Iranian Journal of Animal Science
Vol 51, No 2, Summer 2020 (113-119)
DOI: 10.22059/ijas.2020.294708.653761

علوم دامی ایران
دورۀ ۵۱، شمارۀ ۲، تابستان ۱۳۹۹ (ص ۱۱۹-۱۱۳)

شناسایی تنوع تعداد کپی و تأثیرات آنها بر ژن‌های شترهای تک‌کوهانه ایرانی با استفاده از داده‌های توالی‌یابی کامل ژنوم

رضا خلخالی ایوریق[۱]، نعمت هدایت ایوریق[۲*]، سید حسن حافظیان[۳]، ایوب فرهادی[۳] و محمدرضا بختیاری‌زاده[٤]

۱ و ۳. دانش‌آموختۀ دکتری و دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

۲. دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

٤. دانشیار، گروه علوم دام و طیور، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران، پاکدشت، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۰/۸ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۳/۲٦)

چکیده

مطالعه حاضر به‌منظور شناسایی تنوع تعداد کپی و بررسی اثرات آنها بر ژن‌های شترهای تک‌کوهانه با استفاده از داده‌های توالی‌یابی کامل ژنومی دو نفر شتر ایرانی (شتر یزدی و شتر طرودی) انجام شد. توالی‌یابی کامل ژنوم نمونه‌های یزدی و طرودی، به ترتیب حدود ٤٥٦ و ٤١٨/٨ میلیون خوانش با اندازه ۱۰۰ جفت‌بازی تولید کرد. پس از هم‌ردیفی خوانش‌های پالایش شده در ژنوم مرجع (شماره دسترسی در NCBI: GCA_000767585.1)، از الگوریتم مبتنی بر عمق خوانش، برای شناسایی تنوع تعداد کپی‌ها استفاده شد. تنوع تعداد کپی شناسایی‌شده برای نمونه‌های موردمطالعه برابر با ۸۳۱ برای شتر یزدی و ۳۱۲ برای شتر طرودی بود. نزدیک به ٦۰ درصد (٦۰٦ ژن برای شتر یزدی و ۲۸۸ ژن برای شتر طرودی) از تنوعات شناسایی‌شده، با ژن‌ها دارای تداخل بودند و ما بقی در نواحی خارج ژنی قرار داشتند. نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که ژن‌های مهمی از جمله ژن‌های دخیل در عملکرد سیستم ایمنی و مرگ سلولی برنامه‌ریزی‌شده دارای تنوع تعداد کپی هستند. همچنین دو ژن مهم OOEP و WWC3 که در عملکرد تولیدمثلی پستانداران نقش دارند، در نمونه‌های مورد مطالعه دارای تنوع تعداد کپی بودند.

واژه‌های کلیدی: توالی‌یابی نسل بعد، تولیدمثل، ژن آنتولوژی، ژنومیکس.

Identification the copy number variation and its impacts on the genes of Iranian dromedary camels using whole genome sequencing data

Reza Khalkhali-Evrigh[1], Nemat Hedayat-Evrigh[3*], Seyed Hasan Hafezian[2], Ayoub Farhadi[3] and Mohammad Reza Bakhtiarizadeh[4]

1, 3. Former Ph.D. Student and Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

2. Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardebil, Iran

4. Associate Professor, Department of Animal and Poultry Science, College of Aburaihan, University of Tehran, Pakdasht, Iran

(Received: Dec. 29, 2019 - Accepted: Jun. 15, 2020)

ABSTRACT

The present study was performed to identify the copy number variations and their impacts on the genes of dromedary camels using whole genome sequencing data of two Iranian dromedary camels (Yazdi camel and Trodi camel). Whole genome sequencing of the Yazdi and Trodi samples produced about 456 and 418.8 paired-end reads with a read length of 100 bp, respectively. After mapping of trimmed reads to reference genome (NCBI accession number: GCA_000767585.1), a read-depth based algorithm was used to identify copy number variations. Identified copy number variations of studied samples, were 831 for Yazdi and 312 for Trodi camels. Nearly 60% (606 genes for Yazdi and 288 for Trodi camel) of the identified variants overlapped with the genes, and the rest were in the none genic regions. The obtained results showed that important genes including genes involved in immune system function and programmed cell death have copy number variation. As well as, two important genes of studied samples, OOEP and WWC3, which are involved in mammalian reproductive function, had copy number variation.

Keywords: Gene ontology, genomics, next generation sequencing, reproduction.

