

الگوی هموزیگوسیتی، هتروزیگوسیتی و همخونی ژنومی در جمعیت گوسفندان حساس و مقاوم به

گنبدیگی سم

چکیده

در مطالعه حاضر، ضریب همخونی ژنومی بر اساس الگوی هموزیگوسیتی در مناطق ژنومی گوسفندان حساس و مقاوم به گنبدیگی سم برآورد شد. برای این منظور، از گوسفندان آلپاین سوئیس (۱۵۴ رأس حیوان سالم در مقابل ۷۶ رأس حیوان بیمار شدید) که با تراشه SNP 600K تعیین ژنوتیپ شده بودند، استفاده شد. ضریب همخونی ژنومی از ۰/۰۳ تا ۰/۱۳، با میانگین ۰/۰۹، برای کل ژنوم متغیر بود. بیشترین درصد ضریب همخونی ژنومی مربوط به کروموزوم ۲ (۸۵/۵ درصد در ۶۵ شمارش) و ۱ (۸۴/۳ درصد در ۱۲۹ شمارش) و کمترین درصد آن مربوط به کروموزوم ۸ (۰/۶۵ درصد در ۱ شمارش) بود. در جمعیت سالم ۶۸۹۵۹ الگوی هموزیگوسیتی و ۷۳۱۰۲۶ الگوی هتروزیگوسیتی و در جمعیت بیمار ۳۴۵۶۹ الگوی هموزیگوسیتی و ۳۶۴۱۲۵ الگوی هتروزیگوسیتی شناسایی شد. با استفاده از الگوی هموزیگوسیتی، بالاترین درصد مشاهدات جمعیت سالم (۹۸/۷۹ درصد) مربوط به دسته ۰-۶ مگا جفت‌باز و کمترین درصد مشاهدات (۰/۰۱ درصد) مربوط به دسته بیش از ۴۸ مگا جفت‌باز بود. همچنین بالاترین درصد مشاهدات جمعیت بیمار مربوط به دسته ۰-۶ مگا جفت‌باز بود (۹۸/۸۱ درصد) و کمترین درصد مشاهدات مربوط به دسته ۲۴-۴۸ مگا جفت‌باز (۰/۰۱ درصد) بود. برای هتروزیگوسیتی، بالاترین درصد مشاهدات جمعیت سالم مربوط به دسته ۰-۶ مگا جفت‌باز (۹۹/۹۹ درصد) و کمترین درصد مشاهدات مربوط به دسته ۶-۱۲ مگا جفت‌باز بود؛ در جمعیت بیمار، کمترین درصد مشاهدات در دسته ۶-۱۲ مگا جفت‌باز و ۲۴-۴۸ مگا جفت‌باز بود. در مجموع، جمعیت سالم، همخونی قدیمی‌تر، تعداد الگوی هموزیگوسیتی و هتروزیگوسیتی و همچنین میانگین طول الگوی هتروزیگوسیتی بیشتری نسبت به جمعیت بیمار داشت.

کلیدواژه‌ها: الگوی هموزیگوسیتی، الگوی هتروزیگوسیتی، ضریب همخونی ژنومی، نشانه انتخاب، گوسفند آلپاین.

The pattern of runs of homozygosity, heterozygosity and genomic inbreeding in the population of sensitive and resistant sheep to footrot

Abstract

In this study, the genomic inbreeding coefficient based on runs of homozygosity (F_{ROH}) in the genomic regions of sheep sensitive and resistant to footrot was estimated. Swiss Alpine sheep data genotyped with Ovine SNP 600K BeadChip in a case-control study (154 healthy controls versus 76 severe cases) were used. F_{ROH} estimates ranged from 0.03 to 0.13, with a mean of 0.09. The highest F_{ROH} percentage was related to chromosome 2 (85.5%) and 1 (84.3%). The lowest F_{ROH} percentage was related to chromosome 8 (0.65%). 68959 runs of homozygosity (ROH) and 731026 runs of heterozygosity (ROHet) were detected in the healthy population and, 34569 ROH and 364125 ROHet in the case population. Using ROH, the highest percentage of observations of the healthy population was related to the 0-6 Mbp class (98.79%), and the lowest percentage of observations related to the class more than 48 Mbp (0.01%). The highest percentage of observations of the case population was related to Mbp 0-6 class (98.81%), and the lowest percentage of observations was related to 24-48 Mbp class. For ROHet, the highest percentage of observations of the healthy population was related to 0-6 Mbp class (99.99%), and the lowest percentage of observations was related to 6-12 Mbp class; for the case population, the lowest percentage was related to 6-12 Mbp and Mbp 24-48 classes. Totally, the healthy population had more number of homozygosity and heterozygosity pattern as well as the average length of heterozygosity pattern and a more ancient inbreeding than the case population.

Keywords: runs of homozygosity, runs of heterozygosity, genomic inbreeding coefficient, Alpine sheep.

مقدمه

تحقیقات روی ژنتیک و تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های مختلف گیاهی و جانوری از اهمیت بالایی برخوردار است. یکی از مفاهیم کلیدی در این زمینه‌ها، الگوی هموزیگوسیتی (ROH^1)، الگوی هتروزیگوسیتی ($ROHet^2$) و ضریب همخونی ژنومی بر اساس الگوی هموزیگوسیتی (F_{ROH}^3) است که تأثیرات گسترده‌ای بر صفات اقتصادی جمعیت دارد.

یکی از اهداف اصلی اصلاح ژنتیکی دام‌ها، افزایش بازدهی اقتصادی است. انتخاب یکی از ابزارهای مورد استفاده برای دستیابی به این هدف محسوب می‌شود؛ اما این فرایند می‌تواند باعث افزایش همخونی شود. افزایش همخونی ممکن است به افزایش ناهنجاری‌های ژنتیکی، حساسیت به بیماری‌ها، کاهش تنوع ژنتیکی، کاهش عملکرد و ظهور جهش‌های مضر منجر شود (Bjelland *et al.*, 2013). بنابراین ارزیابی سطح همخونی در جمعیت‌ها با استفاده از روش‌های دقیق حائز اهمیت است. روش کلاسیک و مرسوم برای تخمین همخونی، ضریب همخونی بر اساس اطلاعات شجره‌نامه (F_{PED}^4) می‌باشد. با این حال، تخمین ضریب همخونی صرفاً بر اساس اطلاعات شجره‌دارای اشکالات متعددی است. از جمله اینکه موجب ارزیابی در تخمین افت همخونی می‌شود؛ زیرا ارتباط بین بنیانگذاران از جمعیت پایه، نوترکیبی، اریب احتمالی ناشی از انتخاب، اثرات نمونه‌گیری حاصل از انتخاب و خطاهای رایج در شجره را در نظر نمی‌گیرد (Curik *et al.*, 2014). علاوه بر این، از آنجایی که اطلاعات شجره تنها برای برخی از جمعیت‌های دامی در دسترس است و تخمین دقیق همخونی با استفاده از شجره به کامل بودن شجره بستگی دارد، این روش برای همه جمعیت‌ها قابل استفاده نیست (Uimari & Tapio, 2011). یکی از روش‌های مورد استفاده برای بررسی همخونی در دام، ارزیابی ROH با استفاده از نشانگرهای متراکم در سراسر ژنوم است (Ceballos *et al.*, 2018). این الگوها، قطعاتی از جنس نوکلئوتید در سطح ژنوم هستند که یکسان اجدادی (IBD^5) بوده و از یک جد مشترک به ارث می‌رسند. قطعات ROH به طور یکنواخت در تمام ژنوم توزیع نشده‌اند و در برخی از مناطق کروموزومی بیشتر دیده می‌شوند، که به آن‌ها جزایر یا نقاط داغ ROH گفته می‌شود. اولین مطالعه ROH در دام‌های اهلی توسط Solkner *et al.*, 2010 در گاو انجام شد.

مطالعه $ROHet$ اخیراً گسترش یافته‌است و به ناحیه‌ای از تک نوکلئوتیدهای هتروزیگوت به هم پیوسته اشاره دارد که بین کروموزوم‌های همولوگ در موجودات دیپلوئید شناسایی شده و می‌تواند اطلاعاتی در مورد کلاسترهای هتروزیگوت ارائه دهد (Williams *et al.*, 2016). بنابراین، $ROHet$ می‌تواند به عنوان معیاری برای ارزیابی تنوع ژنتیکی جمعیت‌ها و کمک به پرورش حیوانات باشد. مناطق غنی از هتروزیگوسیتی برای ژنتیک جمعیت و حفاظت از تنوع زیستی مهم هستند، زیرا می‌تواند اطلاعات ارزشمندی را در مورد مناطق ژنومی که تحت نفوذ یا اختلاط ژن قرار می‌گیرند و همچنین اطلاعاتی را در مورد تاریخ تکامل و تنوع ژنتیکی ارائه دهند (Marras *et al.*, 2018). مفهوم $ROHet$ برای اولین بار در دام توسط Williams *et al.*, 2016 در گاو معرفی شد و پیشنهاد گردید که برخی از مناطق $ROHet$ تحت انتخاب متعادل بوده و حاوی جهش‌های کشنده مغلوب هستند.

