>	8	Cell junction organization	GO:0034330
2.45E-03	<i>BCL6</i> , <i>DNAJB6</i> , <i>WASF2</i> , <i>CORO1C</i> , <i>DOCK2</i> , <i>FLNB</i> , <i>PALLD</i> , <i>XIRP1</i>	8	Positive regulation of immune response to tumor cell	GO:0002839
4.18E-03	<i>WDPCP</i> , <i>CORO1C</i> , <i>RAC1</i>	3	Execution phase of apoptosis	GO:0097194
1.5E-2	<i>BCL6</i> , <i>CD24</i> , <i>ATR</i> , <i>CD47</i> , <i>CD86</i> , <i>CD96</i> , <i>POLQ</i> , <i>EPHB1</i>	56	Regulation of response to stress	GO:0080134
3.0E-2	<i>CD24</i> , <i>CFLAR</i> , <i>EPHA2</i> , <i>NCK1</i> , <i>OPA1</i> , <i>PINK1</i> , <i>SKIL</i>	32	Apoptotic signaling pathway	GO:0097190
3.0E-2	<i>BCL6</i> , <i>CD24</i> , <i>CD96</i> , <i>EPHA2</i> , <i>NMI</i> , <i>S100B</i> , <i>TIGIT</i> , <i>APOD</i> , <i>FN1</i> , <i>GHSR</i>	14	Negative regulation of cytokine production	GO:0001818
3.2E-2	<i>EPHA2</i> , <i>S100B</i> , <i>APOD</i> , <i>MUL1</i>	4	Negative regulation of chemokine production	GO:0032682
3.4E-2	<i>CUL3</i> , <i>DRD3</i> , <i>ECT2</i> , <i>PKP4</i> , <i>TAS1R2</i>	5	Positive regulation of cytokinesis	GO:0032467
4.3E-2	<i>CUL3</i> , <i>DRD3</i> , <i>ECT2</i> , <i>PIK3R4</i> , <i>PKP4</i> , <i>PRPF40A</i> , <i>TAS1R2</i>	7	Regulation of cytokinesis	GO:0032465
5.0E-2	<i>ALS2</i> , <i>ATP13A2</i> , <i>ERCC3</i> , <i>ETV5</i> , <i>NDUFB4</i> , <i>PINK1</i> , <i>APOD</i> , <i>CRYAA</i>	18	Response to oxidative stress	GO:0006979
6.7E-2	<i>CD24</i> , <i>CD80</i> , <i>CD86</i> , <i>NCK1</i> , <i>SATB1</i> , <i>HES1</i> , <i>IGFBP2</i>	11	T cell proliferation	GO:0042098
9.2E-2	<i>BCL6</i> , <i>MYO1B</i> , <i>GPR17</i> , <i>AHSG</i> , <i>APOD</i> , <i>CPA3</i> , <i>GHSR</i>	28	Regulation of defense response	GO:0031347
9.5E-2	<i>CCL20</i> , <i>CXCR1</i> , <i>ACKR4</i> , <i>PADI2</i> , <i>ROBO1</i> , <i>TFF2</i>	6	Chemokine-mediated signaling pathway	GO:0070098
عملکرد مولکولی (Molecular Function)				
4.08E-03	<i>SLC11A1</i> , <i>USO1</i> , <i>VPS29</i> , <i>AP1S3</i> , <i>COG2</i> , <i>IPO13</i> , <i>IPO7</i> , <i>KPNA5</i>	8	Protein transporter activity	GO: 0008565
اجزای سلولی (Cellular component)				
2.05E-03	<i>LCP2</i> , <i>SLC2A2</i> , <i>WASF2</i> , <i>WTIP</i> , <i>CLIC4</i> , <i>MAGI3</i> , <i>NRCAM</i> , <i>PKD2</i> , <i>TENM2</i>	9	Cell-cell junction	GO: 0005911
			ECM-receptor interaction	KEGG

* ژن‌های کاندیدای مرتبط با مقاومت به بیماری‌ها و بیماری سل گاوی به شکل ایتالیک و پررنگ مشخص شده‌اند.