گنبدیگی سم یک بیماری بسیار مسری بوده و از نظر اقتصادی یکی از بیماری‌های مهم نشخوارکنندگان به ویژه گوسفند و بز محسوب می‌شود (Dhungyel *et al.*, 2013). این بیماری از بین بیماری‌های اندام حرکتی گوسفندان بیشترین اهمیت را دارد. حیوانات مبتلا دچار لنگش شده و در نهایت کاهش وزن، کاهش مصرف غذا، کاهش تولید پشم، گوشت و شیر، کاهش قابلیت‌های تولید مثلی، کاهش باروری، کاهش سرعت رشد، عدم توانایی در کنترل وضعیت بدن و افزایش مرگ و میر بره را به همراه دارد. بنابراین مطالعه جمعیت تحت تأثیر این بیماری دارای اهمیت اقتصادی می‌باشد. مطالعات اندکی برای تشخیص ژن‌های مؤثر بر مقاومت/حساسیت به گنبدیگی سم انجام شده‌است. مطالعه اولیه برای کشف ژن‌های مربوط به گنبدیگی سم، یک مطالعه پویش ژنومی بود ($GWAS^6$) که

¹. Runs of Homozygosity

². Runs of Heterozygosity

³. Inbreeding coefficients based on ROH

⁴. Inbreeding coefficients based on pedigree

⁵. Identical by Descent

⁶. Genome Wide Association Study

توسط Mucha *et al.*, 2015 در گوسفند Texel انجام شد. آن‌ها ژن‌های کاندید بالقوه و ژن اصلی مسئول این صفت را شناسایی نکردند. مطالعه پویس ژنومی دیگری برای گنبدگی سم در گوسفند آلباین سفید سوئیس توسط Niggeler *et al.*, 2017 انجام شد. آن‌ها ژن *MPDZ* را به عنوان یک ژن بالقوه در ایجاد حساسیت به گنبدگی سم گزارش کردند. پروتئین *MPDZ* در اتصالات محکم از طریق برهمکنش با کلودین-۱ و مولکول‌های چسبندگی اتصال حضور دارد (Hamazaki *et al.*, 2002). اگرچه عملکرد دقیق این پروتئین هنوز ناشناخته است، Lanasa *et al.*, 2007 گزارش کردند که احتمالاً *MPDZ* در حفظ یکپارچگی اتصالات محکم دخالت دارد. بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که احتمالاً انواع ژن *MPDZ* منجر به تغییر در ساختار یا یکپارچگی پوست بین انگشتان می‌شود و حیوانات حامل آلل‌های مختلف در جایگاه *MPDZ* ممکن است مقاومت و حساسیت فردی متفاوتی را نسبت به گنبدگی سم به دلیل این تغییر داشته باشند.

گوسفند آلباین سفید مهم‌ترین و پرجمعیت‌ترین نژاد گوسفند در کشور سوئیس محسوب می‌شود. این نژاد سطح متوسطی از همخوانی ژنومی را با روند نزولی تنوع ژنتیکی در طول زمان دارا می‌باشد (Burren *et al.*, 2012). هموزیگوسیتی و همخوانی ژنومی بین هشت نژاد گوسفند بومی سوئیس در مطالعه Signer-Hasler *et al.*, 2019 انجام و بزرگترین کسر ROH در دسته ۱-۵ مگا جفت‌باز برای گوسفند سفید آلباین سوئیس (۰/۵۲۱) گزارش شد. حدود ۳۲ درصد از F_{ROH} در گوسفند سفید آلباین مربوط به ROH با طول ۱-۵ مگا جفت‌باز بود، در حالی که این کسر برای نژادهای دیگر کمتر یا برابر با ۲۰ درصد بود. آن‌ها میانگین F_{PED} در گوسفند سفید آلباین را برابر با ۲/۱۳ درصد و میانگین F_{ROH} را برابر با ۴/۵۷ درصد گزارش کردند.

پژوهش حاضر، با هدف برآورد F_{ROH} ، شناسایی ROH و ROHet در سراسر ژنوم، نقشه‌یابی نشانه‌های انتخاب و ژن‌های کاندیدای احتمالی موجود در مناطق ژنومی گوسفندان حساس و مقاوم به گنبدگی سم در گوسفندان نژاد آلباین سوئیس انجام شد. بررسی این ویژگی‌های ژنتیکی، بینش‌های جدیدی در مورد تنوع ژنتیکی، سطوح همخوانی، تأثیرات بالقوه بر سلامت و مقاومت به گنبدگی سم در جمعیت‌های گوسفند به دست می‌آورد.

روش‌شناسی پژوهش

نمونه‌گیری و کنترل کیفیت

در این مطالعه از داده‌های تعیین ژنوتیپ شده ۲۳۰ رأس گوسفند آلباین سفید سوئیس استفاده شد که از <https://www.animalgenome.org/repository/pub/BERN2017.0821> دانلود شدند. این داده‌ها از ۷ گله مختلف در طول یک فصل چرا جمع‌آوری شده بودند. تعیین ژنوتیپ نمونه‌ها در آزمایشگاه GeneSeek (Lincoln, NE, USA) از طریق آرایه‌های Illumina Ovine HD BeadChip برای ۵۸۸۶۰۶ نشانگر با میانگین نرخ فراخوانی ۹۹/۸ درصد صورت گرفته بود که در مطالعه Niggeler *et al.*, (2017) شرح داده شده‌است.

کنترل کیفیت داده‌های حاصل بدین صورت انجام شد که حیوانات با بیش از ۵ درصد ژنوتیپ از دست رفته، SNP با حداقل فراوانی آلی (MAF^1) کمتر از ۵ درصد، نرخ فراخوانی بیشتر از ۵ درصد و دارای انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ ($p < 1 \times 10^{-6}$) حذف شدند. علاوه بر این، SNPهایی که در نقشه ARS-UI_Ramb_v2.0 موقعیت نداشتند و همچنین SNPهای تکراری نیز از تجزیه و تحلیل حذف شدند. مراحل مختلف کنترل کیفیت با نرم‌افزار Plink ۱/۰۹ صورت گرفت (Purcell *et al.*, 2007).

¹. Minor Allele Frequency

گروه‌های جمعیتی مورد مطالعه

در این مطالعه، افراد جمعیت به لحاظ مشاهده گنبدیگی سم و بر اساس سیستم امتیازدهی بالینی (۰-۵) در دو گروه قرار گرفتند: گروه اول شامل ۱۵۴ گوسفند سالم (نمره ۰) و گروه دوم شامل ۷۶ مورد با گنبدیگی سم شدید (نمرات ۴-۵). در مطالعه حاضر، حیوانات سالم در برابر حیوانات بیمار با گنبدیگی سم شدید مقایسه گردیدند.

شناسایی ROH و ROHet

برای شناسایی ROH و ROHet در هر فرد از پکیج detectRUNS نرم افزار R (Biscarini *et al.*, 2018) استفاده شد. این روش به صورت اسکن ژنوم به شکل SNP با SNP است (Marras *et al.*, 2015). برای تعریف ROH معیارهای زیر مورد استفاده قرار گرفت: (۱) حداقل تعداد SNP در ROH برابر با ۲۰ در نظر گرفته شد. (۲) حداکثر فاصله بین SNPهای مجاور برابر با ۱ مگا جفت‌باز در نظر گرفته شد. (۳) حداقل تراکم SNP در هر ROH برابر با یک SNP در هر ۲۵۰ کیلو جفت‌باز در نظر گرفته شد. همچنین برای برآورد ROHet نیز معیارها بدین‌گونه مورد استفاده قرار گرفت: (۱) حداقل تعداد SNPها در ROHet برابر با ۱۰ در نظر گرفته شد. (۲) حداکثر فاصله بین SNPهای مجاور برابر با ۱ مگا جفت‌باز در نظر گرفته شد. (۳) حداقل تراکم SNP در هر ROH برابر با یک SNP در هر ۱۰۰ کیلو جفت‌باز در نظر گرفته شد (Dzomba *et al.*, 2021). ROH و ROHetهای شناسایی شده بر اساس طول به پنج دسته تقسیم شدند: ۰ تا ۶ مگا جفت‌باز، ۶ تا ۱۲ مگا جفت‌باز، ۱۲ تا ۲۴ مگا جفت‌باز، ۲۴ تا ۴۸ مگا جفت‌باز و بیشتر از ۴۸ مگا جفت‌باز (Dzomba *et al.*, 2021). برای محاسبه میانگین مجموع طول ROH و ROHet در هر جمعیت سالم و بیمار، مجموع همه ROHها و ROHetها در هر حیوان محاسبه شد و سپس میانگین آنها در هر گروه آنالیز شد.

ضریب همخوانی ژنومی

از ROH شناسایی شده به منظور تخمین F_{ROH} برای هر حیوان از طریق فرمول زیر استفاده شد (McQuillan *et al.*, 2008):

$$F_{ROH} = \frac{\sum_i \text{length}(ROH_i)}{L} \quad \text{رابطه (۱)}$$

که در آن i برابر است با تعداد ROH شناسایی شده برای هر حیوان، و L برابر است با طول کل ژنوم تحت پوشش SNP در هر جمعیت. همخوانی جمعیت با استفاده از میانگین کل افراد متعلق به نمونه نماینده جمعیت برآورد شد.

شناسایی جزایر هموزیگوسیتی و هتروزیگوسیتی

قطعات برابر یا بزرگتر از ۷۰ درصد برای ROH و برابر یا بزرگتر از ۶۰ درصد برای ROHet به عنوان نشانه‌های انتخاب مثبت در نظر گرفته شدند (Santos *et al.*, 2023). بعد از شناسایی مناطق با سیگنال‌های مثبت ROH و ROHet، برای شناسایی ژن‌های مرتبط با این مناطق از بسته BioMart در نرم افزار R (Smedley *et al.*, 2009) استفاده شد.

حاشیه‌نویسی ژن

بعد از شناسایی ژن‌های مرتبط با مناطق تحت انتخاب در دو جمعیت، به منظور بررسی تجزیه و تحلیل حاشیه‌نویسی ژن‌های کاندید، سه نوع هستی‌شناسی ژن (GO¹) انجام شد که شامل عملکرد مولکولی، فرآیند بیولوژیکی و اجزای سلولی می‌باشد. بررسی GO و مسیر KEGG با استفاده از پایگاه داده DAVID (Huang *et al.*, 2009) انجام شد. نقش بیولوژیکی این ژن‌ها با استفاده از پایگاه داده GeneCards (<http://www.genecards.org>) بررسی شد. علاوه بر این، از طریق بررسی مطالعات دیگر، عملکردهایی به ژن‌های شناسایی شده اختصاص داده شد.

یافته‌های پژوهش

نتایج حاصل از کنترل کیفیت داده‌های حاصل از تعیین ژنوتیپ

در فرآیند کنترل کیفیت داده‌ها، ۲۲۹ گوسفند و در مجموع ۴۶۱۱۹۵ SNP و ۴۵۹۱۰۰ SNP به ترتیب در گروه‌های سالم و بیمار معیارهای مورد نظر را داشتند و متعاقباً در تحلیل‌های نهایی گنجانده شدند (جدول ۱).

جدول ۱. شرح مراحل کنترل کیفیت

بیمار	سالم	گروه
۷۶	۱۵۴	تعداد کل حیوانات
۰	۱	تعداد حیوانات با ۵ درصد ژنوتیپ حذف شده
۷۶	۱۵۳	حیوانات باقیمانده
۵۸۸۶۰۶	۵۸۸۶۰۶	تعداد SNPها در نقشه OAR_v.4.0
۵۶۲۱۷۱	۵۶۲۱۷۱	تعداد SNPها در نقشه ARS-UI_Ramb_v2
۷۸۲۵۱	۷۶۴۳۲	تعداد SNPهای با حداقل فراوانی آلی کمتر از ۵ درصد
۲۸۴۳	۲۲۸۵	تعداد SNPهای با نرخ فراوانی بیشتر از ۵ درصد
۲۷۳	۵۵۰	تعداد SNPهای دارای انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ ($p < 1 \times 10^{-6}$)
۲۱۷۰۴	۲۱۷۰۹	تعداد SNPهای حذف شده با موقعیت تکراری
۴۵۹۱۰۰	۴۶۱۱۹۵	تعداد SNPهای باقیمانده (در نقشه ARS-UI_Ramb_v2)

ضریب همخوانی ژنومی

برآوردهای F_{ROH} از ۰/۰۳ تا ۰/۱۱، با میانگین ۰/۰۷۸ در جمعیت سالم و از ۰/۰۲۸ تا ۰/۱۲ با میانگین ۰/۰۸ در جمعیت بیمار برای کل ژنوم به صورت کلی در دو جمعیت متغیر بود. از نظر طبقه‌بندی بر اساس کروموزوم‌ها، کروموزوم ۲ (۸۵/۵ درصد در ۶۵ شمارش) و کروموزوم ۱ (۸۴/۳ درصد در ۱۲۹ شمارش) بیشترین درصد F_{ROH} را داشتند؛ در حالی که کروموزوم ۸ (۰/۶۵ درصد در ۱ شمارش) کمترین درصد F_{ROH} را داشت. توزیع F_{ROH} در گوسفند آلبین در شکل ۱ نشان داده شده‌است.

¹. Gene Ontology

توزیع ژنومی ROH و ROHet

در جمعیت سالم ۶۸۹۵۹ ROH و ۷۳۱۰۲۶ ROHet و در جمعیت بیمار ۳۴۵۶۹ ROH و ۳۶۴۱۲۵ ROHet وجود داشت. همچنین، پنج دسته برای هر جمعیت (۰-۶، ۶-۱۲، ۱۲-۲۴، ۲۴-۴۸، و بزرگتر از ۴۸ مگا جفت‌باز) بر اساس طول اجرا برای ROH و ROHet ایجاد شد. با استفاده از ROH، بالاترین درصد مشاهدات جمعیت سالم مربوط به دسته ۰-۶ مگا جفت‌باز بود که برابر با ۹۸/۷۹ درصد و کمترین درصد مشاهدات مربوط به دسته بیش از ۴۸ مگا جفت‌باز و برابر با ۰/۰۱ درصد بود. همچنین بالاترین درصد مشاهدات جمعیت بیمار مربوط به دسته ۰-۶ مگا جفت‌باز بود که برابر با ۹۸/۸۱ درصد و کمترین درصد مشاهدات مربوط به دسته ۲۴-۴۸ مگا جفت‌باز و برابر با ۰/۰۱ درصد بود. در روش ROHet، بالاترین درصد مشاهدات جمعیت سالم مربوط به دسته ۰-۶ مگا جفت‌باز بود که برابر با ۹۹/۹۹ درصد و کمترین درصد مشاهدات مربوط به دسته ۶-۱۲ مگا جفت‌باز و برابر با صفر بود. همچنین بالاترین درصد مشاهدات جمعیت بیمار مربوط به دسته ۰-۶ مگا جفت‌باز بود که برابر با ۹۹/۹۹ درصد و کمترین درصد مشاهدات مربوط به دسته ۶-۱۲ مگا جفت‌باز و برابر با صفر بود.

در دسته ۰-۶ مگا جفت‌باز برای جمعیت سالم، تعداد ROH ۶۸۱۲۸ با میانگین طول ۰/۶۷۱ و برای جمعیت بیمار تعداد ۳۴۱۵۷ ROH با میانگین طول ۰/۶۸۰ وجود داشت. از سوی دیگر، در دسته بیش از ۴۸ مگا جفت‌باز در جمعیت سالم، تعداد ROH ۷ با میانگین طول ۹۷/۲۱۲ و در جمعیت بیمار، تعداد ROH ۷ با میانگین طول ۱۰۳/۸۰۴ حضور داشت. به طور کلی، در دو جمعیت، نمونه‌ها نسبت بیشتری از بخش‌های ROH کوچک‌تر را در اتوزیگوسیتی در ژنوم داشتند (جدول ۲). علاوه بر این، با توجه میانگین طول ROH در هر جمعیت می‌توان نتیجه گرفت که همخونی در جمعیت بیمار از نوع همخونی جدید و در جمعیت سالم از نوع همخونی قدیمی محسوب می‌شود.

جدول ۲. تعداد، درصد و میانگین برای الگوهای هموزیگوسیتی (ROH) و الگوهای هتروزیگوسیتی (ROHet) در طبقه‌بندی‌های متفاوت

جمعیت	دسته	ROH		ROHet		میانگین (مگا جفت‌باز)
		تعداد ROH	درصد	تعداد ROHet	درصد	
سالم	۰-۶	۶۸۱۲۸	۹۸/۷۹	۷۳۱۰۱۸	۹۹/۹۹۸۹	۰۰/۰۸۳
	۶-۱۲	۶۵۹	۰/۹۶	۰	۰۰/۰۰۰۰	۰۰/۰۰۰
	۱۲-۲۴	۱۴۱	۰/۲۰	۳	۰۰/۰۰۰۴	۱۷/۲۷۳
	۲۴-۴۸	۲۴	۰/۰۳	۱	۰۰/۰۰۰۱	۴۳/۱۱۷
	>۴۸	۷	۰/۰۱	۴	۰۰/۰۰۰۵	۱۱۱/۲۶۵
بیمار	۰-۶	۳۴۱۵۷	۹۸/۸۱	۳۶۴۱۲۲	۹۹/۹۹۹۲	۰۰/۰۸۳
	۶-۱۲	۳۲۹	۰/۹۵	۰	۰۰/۰۰۰۰	۰۰/۰۰۰
	۱۲-۲۴	۷۱	۰/۲۱	۲	۰۰/۰۰۰۵	۱۷/۴۰۸

۲۴-۴۸	۵	۰/۰۱	۳۴/۱۶۲	۰	۰۰/۰۰۰۰	۰۰/۰۰۰
>۴۸	۷	۰/۰۲	۱۰۳/۸۰۴	۱	۰۰/۰۰۰۳	۱۳۸/۴۴۸

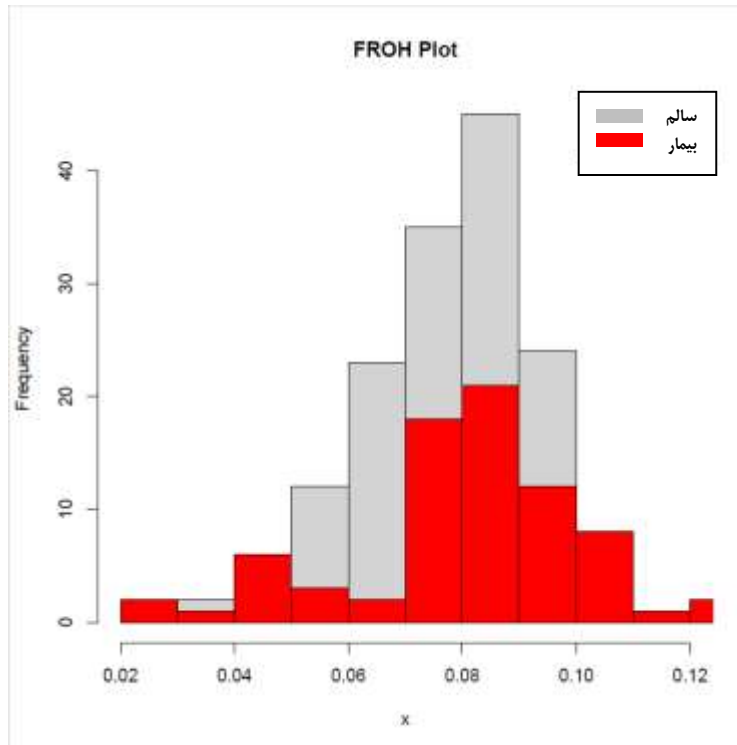
در هر دو جمعیت سالم و بیمار، کروموزوم ۱ دارای بیشترین تعداد ROH و کروموزوم ۲۶ دارای کمترین تعداد ROH بود. بیشترین تعداد ROHet نیز در هر دو جمعیت سالم و بیمار روی کروموزوم ۱ و کمترین روی کروموزوم ۲۴ بود (جدول ۳).

جدول ۳. تعداد، درصد و میانگین برای هموزیگوسیتی (ROH) و هتروزیگوسیتی (ROHet) در کروموزوم‌های مختلف.