همانطور که در جدول ۱ قابل مشاهده است نتایج تحقیق حاضر بر پایه غنی‌سازی مجموعه ژنی نهایتاً منجر به شناسایی مسیرهایی شد که ارتباط معنی‌داری با بیماری سل گاوی داشتند. بررسی ژن‌های موجود در هر مسیر نشان داد که برخی از آنها در تحقیقات قبلی نیز به عنوان ژن کاندیدا برای مقاومت به بیماری‌های مختلف گزارش شده‌اند که به طور مستقیم یا غیر مستقیم می‌تواند با بیماری سل در ارتباط باشند. در زیر با جزئیات بیشتر به برخی از این مسیرها و ژن‌های کاندید در هر مسیر اشاره می‌شود.

از مسیرهای مهم و معنی‌دار مرتبط با بیماری سل می‌توان به مسیر تنظیم مثبت فرآیند آپوپتوز اشاره کرد که از بین ژن‌های معنی‌دار در این مسیر، ارتباط معنی‌داری بین ژن‌های کاندیدای *BCL6*، *HSPD1* و *KCNMA1* در مطالعات قبلی با بیماری‌های مختلف گزارش شده است. Frie و همکاران (۲۰۱۸) در مطالعه‌ای بر روی گاوهای مبتلا به بیماری لوسمی ویروسی گاوی (BLV) نشان دادند که میزان بیان ژن کاندیدای *BCL6* با مقاومت حیوانات به این بیماری در ارتباط می‌باشد. این ژن در مجموعه‌های ژنی مرتبط با مسیرهای متعددی در این تحقیق شناسایی شده است (جدول ۱) که به نظر می‌رسد یکی از ژن‌های کاندیدای مهم شناسایی شده در این تحقیق می‌باشد. در تحقیقات مختلف دیگری نیز نشان داده شده است که ژن کاندیدای *HSPD1* با ایمنی ذاتی در گاو و بسیاری از گونه‌های دیگر در ارتباط است (Prohaszka and Fust, 2004; Donaldson et al., 2005). از طرفی Pineda و همکاران (۲۰۲۱) گزارش کردند که ژن کاندیدای *KCNMA1* در این مسیر، در اختلالات عصبی نقش دارد.

از دیگر مسیرهای هستی‌شناسی معنی‌دار مرتبط با مقاومت به بیماری، مسیر سازماندهی اتصالات سلولی می‌باشد که از میان ژن‌های کاندیدای موجود در این مسیر، ژن *SPP1* بیشترین ارتباط را با پاسخ به سیستم ایمنی نشان داده است. Alain و همکاران (۲۰۰۹) با بررسی گاوهای نر با مقادیر ارزش‌های اصلاحی بالا برای امتیاز سلول‌های بدنی (SCS)، که نشانگر سلامت غدد پستانی است، چهار چندشکلی در توالی ژنومی *SPP1* گزارش کرد که با مقاومت حیوانات به بیماری ورم‌پستان در ارتباط می‌باشد. در مطالعه‌ای روی بلدرچین ژاپنی مشخص گردید ژن کاندیدای *SSP1* همراه با ژن *IL26* نقش کلیدی در پاسخ به التهاب داشتند (Dudemaine et al., 2014).

مسیر تنظیم منفی تولید سیتوکین یکی دیگر از مسیرهای مرتبط با مقاومت به بیماری بود. از بین ژن‌های معنی‌دار در این مسیر مرتبط با سیستم ایمنی می‌توان ژن *CD24* را نام برد. در مطالعه با فراتحلیل اثر چندشکلی موجود در ژن کاندیدای *CD24* با بیماری التهاب روده نشان داده شد که این ژن با پاسخ به التهاب در ارتباط می‌باشد (Huang et al. 2015). در ضمن یکی از خانواده‌های این ژن به نام *CD80* که در مسیر T cell proliferation تحقیق حاضر نیز مشاهده می‌شود در طی یک مطالعه GWAS در گاوهای هلشتاین مکزیکی به عنوان ژن کاندیدا برای بیماری سل گاوی گزارش شده است (González-Ruiz et al., 2019).

ژن *MYO1B* در مسیر تنظیم پاسخ دفاعی یکی دیگر از ژن‌های کاندیدی است که در تحقیقات قبلی به عنوان یکی از ژن‌های مؤثر بر سیستم ایمنی حیوانات مشاهده شد. Chen و همکاران (۲۰۲۳) با هدف شناسایی ژن‌های کلیدی موجود در بافت‌های اپتلیال پستان گاوهای شیری در پاسخ به به اشريشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس چهار سری داده میکروآرایه را با استفاده از سامانه‌های تلفیقی با هم ترکیب کردند. نتایج آنها نشان داد که ژن *MYO1B* یکی از ژن‌هایی است که در پاسخ به این عفونت‌ها دارای بیان متفاوت بوده و در مقاومت به این عفونت‌ها در گاو شیری مؤثر می‌باشد. مسیر بیولوژیکی سیگنال‌دهی

1. Positive regulation of apoptotic process
2. Bovine leukemia virus
3. Cell junction organization
4. Negative regulation of cytokine production
5. Regulation of defense response

میانجی‌گری شده با کموکین از دیگر مسیرهایی بود که در ارتباط با مقاومت به بیماری شناسایی شد. در مطالعه پویش ژنومی با هدف شناسایی جایگاه‌های ژنی مرتبط با بیماری ورم‌پستان در گاوهای شیری، ژن کاندیدای *CCL20* گزارش شده است (Sharifi et al., 2020). همچنین در مطالعه‌ی پویش کل ژنومی در گاوهای گوشتی، ژن کاندیدای *CCL20* مرتبط با مقاومت به کنه گزارش گردید (More et al. 2019).

یکی از مسیرهای معنی‌دار شناسایی شده در تحقیق حاضر در زیربخش عملکرد بیولوژیکی فعالیت انتقال‌دهنده پروتئین بود. ژن *SLC11A1* در میان ژن‌های معنی‌دار در این مسیر یکی از ژن‌های مهم کاندیدا برای صفت سل گاوی می‌باشد. Kadarmideen و همکاران (۲۰۱۱) با بررسی چندشکلی‌های موجود در این ژن در گاوهای زبو آفریقایی گزارش کردند که این ژن یکی از ژن‌های مؤثر بر سل گاوی در این حیوانات می‌باشد.

شاید بتوان مسیر اتصالات بین سلولی که جزء هستی‌شناسی اجزای سلولی است را یکی از مهمترین مسیرهای مؤثر بر سیستم ایمنی در ارتباط با مقاومت به بیماری دانست. در این مسیر پروتئین‌های واسطه جهت ارتباط دادن اسکلت سلولی یک سلول به اسکلت سلولی سلول مجاور یا یک پروتئین در ماتریکس خارج سلولی از سطح غشای پلاسمایی گسترش می‌یابند. این مسیر دارای چندین *chilled Term* است که همه دارای عملکردهای مهمی در فرآیندهای ارتباط و اتصال سلول به هم و یا به بافت همبند پایه هستند. از بین ژن‌های معنی‌دار در این مسیر، می‌توان به ژن‌های کاندیدای *LCP2* و *SLC2A2* اشاره نمود. Yang و همکاران (۲۰۲۱) با مطالعه پویش کل ژنومی در گوسفندان نژاد قزاق و سافوک با هدف شناسایی ژن‌های کاندیدای مرتبط با سیستم ایمنی، ژن کاندیدای *LCP2* را به عنوان یکی از ژن‌های کاندیدای اصلی برای این صفت گزارش کردند. همچنین گزارش شده است که بین ژن کاندیدای *LCP2* با بیماری‌های تنفسی در گاو ارتباط معنی‌داری وجود دارد (Scott et al., 2021). ژن کاندیدای *SLC2A2* دارای نقش اساسی در انتقال گلوکز به داخل سلول‌ها و تنظیم هموستازی گلوکز می‌باشد. در مطالعه‌ی ژنومی با هدف بررسی چندشکلی موجود در ژن‌های کاندیدای مرتبط با بیماری توبرکلوزیس گاوی، ارتباط معنی‌داری بین تنوع موجود در ژن کاندیدای *SLC2A2* با بیماری توبرکلوزیس گاوی گزارش شده است (Holder et al., 2020).