جمعیت	شماره کروموزوم	ROH			ROHet		
		تعداد ROH	درصد	میانگین (مگا جفت باز)	تعداد ROHet	درصد	میانگین (مگا جفت باز)
سالم	۱	۷۶۶۲	۰/۱۱۱۱	۰/۷۳۲۴	۸۳۱۶۱	۰/۱۱۲۷	۰/۰۸۱۷
	۲	۷۱۴۳	۰/۱۰۲۵	۰/۷۸۸۰	۷۶۲۵۹	۰/۱۰۴۳	۰/۰۸۴۱
	۳	۶۹۰۷	۰/۱۰۰۱	۰/۸۲۳۲	۷۰۳۶۹	۰/۰۹۶۲	۰/۰۸۴۸
	۴	۳۳۸۹	۰/۰۴۹۱	۰/۶۸۶۲	۳۶۵۲۷	۰/۰۴۹۹	۰/۰۸۱۸
	۵	۳۰۷۲	۰/۰۴۴۵	۰/۸۰۱۵	۳۲۶۶۰	۰/۰۴۴۶	۰/۰۸۶۵
	۶	۳۴۱۶	۰/۰۴۹۵	۰/۷۹۹۰	۳۴۳۱۷	۰/۰۴۶۹	۰/۰۸۶۷
	۷	۲۶۳۱	۰/۰۳۸۱	۰/۷۶۶۶	۲۹۹۷۰	۰/۰۴۰۹	۰/۰۸۰۷
	۸	۲۳۷۴	۰/۰۳۴۴	۰/۸۱۷۸	۲۷۸۶۹	۰/۰۳۸۱	۰/۰۸۴۱
	۹	۲۴۹۵	۰/۰۳۶۱	۰/۷۵۰۴	۲۷۰۱۴	۰/۰۳۶۹	۰/۰۷۹۲
	۱۰	۲۴۳۴	۰/۰۳۵۲	۱/۰۱۲۰	۲۵۵۷۶	۰/۰۳۴۹	۰/۰۸۶۳
	۱۱	۱۷۹۷	۰/۰۲۶۰	۰/۸۳۴۱	۱۹۴۳۵	۰/۰۲۶۵	۰/۰۸۵۷
	۱۲	۲۱۳۴	۰/۰۳۰۹	۰/۷۳۱۶	۲۳۴۸۵	۰/۰۳۲۱	۰/۰۸۲۲
	۱۳	۲۸۲۲	۰/۰۴۰۹	۰/۷۹۴۷	۲۶۰۵۷	۰/۰۳۵۶	۰/۰۹۵۲
	۱۴	۱۷۸۲	۰/۰۲۵۸	۰/۸۸۷۳	۱۸۴۸۶	۰/۰۲۵۲	۰/۰۸۷۷
	۱۵	۲۴۵۸	۰/۰۳۵۶	۰/۷۰۴۵	۲۳۶۹۸	۰/۰۳۲۴	۰/۰۸۸۲
	۱۶	۱۸۰۴	۰/۰۲۶۱	۰/۷۹۰۲	۲۰۳۹۶	۰/۰۲۷۹	۰/۰۸۰۲
	۱۷	۱۸۸۸	۰/۰۲۷۳	۰/۷۴۰۲	۲۰۲۶۳	۰/۰۲۷۷	۰/۰۷۹۰
	۱۸	۲۲۱۳	۰/۰۳۲۰	۰/۶۹۴۷	۱۹۶۵۴	۰/۰۲۶۸	۰/۰۸۲۴
	۱۹	۱۶۲۴	۰/۰۲۳۵	۰/۷۶۵۲	۱۸۱۵۰	۰/۰۲۴۸	۰/۰۸۰۵
	۲۰	۱۳۷۶	۰/۰۱۹۹	۰/۸۴۰۱	۱۴۴۳۴	۰/۰۱۹۷	۰/۰۸۳۸
	۲۱	۱۳۶۲	۰/۰۱۹۷	۰/۸۱۸۹	۱۲۷۰۷	۰/۰۱۷۳	۰/۰۸۲۷
	۲۲	۱۳۹۲	۰/۰۲۰۱	۰/۷۴۲۹	۱۵۶۲۳	۰/۰۲۱۳	۰/۰۷۷۵
	۲۳	۱۵۸۴	۰/۰۲۲۹	۰/۷۶۳۶	۱۷۱۰۹	۰/۰۲۳۴	۰/۰۷۹۰
	۲۴	۱۰۳۴	۰/۰۱۴۹	۰/۸۸۲۴	۱۲۳۷۳	۰/۰۱۶۹	۰/۰۷۹۰
	۲۵	۱۱۶۰	۰/۰۱۶۸	۰/۷۰۰۱	۱۲۶۳۴	۰/۰۱۷۲	۰/۰۷۳۵
	۲۶	۱۰۰۶	۰/۰۱۴۵	۰/۸۱۶۴	۱۲۸۰۰	۰/۰۱۷۵	۰/۰۷۸۹
بیمار	۱	۳۸۰۸	۰/۱۱۰۱	۰/۷۵۲۷	۴۱۴۱۲	۰/۱۱۳۷	۰/۰۸۱۱
	۲	۳۵۷۰	۰/۱۰۳۲	۰/۸۲۷۷	۳۸۰۰۱	۰/۱۰۴۳	۰/۰۸۴۳

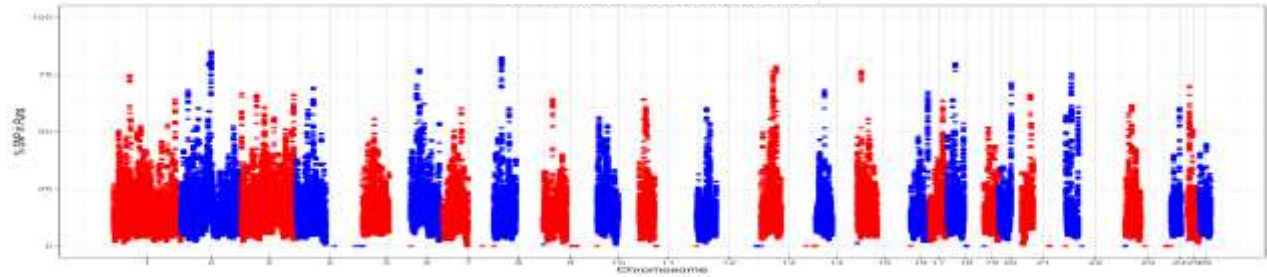
۳	۳۴۴۶	-/۰.۹۹۶	-/۷۹۳۹	۳۵۲۰۴	-/۰.۹۶۶	-/۰.۸۴۹
۴	۱۶۷۲	-/۰.۴۸۳	-/۶۹۳۳	۱۸۲۱۴	-/۰.۵۰۰	-/۰.۸۱۳
۵	۱۴۸۹	-/۰.۴۳۰	-/۷۸۶۰	۱۶۴۶۵	-/۰.۴۵۲	-/۰.۸۲۵
۶	۱۶۶۸	-/۰.۴۸۲	۱/۰.۸۳۱	۱۶۸۵۱	-/۰.۴۶۲	-/۰.۸۸۰
۷	۱۳۱۷	-/۰.۳۸۰	-/۸۱۲۴	۱۴۹۲۲	-/۰.۴۰۹	-/۰.۸۱۴
۸	۱۲۱۲	-/۰.۳۵۰	-/۹۵۱۳	۱۳۹۷۷	-/۰.۳۸۳	-/۰.۸۰۱
۹	۱۲۸۸	-/۰.۳۷۲	-/۷۱۶۲	۱۳۳۶۹	-/۰.۳۶۷	-/۰.۷۹۹
۱۰	۱۲۱۸	-/۰.۳۵۲	۱/۱۷۲۹	۱۲۵۱۹	-/۰.۳۴۳	-/۰.۸۵۶
۱۱	۹۰۶	-/۰.۲۶۲	-/۸۶۰۳	۹۷۳۵	-/۰.۲۶۷	-/۰.۸۶۶
۱۲	۱۰۴۳	-/۰.۳۰۱	-/۷۴۲۲	۱۱۵۸۵	-/۰.۳۱۸	-/۰.۸۲۱
۱۳	۱۴۳۲	-/۰.۴۱۴	-/۷۸۴۵	۱۲۷۴۶	-/۰.۳۵۰	-/۰.۹۶۳
۱۴	۹۳۹	-/۰.۲۷۱	-/۷۶۳۸	۸۹۷۰	-/۰.۲۴۶	-/۰.۸۱۶
۱۵	۱۲۶۳	-/۰.۳۶۵	-/۷۵۳۳	۱۱۹۶۸	-/۰.۳۲۸	-/۰.۹۴۳
۱۶	۹۰۷	-/۰.۲۶۲	-/۸۳۷۸	۱۰۱۸۶	-/۰.۲۷۹	-/۰.۸۰۲
۱۷	۹۵۲	-/۰.۲۷۵	-/۷۰۲۰	۱۰۱۵۹	-/۰.۲۷۹	-/۰.۷۸۴
۱۸	۱۱۲۹	-/۰.۳۲۶	-/۶۷۳۹	۹۷۶۹	-/۰.۲۶۸	-/۰.۸۲۰
۱۹	۸۰۴	-/۰.۲۳۲	-/۷۷۵۲	۹۰۸۳	-/۰.۲۴۹	-/۰.۸۱۴
۲۰	۶۸۹	-/۰.۱۹۹	-/۸۷۶۱	۷۳۲۸	-/۰.۲۰۱	-/۰.۸۰۹
۲۱	۶۷۷	-/۰.۱۹۵	-/۸۴۴۰	۶۳۰۷	-/۰.۱۷۳	-/۰.۸۲۳
۲۲	۶۸۰	-/۰.۱۹۶	-/۷۴۴۰	۷۹۷۳	-/۰.۲۱۸	-/۰.۷۸۴
۲۳	۸۴۹	-/۰.۲۴۵	-/۶۹۷۲	۸۶۴۷	-/۰.۲۳۷	-/۰.۷۸۹
۲۴	۵۱۳	-/۰.۱۴۸	-/۶۶۳۱	۶۱۶۲	-/۰.۱۶۹	-/۰.۷۸۹
۲۵	۵۹۷	-/۰.۱۷۲	-/۶۴۰۸	۶۲۴۱	-/۰.۱۷۱	-/۰.۷۴۴
۲۶	۵۰۱	-/۰.۱۴۴	-/۸۷۶۸	۶۳۳۲	-/۰.۱۷۳	-/۰.۷۹۱

به طور کلی، ۱۷ منطقه بارز در جزایر ROH با فراوانی بیش از ۷۰ درصد در جمعیت سالم و ۱۰ منطقه بارز در جمعیت بیمار در کروموزوم‌های مختلف وجود داشت. علاوه بر این، برای ROHet، ۶ ناحیه دارای فراوانی بیش از ۶۰ درصد در جمعیت سالم و ۱۹ منطقه در جمعیت بیمار در کروموزوم‌های مختلف حضور داشت (شکل ۲).