در مجموع، بر اساس بررسی منابع انجام‌شده، پژوهش حاضر یکی از اولین مطالعات پویش کامل ژنوم برپایه تجزیه و تحلیل غنی‌سازی مجموعه ژنی جهت شناسایی ژن‌ها و مناطق ژنومی مرتبط با بیماری سل گاوی در گاوهای هلشتاین می‌باشد. به‌طور کلی مسیرهای شناسایی‌شده در این پژوهش می‌تواند ما را به سمت ژن‌های مؤثر بر این صفت هدایت نماید. در این مقاله عملکرد برخی از ژن‌هایی که در تحقیقات قبلی ارتباط آنها با مقاومت به بیماری‌ها یا پاسخ به عفونت‌ها گزارش شده بود با جزئیات بیشتر بررسی شدند. با این وجود از عملکرد و نقش سایر ژن‌های دیگر نمی‌توان چشم‌پوشی کرد و به نظر می‌رسد با انجام تحقیقات بعدی می‌توان شواهد بیشتری از ارتباط بین این ژن‌ها با سیستم ایمنی و مقاومت به بیماری سل گاوی بدست آورد. همچنین هرچند در تحقیق حاضر به اطلاعات کامل فنوتیپی و شجره‌ای حیوانات دسترسی وجود نداشت ولی نیاز است در تحقیقات بعدی برای صفات آستانه‌ای، که در واقع مجموعه‌ای از جهش‌ها موجب بروز فنوتیپ سالم و بیمار می‌شوند، اثرات پلی‌ژنیک در مدل در نظر گرفته شوند و از فنوتیپ تصحیح شده در آنالیزهای آماری مربوط به GWAS استفاده شود. از طرف دیگر، از آنجا که به رکوردهای فنوتیپی و اطلاعات ژنوتیپی مرتبط با این صفت در گاوهای بومی کشور نیز دسترسی وجود ندارد، بررسی نتایج تحقیق حاضر در نژادهای بومی می‌تواند اطلاعات ارزشمند دیگری در این زمینه فراهم نماید. همچنین با بررسی چندشکلی موجود در ژن‌های کاندیدای شناسایی‌شده در تحقیق حاضر، در جمعیت‌های مستقل به ویژه در نژادهای گاو بومی می‌توان اطلاعات بیشتری در ارتباط با سازوکار ژنتیکی کنترل‌کننده این بیماری بدست آورد.

1. Chemokine-mediated signaling pathway
2. Protein transporter activity
3. Cell-cell junctions

نتیجه گیری

اگرچه مطالعات مختلف SNP های معنی داری برای مقاومت به سل گاوی گزارش کرده اند، ولی اغلب آنها متفاوت بوده و نهایتاً ژن ها و یا مناطق ژنومی مشابه بین تحقیقات بسیار کم بوده است. آنالیز غنی سازی مجموعه های ژنی و مسیرهای بیولوژیکی، می تواند به طور بالقوه مکمل تلاش های دیگر برای یافتن جایگاه های ژنی موثر بر صفات پیچیده در طول ژنوم باشد. لذا تحقیق حاضر با استفاده از پویش پیوستگی ژنومی، جهت شناسایی ژن های کاندیدا و مسیرهای زیستی مرتبط با مقاومت به بیماری سل گاوی بر پایه آنالیز غنی سازی مجموعه های ژنی انجام شد. در این تحقیق از اطلاعات ژنومی حیوانات بیمار و سالم گاوه های شیری هلشتاین که با استفاده از آرایه های ژنومی با تراکم بالا (700 K) تعیین ژنوتیپ شده بودند استفاده شد. در نهایت نتایج این تحقیق منجر به شناسایی مسیرهایی شد که به طور معنی داری با بیماری سل گاوی در ارتباط بودند. بررسی این مسیرها با جزئیات بیشتر نشان داد که اکثر این مسیرها با سیستم ایمنی، استرس و مقاومت در برابر بیماری ها در ارتباط می باشند. همچنین بررسی ژن های موجود در این مسیرها نیز نشان داد که مقاومت به بیماری سل گاوی با مسیرهای زیستی مرتبط با سیستم عصبی، ایمنی ذاتی، پاسخ به التهابات، تنظیم پاسخ ایمنی، اتصالات سلولی و هموستازی گلوکز ارتباط نزدیکی دارد و ارتباط مستقیم یا غیرمستقیم برخی از ژن های موجود در این مسیرهای زیستی با بیماری سل گاوی در تحقیقات گذشته نیز تأیید شده است که در متن این مقاله مورد بررسی قرار گرفتند. در مجموع، با توجه به اهمیت شناسایی جایگاه های ژنی تأثیرگذار بر سل گاوی از دیدگاه علمی و اقتصادی، نتایج این تحقیق می تواند در بهبود عملکرد دام های شیری دارای اهمیت زیادی باشد.