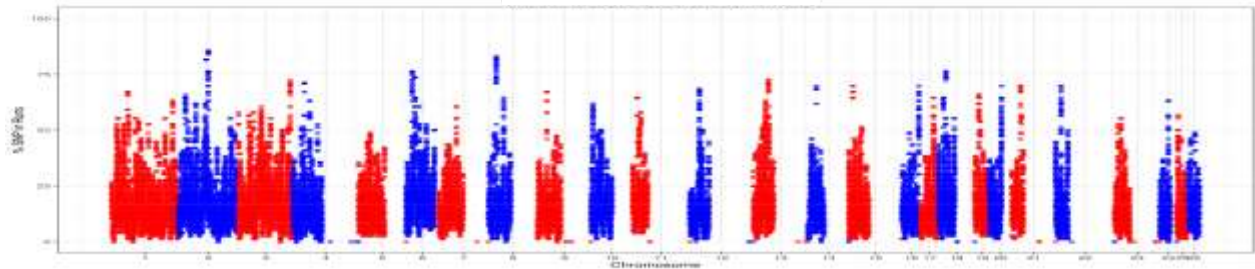


شکل ۱. توزیع ضریب همخوانی ژنومی (F_{ROH}) در گوسفند آلباین.

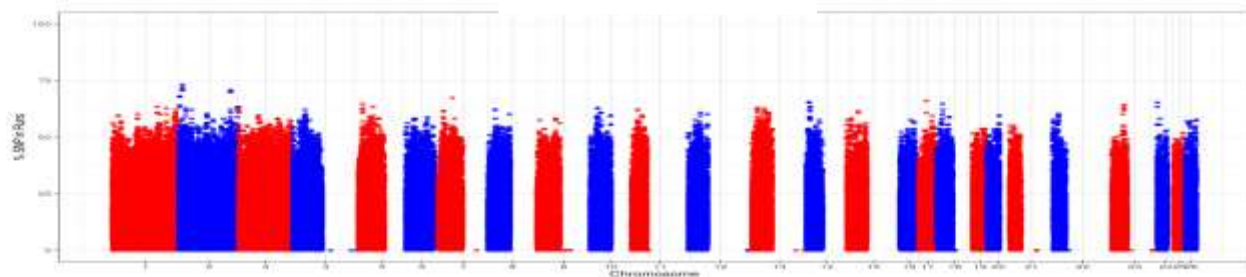
توزیع ROH در جمعیت سالم



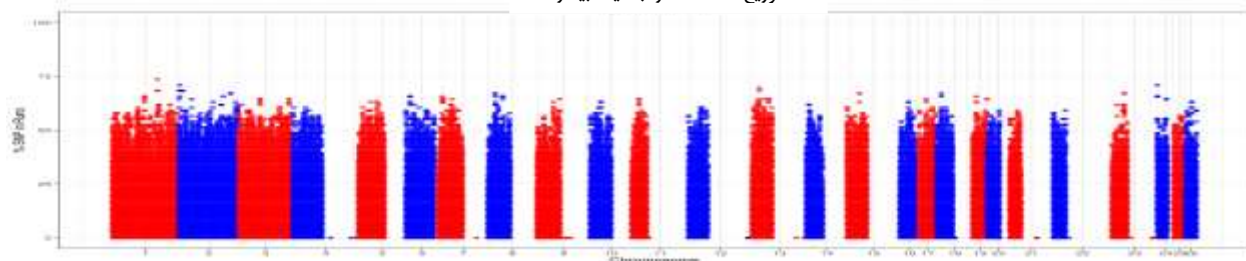
توزیع ROH در جمعیت بیمار



توزیع ROHet در جمعیت سالم



توزیع ROHet در جمعیت بیمار



شکل ۲. توزیع جزایر الگوهای هموزیگوسیتی (ROH) و هتروزیگوسیتی (ROHet) در جمعیت سالم و بیمار گوسفند آلباین در هر کروموزوم. محور X نشان‌دهنده شماره کروموزوم و محور Y نشان‌دهنده درصد SNP در هر الگو می‌باشد.

ژن‌های شناسایی شده توسط نقاط داغ ROH

در آنالیز ROH، ژن‌های شناسایی شده شامل ۸۱ شناسه Ensembl بود، اما تنها ۲۶ مورد از آن‌ها عملکردهای شناخته شده داشتند که برای حیوانات سالم روی کروموزوم ۱، ۲، ۸، ۱۳، ۱۵، ۱۸ و ۲۲ و برای حیوانات بیمار روی کروموزوم‌های ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۳ و ۱۸ توزیع شده بودند.

در جمعیت سالم، برخی از ژن‌های شناسایی شده در این مطالعه با ژن‌های کاندید گزارش شده در مطالعات قبلی مطابقت داشتند. این ژن‌ها روی کروموزوم ۲ (*FSIP2*)، کروموزوم ۸ (*POPDC3*)، کروموزوم ۱۵ (*RAB39A*)، کروموزوم ۱۸ (*SIN3A*، *PTPN9*)، کروموزوم ۲۲ (*COMMD4* و *MAN2C1*) و کروموزوم ۲۲ (*LDB1*) قرار داشتند. برخی از این ژن‌های شناسایی شده در جمعیت سالم، در جمعیت بیمار نیز مشاهده شدند؛ از جمله ژن‌های شناسایی شده روی کروموزوم ۲ (*FSIP2*)، کروموزوم ۸ (*POPDC3*) و کروموزوم ۱۸ (*COMMD4* و *MAN2C1*، *SIN3A*، *PTPN9*).

ژن‌های شناسایی شده توسط نقاط داغ ROHet

در آنالیز ROHet، ۹۴۷ شناسه Ensembl شناسایی شد که ۵۲۷ مورد از آن‌ها عملکردهای شناخته شده‌ای داشتند و برای هر دو جمعیت سالم و بیمار روی کروموزوم ۲۴ توزیع شده بودند. شناسه‌های ژن Ensembl که دارای عملکرد شناخته شده نبودند از لیست حذف شدند و مورد بررسی قرار نگرفتند. برخی از ژن‌های شناسایی شده در جمعیت سالم و بیمار در این مطالعه، با ژن‌های کاندید گزارش شده در مطالعات قبلی مطابقت داشتند (جدول ۴).

جدول ۴. ژن‌های شناسایی شده منطبق با ژن‌های کاندید گزارش شده در مطالعات قبلی با استفاده از آنالیز ROHet

ژن‌ها	شماره کروموزوم	جمعیت
<i>TEKT4, MGRN1, ROGDI, GLYR1, UBN1, PPL, UNKL, CCDC154, IFT140, DNAJA3, NMRAL1, HCFC1R1, THOC6, CLDN9, CLDN6, TNFRSF12A, BICDL2, MMP25, MAPK8IP3, ADCY9, IL32, TNFRSF12A, CLCN7, E4F1, CLDN9, ZNF598, HMOX2, PAQR4, PTX4, TRAF7, SEC14L5, AMDHD2, ZNF75A, NAA60, NLRC3, TFAP4, GLIS2, VASN, NUDT16L1, ANKS3, ZNF500, EEF2KMT, ALG1, SEC14L5, RBFOX1, NAGPA, ADRA1D, SOX8, SSTR5, IGFALS, NPW, RPL3L, SLC9A3R2, RNF151</i>	۲۴	سالم
<i>GNG13</i>	۲۴	بیمار

حاشیه نویسی ژن

نتایج هستی‌شناسی ژن در هر دو آنالیز ROHet و ROH به صورت $P\text{-value} < 0.05$ معنی‌دار در نظر گرفته شدند. در آنالیز ROH، تنها یک مسیر KEGG در جمعیت سالم شناسایی شد که مربوط به سیگنال دهی آدرنژیک در کاردیومیوسیت‌ها بود (جدول ۵). در آنالیز ROHet، ۹ فرآیند مربوط به اجزای سلولی، ۹ فرآیند مرتبط با عملکرد مولکولی و ۱۱ مسیر KEGG در جمعیت سالم شناسایی شدند (جدول ۵).

جدول ۵. تجزیه و تحلیل هستی‌شناسی ژن و مسیر KEGG ($P\text{-value} < 0.05$)

ژن‌ها	P-value	مسیر عملکردی	طبقه	آنالیز
<i>POPDC3, ADRA1D, BVES</i>	۰/۰۰۷۵	سیگنال دهی آدرنژیک در کاردیومیوسیت‌ها	KEGG	ROH
<i>CLDN6, CLDN4, CLDN3, TMEM114</i>	۰/۰۰۳۶	غشای پلاسمایی Apicolateral	اجزای سلولی	ROHet
<i>CHITA, SMG1, DOC2A, KDM8, LITAF, BAIAP2L1, XPO6, BUD23, GET4, ILAR, PRKCB, NSUN5, ABCC6, ZNF12, WIP12, RNF40, METTL22, SCNN1G, GPRC5B, ARMC5, SBDS, NUPR1, CEP20, DAGLB, PRR14, GLYR1, GTF3C1, DCTN5, INO80E, SRRT, ARHGAP17, DTX2, MEFV, CYTH3, SLX4, ZNHIT1, PPP4C, HIRIP3, RNF216, PMS2, ZNF789, E4F1, RPS2, TRAP1, RHBDD2, PMM2, LRWD1, PALB2, NMRAL1, LYRM1, MLXIPL, TBL3, COPS6, TFAP4, STAG3, TAOK2, POLR3E, GTF2IRD1, RBAK, CLUAP1, ANKRD61, TNRC6A, TECPR1</i>	۰/۰۰۵۳	نوکلئوپلاسم	اجزای سلولی	ROHet
<i>ITGAM, ITGAD, ITGAX, ITGAL</i>	۰/۰۱۸۶	کمپلکس اینتگرین	اجزای سلولی	ROHet
<i>CYTH3, CLDN6, CLDN4, CLDN3, CLDN15, CLDN9, UBN1</i>	۰/۰۲۲۲	اتصال محکم دو سلولی	اجزای سلولی	ROHet
<i>TEDC2, IFT140, PPP1R35, CCNE, PLK1, CCP110, CEP20</i>	۰/۰۳۱۰	سانتریول	اجزای سلولی	ROHet

اجزای سلولی	غشای گلژی	./0.365	<i>TPST1, COG7, RHBDD2, RAB26, CHST12, GALNT17, KDELR2, EMP2, MAPK8IP3</i>
اجزای سلولی	هسته	./0.404	<i>GTF3C1, INO80E, RRN3, COG7, DOC2A, NSUN5, LRWD1, REXO5, RSL1D1, METTL22, TBL3, GPRC5B, HIRIP3, STAG3, XPO6, TAOK2, SBDS, BUD23, ZNF655, GET4</i>
اجزای سلولی	کمپلکس Slx1-Slx4	./0.490	<i>SLX4, SLX1A</i>
اجزای سلولی	کمپلکس فسفوریلاز کیناز	./0.490	<i>PHKG1, PHKG2</i>
عملکرد مولکولی	اتصال یون فلزی	./0.019	<i>ITGAM, TGFB111, PARN, ATP2A1, ZNF3, ITGAL, NUBP1, NUBP2, SNN, SLX4, PPP4C, RNF216, ZC3H7A, NTHL1, AMDHD2, ITGAX, ZNF768, KAT8, ZKSCAN2, ZNF789, ZNF205, ZNF689, UNKL, HMOX2, PSPH, ZKSCAN1, FUS, LIMK1, BFAR, ZNF12, BAZ1B, COQ7, RNF40, MBLAC1, ITGAD, DNAJA3, TRIP6, CDIP1, ZNF316, SLX1A, TNP2, HAGH, RBAK, ZNF598, YPEL3</i>
عملکرد مولکولی	فعالیت آروماتاز	./0.035	<i>CYP3A24</i>
عملکرد مولکولی	اتصال فاکتور شروع ترجمه	./0.296	<i>TBL2, EIF3B</i>
عملکرد مولکولی	اتصال هیستون متیله	./0.309	<i>ZCWPW1, KDM8, KAT8, LRWD1, GLYR1</i>
عملکرد مولکولی	اتصال 4 آهن، 4 گوگرد	./0.391	<i>NTHL1, NUBP1, NUBP2</i>
عملکرد مولکولی	اجزای ساختاری پوشش تخم مرغ	./0.453	<i>ZP3, ZP2</i>
عملکرد مولکولی	فعالیت لیگاز بوتیرات-کوآ	./0.453	<i>ACSM3, ACSM1</i>
عملکرد مولکولی	فعالیت لیگاز اسید چرب	./0.453	<i>ACSM3, ACSM1</i>
عملکرد مولکولی	فعالیت فسفوریلاز کیناز	./0.453	<i>PHKG1, PHKG2</i>
KEGG	مسیر کم‌خونی Fanconi	./0.009	<i>RMI2, SLX4, ERCC4, EME2, PMS2, SLX1A, PALB2, TELO2</i>
KEGG	مهاجرت ترانس اندوتلیال لکوسیت	./0.0096	<i>CLDN6, CLDN4, ITGAM, CLDN3, NCF1, CLDN15, CLDN9, PRKCB, MYL10, RAC1, ITGAL, ACTB</i>
KEGG	متابولیسم بوتانوات	./0.079	<i>ACSM3, ACSM1, ABAT, ACSM5, ACSM2B</i>
KEGG	لیزوزوم	./0.100	<i>GGA2, AP4M1, CLN3, GNPTG, LITAFD, AP1S1, GUSB, NAGPA, LITAF, ATP6V0C</i>
KEGG	اتصال محکم	./0.229	<i>CLDN6, CLDN4, CLDN3, CLDN15, CLDN9, ARPC1B, ARPC1A, MICALL2, ARHGAP17, MYH11, RAC1, ACTB</i>
KEGG	انتقال دهنده های ABC	./0.237	<i>ABCC1, ABCA3, ABCC6</i>
KEGG	فاگوسیتوز با واسطه-R گاما Fc	./0.246	<i>NCF1, PRKCB, ARPC1B, LIMK1, ARPC1A, RAC1, LAT, MAPK3</i>
KEGG	متابولیسم اسید لینولئیک	./0.259	<i>CYP3A24</i>
KEGG	تنظیم اسکلت سلولی اکتین	./0.272	<i>ITGAM, ARPC1B, LIMK1, ARPC1A, PDGFA, ITGAL, ACTB, ITGAD, GNA12, ITGAX, MYL10, MYH11, RAC1, MAPK3</i>
KEGG	بازجذب سدیم تنظیم شده توسط آلدوسترون	./0.282	<i>SCNN1G, PRKCB, PDPK1, SCNN1B, MAPK3</i>

بحث

تعداد و طول ROH و ROHet به دست آمده در این تحقیق با نتایج به دست آمده از مطالعات قبلی در گاو (Biscarini *et al.*, 2020)، بوقلمون (Marras *et al.*, 2018)، اسب (Santos *et al.*, 2021) و گوسفند (Tsartsianidou *et al.*, 2021) متفاوت بود. به عنوان مثال، میانگین تعداد ROH شناسایی شده در مطالعه حاضر به ازای هر حیوان سالم (۳۰/۸۵) و بیمار (۳۲/۴۵) از مطالعات انجام شده در گاو (۲۲/۲۷) (Biscarini *et al.*, 2020) بیشتر و از گوسفند (۴۴/۱) (Tsartsianidou *et al.*, 2021) کمتر بود. همچنین میانگین تعداد ROHet شناسایی شده در مطالعه حاضر به ازای هر حیوان سالم (۳۴/۳۴) و بیمار (۳۱/۱۸) از مطالعات انجام شده در بوقلمون (۵۷/۸۰) (Marras *et al.*, 2018) و اسب (۵۲/۱۷) (Santos *et al.*, 2021) کمتر بود. با این وجود، نتایج ما با این مطالعات مطابقت داشت؛ به طوری که بیشترین نسبت ROH و ROHet، مربوط به کوتاه‌ترین طول (کمتر از ۶ مگا جفت‌باز) بود. به طور کلی در مطالعه حاضر، میانگین تعداد و طول ROH در حیوانات بیمار بیشتر از حیوانات سالم بود، در حالی که برای ROHet عکس آن صادق بود.

در آنالیز ROH برای جمعیت سالم، برخی از ژن‌های شناسایی شده در این مطالعه با ژن‌های کاندید مختلفی که در مطالعات پیشین گزارش شدند در ارتباط بودند؛ از جمله ژن *FSIP2* با صفات تولید مثلی، *POPDC3* با صفات تولیدی، *RAB39A* با سیستم ایمنی، *PTPN9* با سازگاری، *SIN3A* با تولید شیر، *MAN2C1* با ورم پستان، *COMMD4* با مقاومت به بیماری و *LDB1* با سازگاری. برخی از این ژن‌ها دارای همپوشانی بودند؛ بدین معنی که در جمعیت بیمار نیز شناسایی شدند. از جمله ژن‌های *POPDC3*، *PTPN9*، *SIN3A*، *MAN2C1* و *COMMD4*.

در آنالیز ROHet برای جمعیت سالم، تعدادی از ژن‌های شناسایی شده در این مطالعه با ژن‌های کاندید گزارش شده در مطالعات قبلی مطابقت داشتند؛ از جمله ژن‌های مرتبط با سیستم ایمنی (*IL32*، *ADCY9*، *MAPK8IP3*)، پاسخ التهابی (*TNFRSF12A*)، سازگاری (*CLDN9*، *E4F1*، *CLCN7*)، *HMOX2*، *ZNF598*، *PAQR4*)، اندازه بدن (*TRAF7*، *SEC14L5*)، صفات شیر (*AMDHD2*)، صفات رشد (*IGFALS*، *SSTR5*، *SOX8*) و کیفیت گوشت (*SLC9A3R2*، *RPL3L*).

یکی از ژن‌های شناسایی شده در این مطالعه *DNAJA3* بود. این ژن در مطالعه‌ای به منظور بررسی الگوی هموزیگوسیتی گاوهای بومی پاکستان توسط Saif-ur-Rehman *et al.*, 2023 شناسایی و گزارش شد که نقش ضد ویروسی مهمی را در برابر بیماری تب برفکی از طریق تخریب VP1 و بازیابی مسیر سیگنالینگ IFN- β ایفا می‌کند. استرس می‌تواند با ایجاد تغییر در فرآیندهای التهابی بر سیستم ایمنی بدن تأثیر بگذارد و پاسخ التهابی حیوان، یک مکانیسم بقا برای مقابله با پاتوژن‌های بیماری‌زا یا غیر بیماری‌زا است. یکی دیگر از ژن‌هایی که در این مطالعه شناخته شد *NMRAL1* می‌باشد که یک ژن کاندید در نژاد Saanen، مربوط به سنتز اکسید نیتریک است و شاید بتواند در فعال شدن فرآیندهای التهابی نقش داشته باشد (Manunza *et al.*, 2023). ژن دیگر *MGRNI* است که توسط Carracelas *et al.*, 2022 به عنوان یکی از ژن‌های معنی‌دار برای این بیماری معرفی شد. در مطالعه آن‌ها، شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با مقاومت انگل به نماتدهای دستگاه گوارش در گوسفند Corriedale با استفاده از مطالعات ارتباطی گسترده ژنومی تک مرحله ای (ssGWAS¹) انجام شد.

¹. Single step Genome Wide Association Study

ژن *GNGL3* که در مطالعه حاضر در جمعیت بیمار شناسایی شد، با ژن کاندید گزارش شده در مطالعه Hildersley *et al.*, 2021 مطابقت داشت. در مطالعه ذکر شده، این ژن برای بیماری عفونت انگل روده گوسفند معنی‌دار شناخته‌شد.

نشانه‌های انتخابی در گوسفند سفید آلباین توسط Signer-Hasler *et al.*, 2019 روی کروموزوم ۶ در ۳۵/۶۵ مگا جفت‌باز و در ۳۶/۶۹ مگا جفت‌باز شناسایی شد. در این مناطق، ژن‌های مختلف مرتبط با اندازه بدن (*NCAPG* و *LCORL*)، تولید شیر (*ABCG2*)، *MEPE*، *LAP3* و *NCAPG* و همچنین ژن‌های مرتبط با اندازه تعداد شکم زایش (*SPP1*) قرار داشتند. با این حال، هیچ ارتباط شناخته شده‌ای بین ژن‌ها در این مناطق و وراثت‌پذیری صفات مهم فنوتیپی در حیوانات اهلی و سایر پستانداران شناخته نشد.