سپاسگذاری

نویسندگان مقاله از دکتر برمینگام و همکاران در دانشگاه ادینبورگ به خاطر فراهم نمودن اطلاعات مورد نیاز این تحقیق صمیمانه تقدیر و تشکر می نمایند.

منابع

عزیزپور، ن؛ خلت آبادی فراهانی، ا.ح؛ مرادی، م.ح؛ محمدی، ح. (۱۳۹۹). مطالعه پویش کل ژنومی صفات مرتبط با تولید شیر بر پایه تجزیه و تحلیل غنی سازی مجموعه های ژنی در گاو هلشتاین. نشریه پژوهش های علوم دامی، ۳۰ (۱)، ۷۹-۹۲.

محمدی، ح؛ خلت آبادی فراهانی، ا.ح؛ مرادی، م.ح؛ نجفی، ا. (۱۴۰۱). مطالعه پویش کامل ژنوم با تجزیه و تحلیل غنی سازی مجموعه های ژنی برای شناسایی ژن ها و مسیرهای مرتبط با خلق و خوی در گاو براهمن. مجله تولیدات دامی، ۲۴ (۴)، ۴۹۰-۴۸۱.

REFERENCES

- Abernethy, D., Denny, G., Menzies, F., McGuckian, P., Honhold, N., & Roberts, A. (2006). The Northern Ireland programme for the control and eradication of *Mycobacterium bovis*. *Veterinary Microbiology*, 112, 231-237.
- Abernethy, D.A., Upton, P., Higgins, I.M., McGrath, G., Goodchild, A.V., Rolfe, S.J., Broughan, J.M., Downs, S.H., Clifton-Hadley, R., Menzies, F.D., de la Rua-Domenech, R., Blissitt, M.J., Duignan, A., & More, S.J. (2013). Bovine tuberculosis trends in the UK and the Republic of Ireland. *Veterinary Records*, 172, 312.
- Alain, K., Karrow, N.A., Thibault, C., Pierre, J., Lessard, M., & Bissonnette, N. (2009). An early innate immune marker of *Escherichia coli* mastitis harbors genetic polymorphisms with possible links with resistance to mastitis. *BMC Genomics*, 10, 444.
- Alavi, M., Mozafari, M.R., Ghaemi, S., Ashengroph, M., Hasanzadeh Davarani, F., & Mohammadabadi, M. (2022). Interaction of Epigallocatechin Gallate and Quercetin with Spike Glycoprotein (S-Glycoprotein) of SARS-CoV-2: In Silico Study. *Biomedicines*, 10(12), 3074.
- Allen, A.R., Skuce, R.A., & Byrne, A.W. (2018). Bovine Tuberculosis in Britain and Ireland-A Perfect Storm? the confluence of potential ecological and epidemiological impediments to controlling a chronic infectious disease. *Frontiers in Veterinary Science*. 5, 109.