هستی‌شناسی ژن، غنی‌سازی عملکردی مجموعه‌های ژنی را فراهم کرده‌است. از بین مسیرهای شناسایی شده، غنی‌ترین مسیر عملکردی شناسایی شده اجزای سلولی، مربوط به "غشاء پلاسمایی Apicolateral" است. این مسیر عملکردی مربوط به ساختار و عملکرد غشای پلاسمایی است که بیرونی‌ترین لایه سلول است و می‌تواند پیشنهاد دهد که گوسفندان مقاوم به گندیدگی سم دارای تفاوت‌هایی در ساختار یا عملکرد غشای پلاسمایی اپیکال خود هستند که احتمالاً به مقاومت آن‌ها در برابر گندیدگی سم کمک می‌کند.

مهمترین مسیر عملکردی شناسایی شده عملکرد مولکولی، مربوط به "اتصال یون فلزی" است. این مسیر به توانایی پروتئین‌ها یا ژن‌های خاص برای اتصال به یون‌های فلزی مانند روی، آهن یا مس اشاره دارد و ممکن است نشان‌دهنده دخالت بالقوه ژن‌های مرتبط با این عملکرد در تنظیم مقاومت/حساسیت به گندیدگی سم باشد. اتصال یون فلزی یک عملکرد مولکولی حیاتی در فرآیندهای بیولوژیکی مختلف از جمله پاسخ ایمنی، استرس اکسیداتیو و فعالیت آنزیمی است (Andreini *et al.*, 2006). بنابراین، غنی‌سازی این مسیر در این مطالعه ممکن است نشان دهد که ژن‌های دخیل در اتصال یون‌های فلزی می‌توانند در پاسخ ایمنی یا سایر مکانیسم‌های مرتبط با مقاومت به گندیدگی سم نقش داشته باشند.

مهمترین مسیر KEGG "مسیر کم‌خونی Fanconi" است که در ترمیم DNA آسیب دیده، به ویژه در حین تکثیر نقش دارد و جهش در ژن‌های مرتبط با این مسیر می‌تواند منجر به کم‌خونی Fanconi شود. مقاومت/حساسیت به گندیدگی سم به طور بالقوه می‌تواند شامل عوامل ژنتیکی مرتبط با ترمیم آسیب DNA باشد، زیرا این بیماری ممکن است باعث آسیب به سلول‌ها شود.

به طور کلی، نتایج حاصل از GO و KEGG نشان می‌دهد که مقاومت/حساسیت به گندیدگی سم در گوسفندان آلباین با تفاوت‌هایی در تعداد فرآیندهای سلولی از جمله اتصال بین سلول‌ها، سازماندهی ماتریکس خارج سلولی، پاسخ التهابی و اسکلت سلولی اکتین و ... مرتبط است. این تفاوت‌ها ممکن است نفوذ در سم‌ها و ایجاد بیماری را برای باکتری‌های ایجاد کننده گندیدگی سم دشوارتر کند. تحقیقات بیشتری برای شناسایی ژن‌ها و مسیرهای خاص مسئول مقاومت/حساسیت به گندیدگی سم در گوسفندان آلباین ضروری است. دانش به‌دست آمده سپس می‌تواند برای توسعه استراتژی‌های جدید برای پیشگیری و درمان گندیدگی سم در گوسفندان مورد استفاده قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از بررسی ضریب همخونی ژنومی گوسفندان سفید آلباین سوئیس نشان داد که این ضریب از ۰/۰۳ تا ۰/۱۱، با میانگین ۰/۰۷۸ در جمعیت سالم و از ۰/۰۲۸ تا ۰/۱۲ با میانگین ۰/۰۸ در جمعیت بیمار برای کل ژنوم به صورت کلی در دو جمعیت متغیر بود. کروموزوم ۲ و کروموزوم ۱ بیشترین درصد F_{ROH} و کروموزوم ۸ کمترین درصد F_{ROH} را داشتند. تعداد کل ROH و ROHet در جمعیت سالم بیشتر از جمعیت بیمار بیشتر از جمعیت سالم و میانگین طول ROHet در

جمعیت سالم بیشتر از جمعیت بیمار بود. جزایر شناسایی شده با استفاده از روش ROH در جمعیت سالم بیشتر از جمعیت بیمار و با استفاده از روش ROHet در جمعیت بیمار بیشتر از جمعیت سالم بود. همخوانی در جمعیت بیمار از نوع همخوانی جدید و در جمعیت سالم از نوع همخوانی قدیمی بود. با استفاده از آنالیزهای ROH و ROHet، ۵۵۳ ژن کاندید در داخل نشانه‌های انتخاب شناسایی شدند. ژن‌های شناسایی شده در جزایر ROH در این مطالعه، مرتبط با صفات تولید مثلی، صفات تولیدی، سیستم ایمنی، سازگاری، تولید شیر، ورم پستان، مقاومت به بیماری و سازگاری بودند. این ژن‌ها در جزایر ROHet مرتبط با سیستم ایمنی، پاسخ التهابی، سازگاری، اندازه بدن، وزن بدن، ویژگی‌های ساختار بدن، تعداد شکم زایش، صفات شیر، وزن گوساله هنگام تولد، تداوم شیردهی، صفات رشد و کیفیت گوشت بودند. همچنین، آنالیزهای ROH و ROHet باعث شناسایی ژن‌های جدیدی شد که عملکردهای مهمی در فرآیندهای سلولی و مولکولی و مسیرهای KEGG دارند.

منابع

1. Andreini, C., Banci, L., Bertini, I. & Rosato, A. (2006). Counting the zinc-proteins encoded in the human genome. *Journal of Proteome Research*, 5(1), 196-201.
2. Biscarini, F., Cozzi, P., Gaspa, G. & Marras, G. (2018). detectRUNS: Detect runs of homozygosity and runs of heterozygosity in diploid genomes.
3. Biscarini, F., Mastrangelo S., Catillo, G., Senczuk, G., & Ciampolini, R. (2020). Insights into genetic diversity, runs of homozygosity and heterozygosity-rich regions in Maremmana semi-feral cattle using pedigree and genomic data. *Animals (Basel)*, 10, 2285.
4. Bjelland, D.W., Weigel, K.A., Vukasinovic N., & Nkrumah. J.D. (2013). Evaluation of inbreeding depression in Holstein cattle using whole genome SNP markers and alternative measures of genomic inbreeding. *Journal of Dairy Science*, 96, 4697-4706.
5. Burren, A., Flury, C., Aeschlimann, C., Hagger, C. & Rieder, S. (2012). Population structure and genetic diversity of Swiss sheep breeds. *Agrarforschung Schweiz*, 19(3), 140-147.
6. Carracelas, B., Navajas, E.A., Vera, B. & Ciappesoni, G. (2022). Genome-Wide Association Study of Parasite Resistance to Gastrointestinal Nematodes in Corriedale Sheep. *Genes*, 13(9), 1548.
7. Ceballos, F. C., Joshi, P. K., Clark, D. W., Ramsay, M., & Wilson, J. F. (2018). Runs of Homozygosity: Windows into Population History and Trait Architecture. *Nature Review Genetics*, 19, 220–234.
8. Curik, I., Ferencaković, M., & Sölkner, J. (2014). Inbreeding and runs of homozygosity: A possible solution to an old problem. *Livestock Science*, 166, 26–34,
9. Dhungyel, O., Schiller, N., Eppleston, J., Lehmann, D., Nilon, P., Ewers, A. & Whittington, R. (2013). Outbreak-specific monovalent/bivalent vaccination to control and eradicate virulent ovine footrot. *Vaccine*, 31(13), 1701-1706.
10. Dzomba, E.F., Chimonyo, M., Pierneef, R. and Muchadeyi, F.C. (2021). Runs of homozygosity analysis of South African sheep breeds from various production systems investigated using OvineSNP50k data. *BMC genomics*, 22(1), 1-14.
11. Hamazaki, Y., Itoh, M., Sasaki, H., Furuse, M. & Tsukita S. (2002). Multi-PDZ domain protein 1 (MUPP1) is concentrated at tight junctions through its possible interaction with claudin-1 and junctional adhesion molecule. *Journal of Biological Chemistry*, 277, 455–61.
12. Hildersley, K.A., McNeilly, T.N., Gillan, V., Otto, T.D., Löser, S., Gerbe, F., Jay, P., Maizels, R.M., Devaney, E. & Britton, C. (2021). Tuft cells increase following ovine intestinal parasite infections and define evolutionarily conserved and divergent responses. *Frontiers in Immunology*, 12, 781108.
13. Huang, D.W., Sherman, B.T., & Lempicki, R.A. (2009). Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources. *Nature protocols*, 4(1), 44-57.
14. Lanaspá, M.A., Almeida, N.E., Andres-Hernando, A., Rivard, C.J., Capasso, J.M. & Berl, T. (2007). The tight junction protein, MUPP1, is up-regulated by hypertonicity and is important in the osmotic stress response in kidney cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(34), 13672-13677.