- Alonso-Hearn, M., Badia-Bringué, G., & Canive, M. (2022). Genome-wide association studies for the identification of cattle susceptible and resilient to paratuberculosis. *Frontiers in Veterinary Science*, 9, 935133.
- Amiri Roudbar, M., Mohammadabadi, M.R., Ayatollahi Mehrgardi, A., Brito Lopes, F., Gianola, D., & Rosa, G.J. (2020). Integration of single nucleotide variants and whole-genome DNA methylation profiles for classification of rheumatoid arthritis cases from controls. *Heredity*, 124 (5), 658-674.
- Barazandeh, A., Mohammadabadi, M.R., Ghaderi-Zefrehei, M., & Nezamabadi-Pour, H. (2016). Genome-wide analysis of CpG islands in some livestock genomes and their relationship with genomic features. *Czech Journal of Animal Science*, 61(11), 487-495.
- Bermingham, M.L., Bishop, S.C., Woolliams, J.A., Pong-Wong, R., Allen, A.R., McBride, S.H., Ryder, J.J., Wright, D.M., Skuce, R.A., McDowell, S.W.J., & Glass, E.J. (2014). Genome-wide association study identifies novel loci associated with resistance to bovine tuberculosis. *Heredity*, 112, 543-551.
- Bermingham, M.L., More, S., Good, M., Cromie, A., Higgins, I., Brotherstone, S., & Berry, T.P. (2009). Genetics of tuberculosis in Irish Holstein-Friesian dairy herds. *Journal of Dairy Science*, 92, 3447.
- Bermingham, M.L., More, S.J., Good, M., Cromie, A.R., Higgins, I.M., & Berry, D.P. (2010). Genetic correlations between measures of Mycobacterium bovis infection and economically important traits in Irish Holstein-Friesian dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 93, 5413-5422.
- Bordbar, F., Mohammadabadi, M., Jensen, J., Xu, L., Li, J., & Zhang, L. (2022). Identification of candidate genes regulating carcass depth and hind leg circumference in simmental beef cattle using Illumina Bovine Beadchip and next-generation sequencing. *Animals*, 12 (9), e1103.
- Brajnik, Z., & Ogorevc, J. (2023). Candidate genes for mastitis resistance in dairy cattle: a data integration approach. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 14, 10.
- Canive, M., Badia-Bringué, G., Vázquez, P., Garrido, J.M., Juste, R.A., Fernandez, A., González-Recio, O. & Alonso-Hearn, M. (2022). A genome-wide association study for tolerance to paratuberculosis identifies candidate genes involved in dna packaging, dna damage repair, innate immunity, and pathogen persistence. *Frontiers Immunology*, 13, 820965.
- Chen, Y.C., Guo, Y.F., He, H., Lin, X., Wang, X.F., Zhou, R., Li, W.T., Pan, D.Y., Shen, J., & Deng, H.W. (2016). Integrative analysis of genomics and transcriptome data to identify potential functional genes of BMDs in females. *Journal of Bone and Mineral Research*, 31, 1041-1049.
- Chen, Z., Bian, Z., Chen, X., Li, B., & Li, L. (2023). Identification of key genes in bovine mammary epithelial cells challenged with Escherichia coli and Staphylococcus aureus by integrated bioinformatics analysis. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 52, e20220064.
- Donaldson, L., Vuocolo, T., Gray, C., Strandberg, Y., Reverter, A., McWilliam, S., Wang, Y., Byrne, K., & Tellam, R. (2005). Construction and validation of a bovine innate immune microarray. *BMC Genomics*, 6, 1-22.
- Finlay, E.K., Berry, D.P., Wickham, B., Gormley, E.P., & Bradley, D.G. (2012). A genome wide association scan of bovine tuberculosis susceptibility in Holstein-Friesian dairy cattle. *PLoS One*, 7, e30545.
- Frie, M.C., Droscha, C.J., Greenlick, A.E., & Coussens, P.M.. (2018). MicroRNAs encoded by bovine leukemia virus (blv) are associated with reduced expression of b cell transcriptional regulators in dairy cattle naturally infected with BLV. *Frontiers Veterinary Science*, 4, 245.
- González-Ruiz, S., Strillacci, M.G., Durán-Aguilar, M., Cantó-Alarcón, G.J., Herrera-Rodríguez, S.E., Bagnato, A., Guzmán, F., Milián-Suazo, F., & Román-Ponce, S.I. (2019). Genome-wide association study in Mexican Holstein cattle reveals novel quantitative trait loci regions and confirms mapped loci for resistance to bovine tuberculosis. *Animals*, 9(9),636.
- Heidarpour, F., Mohammadabadi, M.R., Zaidul, I.S.M., Maherani, B., Saari, N., Abbas, F., & Mozafari, M.R. (2011). Use of prebiotics in oral delivery of bioactive compounds: a nanotechnology perspective. *Pharmazie*, 66 (5), 319-324.
- Holder, A., Garty, R., Elder, C., Mesnard, P., Laquerbe, C., Bartens, M.C., & Connelly, T. (2020). Analysis of genetic variation in the Bovine SLC11A1 gene, its influence on the expression of NRAMP1 and potential association with resistance to Bovine Tuberculosis. *Frontiers in microbiology*, 11, 1420.
- Huang, X.L., Xu, D.H., Wang, G.P., Zhang, S., & Yu C.G. (2015). Associations between CD24 gene polymorphisms and inflammatory bowel disease: A meta-analysis. *World Journal of Gastroenterology*, 21(19), 6052.
- Kadarmideen, H.N. (2014). Genomics to systems biology in animal and veterinary sciences: progress, lessons and opportunities. *Livestock Science*, 166, 232-248 .
- Kadarmideen, H.N., Ali, A.A., Thomson, P.C., Muller, B., & Zinsstag, J. (2011). Polymorphisms of the

- SLC11A1 gene and resistance to bovine tuberculosis in African Zebu cattle. *Animal Genetics*, 42, 656–658.
- Khabiri, A., Toroghi, R., Mohammadabadi, M., & Tabatabaeizadeh, S.E. (2023). Introduction of a Newcastle disease virus challenge strain (sub-genotype VII. 1.1) isolated in Iran. *Veterinary Research Forum*, 14 (4), 221.
- Mazzone, P., Di Paolo, A., Petrucci, L., Torricelli, M., Corneli, S., Sebastiani, C., Ciullo, M., Sebastianelli, M., Costarelli, S., & Scoccia, E. (2023). Evaluation of single nucleotide polymorphisms (snps) associated with genetic resistance to bovine paratuberculosis in marchigiana beef cattle, an Italian native breed. *Animals*, 13(4), 587.
- Mazzoni, G., Pedersen, H.S., de Oliveira Junior, G.A., Alexandre, P., Razza, E.M., Callesen H, Hyttel, P., Marcelo, F.G., Ferraz, J.B., & Kadarmideen, H.N. (2017). Application of integrative genomics and systems biology to conventional and in vitro reproductive traits in cattle. *Animal Reproduction*, 14(3), 507-513.
- Michel, A.L., Muller, B., & van Helden, P.D. (2010). Mycobacterium bovis at the animal–human interface: a problem, or not? *Veterinary Microbiology*, 140, 371–381.
- Mohammadabadi, M., Babenko, O., Borshch, O.O., Kalashnyk, O., Ievstafieva, Y., & Buchkovska, V. (2024). Measurement of the relative expression pattern of the UCP2 gene in different tissues of the Raini Cashmere goat. *Agricultural Biotechnology Journal*, 16 (3), 317-332.
- Mooney, M.A., Nigg, J.T., McWeeney, S.K., & Wilmot, B. (2014). Functional and genomic context in pathway analysis of GWAS data. *Trends Genetics*, 30(9), 390-400.
- Moré, D.D., Cardoso, F.F., Mudadu, M.A., Malagó-Jr, W., Gulias-Gomes, C.C., Sollero, B.P., Ibelli, A.M., Coutinho, L.L., & Regitano, L.C. (2019). Network analysis uncovers putative genes affecting resistance to tick infestation in Braford cattle skin. *BMC genomics*, 20, 1-20.
- Peñagaricano, F., Weigel, K.A., Rosa, G.J., & Khatib, H. (2013). Inferring quantitative trait pathways associated with bull fertility from a genome-wide association study. *Frontiers Genetics*, 3, 307-314.
- Perry, B.D., Randolph, T.F., McDermott, J.J., Sones, K.R., & Thornton, P.K. (2002). Investing in animal health research to alleviate poverty. ILRI (International Livestock Research Institute): Nairobi, Kenya.
- Pineda, S., Nikolova-Krstevska, V., Leimena, C., Atkinson, A.J., Altekoester, A.K., Cox, C.D., Jacoby, A., Huttner, I.G., Ju, Y.K., Soka, M., & Ohanian, M. (2021). Conserved role of the large conductance calcium-activated potassium channel, KCa1. 1, in sinus node function and arrhythmia risk. *Genomic and Precision Medicine*, 14(2), e003144.