15. Manunza, A., Diaz, J.R., Sayre, B.L., Cozzi, P., Bobbo, T., Deniskova, T., Dotsev, A., Zinovieva, N. & Stella, A. (2023). Discovering novel clues of natural selection on four worldwide goat breeds. *Scientific Reports*, 13(1), 2110.
16. Marras, G., Gaspa, G., Sorbolini, S., Dimauro, C., Ajmone-Marsan, P., Valentini, A., Williams, J. L., & Macciotta, N. P. P. (2015). Analysis of runs of homozygosity and their relationship with inbreeding in five cattle breeds farmed in Italy. *Animal Genetics*, 46, 110–121.
17. Marras, G., Wood, B. J., Mekanjuola, B., Malchiodi, F., Peeters, K., Van As, P., Baes, C. F., Biscarini, F., & Turkeys, H. (2018). Characterization of runs of homozygosity and heterozygosity-rich regions in a commercial Turkey (*Meleagris gallopavo*) population. *Proceedings of the World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*, 11, 763.
18. McQuillan, R., Leutenegger, A.L., Abdel-Rahman, R., Franklin, C.S., Pericic, M., & Barac-Lauc, L. (2008). Runs of homozygosity in European populations. *Am. J. Hum. Gene*, 83, 359–372.
19. Mucha, S., Bunger, L., & Conington, J. (2015). Genome-wide association study of footrot in Texel sheep. *Genetics Selection Evolution*, 47, 35.
20. Niggeler, A., Tetens, J., Stäuble, A., Steiner A., & Drögemüller C. (2017). A genome-wide significant association on chromosome 2 for footrot resistance/susceptibility in Swiss White Alpine sheep. *Animal Genetics*, 48(6):712-715.
21. Purcell, S., Neale, B., Todd-Brown, K., Thomas, L., Ferreira, M.A., Bender, D., *et al.* (2007). PLINK: a tool set for whole genome association and population-based linkage analyses. *American Journal of Humman Genetics*, 81, 559–575.
22. Saif-ur-Rehman, M., Hassan, F.U., Reecy, J. & Deng, T. (2023). Whole-genome SNP markers reveal runs of homozygosity in indigenous cattle breeds of Pakistan. *Animal Biotechnology*, 34(4), 1384-1396.
23. Santos, W., Schettini, G., Fonseca, M. G., Pereira, G. L., Chardulo, L. A., Neto, O., *et al.* (2021). Fine- scale Estimation of Inbreeding Rates, Runs of Homozygosity and Genome-wide Heterozygosity Levels in the Mangalarga Marchador Horse Breed. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 138, 161–173.
24. Santos, W. B., Pereira, C. B., Maiorano, A. M., Arce, C. D. S., Baldassini, W. A., Pereira, G. L., ... & Curi, R. A. (2023). Genomic inbreeding estimation, runs of homozygosity, and heterozygosity-enriched regions uncover signals of selection in the Quarter Horse racing line. *Journal of Animal Breeding and Genetics*.
25. Signer-Hasler, H., Burren, A., Ammann, P., Drögemüller, C. & Flury, C. (2019). Runs of homozygosity and signatures of selection: a comparison among eight local Swiss sheep breeds. *Animal genetics*, 50(5), 512-525.
26. Smedley, D., Haider, S., Ballester, B., Holland, R., London, D., Thorisson, G., & Kasprzyk, A. (2009). BioMart – biological queries made easy. *BMC Genomics*, 10, 22.
27. Solkner, J., Ferencakovic, M., Gredler, B., & Curik, I. (2010). Genomic metrics of individual autozygosity, applied to a cattle population, in: Proceedings of the 61st Annual Meeting of the European Association of Animal Production, Heraklion, Greece.
28. Tsartsianidou, V., Sánchez-Molano, E., Kapsona, V.V., Basdagianni, Z., Chatziplis, D., Arsenos, G., Triantafyllidis, A., & Banos, G. (2021). A comprehensive genome-wide scan detects genomic regions related to local adaptation and climate resilience in Mediterranean domestic sheep. *Genetics Selection Evolution*, 53(1), 1-17.
29. Uimari, P., & Tapio, M. (2011). Extent of linkage disequilibrium and effective population size in Finnish Landrace and Finnish Yorkshire pig breeds. *Journal of animal science*, 89(3), 609-614.
30. Williams, J. L., Hall, S. J. G., Del Corvo, M., Ballingall, K. T., Colli, L., Ajmone Marsan, P., *et al.* (2016). Inbreeding and Purging at the Genomic Level: The Chillingham Cattle Reveal Extensive, Non-random SNP Heterozygosity. *Animal Genetics*, 47, 19–27.

Extended Abstract

Introduction

The present study aimed to estimate the genomic inbreeding coefficient based on runs of homozygosity (F_{ROH}), to identify runs of homozygosity (ROH), and heterozygosity (ROHet), and to map selection signatures in the relevant genomic regions in Swiss white Alpine sheep.

Materials and Methods

Swiss White Alpine sheep were genotyped using 600K single nucleotide polymorphism (SNP) arrays, and a case-control study was conducted in the form of 154 healthy controls versus 76 severe cases. For the quality control, SNPs that could not be assigned a position on the ARS-UI_Ramb_v2.0, and duplicate SNPs were discarded from further analysis. Individuals with missing genotypes larger than 0.05 were excluded. Also, SNPs with a call rate less than 0.05, a minor allele frequency (MAF) less than 0.05, and a significant deviation from Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) ($P < 1 \times 10^{-6}$) were eliminated. 229 sheep and, a total of 461195 SNPs and 459100 SNPs, respectively, in the healthy and case groups met the desired criteria and were subsequently included in the final analysis.

Results and discussion

F_{ROH} estimates ranged from 0.03 to 0.13, with an average of 0.09 for the entire genome. Chromosome 2 (85.5% by 65 counts) and 1 (84.3% by 129 counts) had the highest F_{ROH} percentage and chromosome 8 (0.65% by 1 count) had the lowest F_{ROH} percentage. In the healthy population, 68959 ROH and 731026 ROHet were observed, while in the case population, 34569 ROH and 364125 ROHet were detected. Based on the run lengths for the ROH and ROHet, five classes have been considered for each population (0-6, 6-12, 12-24, 24-48, and >48 Mbp). Using ROH, the highest percentage of observations for healthy population was detected for the 0-6 Mbp class (98.79%), and the lowest percentage of observations was for the class >48 Mbp, (0.01%). On the other hand, the highest percentage of observations in the case population was for the class 0-6 Mbp (98.81%), and the lowest percentage of observations was for the class 24-48 Mbp (0.01%). In the 0-6 Mbp class for the healthy population, there were 68128 ROH with an average size of 0.671 Mbp. For the case population, there were 34157 ROH with an average size of 0.680 Mbp. On the other hand, in the >48 Mbp class, the average size for the 7 ROH in the healthy population was 97.212 Mbp, and in the case population was 103.804 Mbp. For both healthy and severely case populations, chromosomes 1 and 26 had the highest and lowest number of ROH, respectively. The highest and lowest number of ROHet for both healthy and case populations were on chromosomes 1 and 24, respectively. There were 17 and 10 representative regions in ROH islands with frequencies >70% in the healthy and case populations, respectively. By ROHet, 6 and 19 regions presented frequencies of >60% in the healthy and the case populations, respectively. Using ROH analysis, the genes identified for healthy animals were distributed on chromosomes 1, 2, 8, 13, 15, 18, and 22, and for case animals on chromosomes 2, 4, 6, 8, 13, and 18. According to ROHet analysis, 527 genes had a known function and were distributed on chromosome 24 for both healthy and diseased populations. In total, 553 candidate genes were identified using ROH and ROHet analyses within the selection signatures. ROH islands had genes associated with reproductive traits (*FSIP2*), production traits (*POPDC3*), immune system (*RAB39A*), adaptation (*PTPN9*, *LDB1*), milk production (*SIN3A*), mastitis (*MAN2C1*) and disease resistance (*COMMD4*). ROHet islands had genes related to the immune system (*MAPK8IP*, *ADCY9*, *IL32*), inflammatory response (*TNFRSF12A*), adaptation (*CLCN7*, *E4F1*, *CLDN9*, *HMOX2*, *ZNF598*, *PAQR4*), body size (*TRAF7*, *SEC14L5*), body weight and body structure traits (*GLIS2*, *VASN*, *TFAP4*), litter size (*NUDT16L1*, *ANKS3*, *ZNF500*), milk traits (*AMDHD2*), calf birth weight (*ZNF75A*), lactation continuity (*EEF2KMT*, *ALG1*, *SEC14L5*, *RBFOX1*, *NAGPA*), growth traits (*SOX8*, *SSTR5*, *IGFALS*, *NPW*) and meat quality (*RPL3L*, *SLC9A3R2*). Using the ROH method, some of these genes identified in the healthy population were also identified in the case population such as *FSIP2* on chromosome 2, *POPDC3* on chromosome 8, and *PTPN9*, *SIN3A*, *MAN2C1*, and *COMMD4* on chromosome 18. By the ROHet method, some of the genes identified in the healthy population in this study were consistent with the candidate genes reported in previous studies. including *TEKT4*, *MGRN1*, *ROGDI*, *GLYR1*, *UBN1*, *PPL*, *UNKL*, *CCDC154*, *IFT140*, *DNAJA3*, *NMRAL1*, *HCFC1R1*, *THOC6*, *CLDN9*, *CLDN6*, *TNFRSF12A*, *BICDL2* and *MMP25*, *MAPK8IP3*, *ADCY9*, *IL32*, *TNFRSF12A*, *CLCN7*, *E4F1*, *CLDN9*, *ZNF598*, *HMOX2*, *PAQR4*, *PTX4*, *TRAF7*, *SEC14L5*, *AMDHD2*, *ZNF75A*, *NAA60*, *NLRC3*, *TFAP4*, *GLIS2*, *VASN*, *NUDT16L1*, *ANKS3*, *ZNF500*, *EEF2KMT*, *ALG1*, *SEC14L5*, *RBFOX1*, *NAGPA*, *ADRA1D*, *SOX8*, *SSTR5*, *IGFALS*, *NPW*, *RPL3L*, *SLC9A3R2* and *RNF151*, which were all located on chromosome 24. In the case population, *GNG1* was detected. The results of the gene ontology (GO) showed that the most enriched terms identified in cellular components, molecular function, and KEGG pathway were related to the Apicolateral plasma membrane, Metal ion binding, and Fanconi anemia pathway, respectively.

Conclusion

The results of the present study revealed that the healthy population of Swiss White Alpine sheep exhibited ancient inbreeding, a greater number of ROH and ROHet, and a higher average length of ROHet compared to the case population. The number of islands detected using the ROH was higher in the healthy population compared to the case population, whereas the ROHet method identified more islands in the case population than in the healthy population. According to the comparison made between two groups of case and healthy sheep, this research provide a new insight in understanding the mechanism of resistance to footrot in sheep.

Keywords: runs of homozygosity, runs of heterozygosity, genomic inbreeding coefficient, Alpine sheep.