- Prohaszka, Z., & Fust, G. (2004). Immunological aspects of heat-shock proteins-the optimum stress of life. *Molecular Immunology*, 41, 29-44.
- Purcell, S., Neale, B., Todd-Brown, K., Thomas, L., Ferreira, M.A., Bender, D., Maller, J., Sklar, P., Bakker, P.I., Daley, M.J., & Sham, P.C. (2007). PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *American Journal of Human Genetics*, 81, 559–575.
- Safaei, S.M.H., Dadpasand, M., Mohammadabadi, M., Atashi, H., Stavetska, R., Klopenko, N., & Kalashnyk, O. (2022). An Origanum majorana Leaf Diet Influences Myogenin Gene Expression, Performance, and Carcass Characteristics in Lambs. *Animals*, 13 (1), e14.
- Scott, M.A., Woolums, A.R., Swiderski, C.E., Perkins, A.D., Nanduri, B. (2021). Genes and regulatory mechanisms associated with experimentally-induced bovine respiratory disease identified using supervised machine learning methodology. *Scientific Reports*, 11(1), 22916.
- Sharifi, S., Pakdel, A., Jahanbakhsh, J., Aryan, Y., Mahdavi, A., & Ebrahimie, E. (2020). Molecular mechanisms of resistance to bovine mastitis. *Livestock Science*, 239, 104068.
- Sun, L., Song, Y., Riaz, H., Yang, H., Hua, G., Guo, A., & Yang, L. (2012). Polymorphisms in toll-like receptor 1 and 9 genes and their association with tuberculosis susceptibility in Chinese Holstein cattle. *Veterinary Immunology Immunopathology*, 147, 195–201.
- Visscher, P.M., Brown, M.A., McCarthy, M.I., & Yang, J. (2012). Five years of GWAS discovery. *The American Journal of Human Genetics*, 90(1), 7-24.
- Visscher, P.M., Wray, N.R., Zhang, Q., Sklar, P., McCarthy, M.I., & Yang, J. (2010). 10 Years of GWAS Discovery: Biology, Functioning and Translation. *American Journal of Human Genetics*, 90(1), 7-24.
- Wang, X., Ma, P., Liu, J., Zhang, Q., Zhang, Y., Ding, X., Jiang, L., Wang, Y., Zhang, Y., Sun, D., Zhang, S., Su, G., & Yu, Y. (2015). Genome-wide association study in Chinese Holstein cows reveal two candidate genes for somatic cell score as an indicator for mastitis susceptibility. *BMC genetics*, 16(1), 111.
- Wang, Z., Shen, D., Parsons, D.W., Bardelli, A., Sager, J., Szabo, S., Ptak, J., Silliman, N., Peters, B.A., van der Heijden, M.S., Parmigiani, G., Yan, H., Wang, T.L., Riggins, G., Powell, S.M., Willson, J.K., Markowitz, S., Kinzler, K.W., Vogelstein, B., & Velculescu, V.E. (2004). Mutational analysis of the

tyrosine phosphatome in colorectal cancers. *Science*, 304, 1164–1166.

Yang, H., Yang, Y.L., Li, G.Q., Yu, Q., Yang, J. (2021). Identifications of immune-responsive genes for adaptative traits by comparative transcriptome analysis of spleen tissue from Kazakh and Suffolk sheep. *Scientific Reports*, 11(1), 3157.