* Corresponding author E-mail: nhedayat@uma.ac.ir

مقدمه

مطالعه تنوعات ژنتیکی در گونه‌های مختلف به خصوص گونه‌های گیاهی و حیوانی اهلی‌شده، یکی از پر کاربردترین نوع مطالعات در حوزه علوم زیستی به‌شمار می‌رود. شناسایی چندشکلی‌های تک‌نوکلئوتیدی (SNP)، حذف و درج‌های کوچک (ایندل‌ها)، بررسی تنوعات میتوکندریایی و نشانگرهایی مانند ریزماهواره‌ها جز بیشترین نوع مطالعات در این حوزه به شمار می‌رود. در سالهای اخیر و با حرکت انقلابی تکنیک‌هایی مانند توالی‌یابی نسل بعد (NGS) امکان شناسایی بهتر و دقیق‌تر تنوعات ساختاری بزرگ‌تری از جمله تنوع در تعداد کپی[1] ایجاد شده است (Clop *et al.*, 2012). تنوع تعداد کپی در واقع به قطعاتی بزرگ‌تر از هزار تا چندین میلیون جفت‌باز اطلاق می‌شود که در ژنوم‌های افراد مختلف از یک گونه، دچار حذف یا درج شده و در نتیجه تعداد کپی آن بخش مدنظر از ژنوم را دچار تغییر کرده باشند (Henrichsen *et al.*, 2009). هر چند تعداد و پراکنش تنوع تعداد کپی در ژنوم پستانداران در مقایسه با SNPها و ایندل‌ها کمتر است اما به دلیل اندازه بزرگ‌تر، توانایی و پتانسیل تأثیرگذاری بیشتری دارند (Letaief *et al.*, 2017). تنوع تعداد کپی در ژنوم انسان بیش از هر گونه دیگری موردمطالعه قرار گرفته و تأثیرات آنها بر صفات و بیماری‌های مختلف مورد بررسی و کاوش قرار گرفته است. به‌عنوان مثال، وجود یک تنوع تعداد کپی در ژن SNCA با بروز بیماری پارکینسون در انسان مرتبط می‌باشد (Singleton *et al.*, 2003) و یا وجود تنوع تعداد کپی دیگری در ژن IRGM با ابتلا به بیماری کرون دارای همبستگی است (McCarroll *et al.*, 2008). این نوع از مطالعات در دام‌های اهلی نیز حاکی از ارتباط تنوع تعداد کپی با صفات خاصی می‌باشد. برای مثال، وجود ارتباط بین یک تنوع تعداد کپی از نوع دو نسخه‌نویسی[2] در ژن ASIP و رنگ پوشش سفید در گوسفند (Norris & Whan, 2008) و یا ارتباط بین بیماری دیسپلازی اکتودرمال انهیدروتیک[3] با حذف یک بخش از ژن ED1 گاو (Drögemüller *et al.*, 2001) به اثبات رسیده است. تأثیرات تنوع تعداد کپی، لزوما منفی نیست و شواهدی وجود دارد که اهلی‌سازی در برخی گونه‌ها با کمک واریانت‌هایی مانند تنوع تعداد کپی صورت گرفته است؛ برای مثال تعداد کپی بالا در یک قطعه با اندازه حدود هشت هزار جفت باز در ژن AMY2B در سگ‌ها در مقایسه با اجداد وحشی‌شان (گرگ‌ها)، باعث شده تا سگ‌ها بعد از اهلی شدن، توانایی استفاده از غذاهایی با مقدار نشاسته بالا را داشته باشند (Axelsson *et al.*, 2013).

پس از این‌که واریانتی با عنوان تنوع تعداد کپی، برای اولین بار در سال ۲۰۰۴ و در ژنوم انسان شناسایی شد (Iafrate *et al.*, 2004; Sebat *et al.*, 2004)، تاکنون چندین مطالعه در زمینه شناسایی این نوع واریانت و تأثیر آن بر ژن‌ها و صفات خاص در گونه‌هایی مانند گاو (Stothard *et al.*, 2011; Letaief *et al.*, 2017; Mei *et al.*, 2019)، گوسفند (Jenkins *et al.*, 2016; Yang *et al.*, 2018)، بز (Zhang *et al.*, 2019; Liu *et al.*, 2019)، مرغ (Yi *et al.*, 2014; Gorla *et al.*, 2017; Seol *et al.*, 2019) و دیگر گونه‌های اهلی (Serres-Armero *et al.*, 2017; Revilla *et al.*, 2017) صورت گرفته است. با این‌حال، تاکنون مطالعه‌ای برای شناسایی تنوع تعداد کپی و تأثیر آن بر ژن‌ها، در مورد شترها صورت نپذیرفته است. هدف مطالعه حاضر، شناسایی تنوع تعداد کپی در ژنوم شترهای تک‌کوهانه ایرانی با استفاده از داده‌های توالی‌یابی کل ژنوم می‌باشد. همچنین لازم به ذکر است که تأثیر این واریانت‌ها بر روی ژن‌ها نیز مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

نمونه‌گیری و توالی‌یابی ژنوم

در مطالعه حاضر، از ژنوم کامل دو نفر شتر تک‌کوهانه ایرانی استفاده شد. یکی از نمونه‌ها مربوط به ایستگاه پرورش و اصلاح نژاد شتر طرود (استان سمنان) و

1. Copy number variation
2. Duplication
3. Anhidrotic Ectodermal Dysplasia

نمونه دیگر نیز از ایستگاه پرورش شتر یزد بود. خون‌گیری از رگ وریدی شترها و توسط ونوجکت ۴ میلی‌لیتری حاوی EDTA انجام گرفت و پس از انتقال خون به آزمایشگاه، تا زمان استفاده در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد. استخراج DNA با استفاده از کیت RBC برای خون پستانداران (کره جنوبی) و براساس دستورالعمل تولیدکننده کیت، صورت پذیرفت. تعیین کیفیت DNA استخراج‌شده با استفاده از ژل آگارز یک درصد انجام شد. نمونه‌های DNA برای توالی‌یابی کامل توسط تکنولوژی Illumina HiSeq 2000 (Illumina, San Diego, CA) به دانشگاه آلبرتای کانادا ارسال شد. توالی‌یابی کامل ژنوم دو نفر شتر مذکور با ایجاد یک کتابخانه با قطعات ورودی ۱۶۰ تا ۶۳۰ بازی (میانگین ۳۶۰ باز) و به‌صورت توالی‌یابی از دو انتها[1]، اجرا شد.

کنترل کیفی، پالایش و هم‌ردیفی خوانش‌ها در ژنوم مرجع

در ابتدا با استفاده از برنامه FastQC (https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/)، سنجش کیفت برای خوانش‌ها صورت پذیرفت و علیرغم کیفیت مطلوب خوانش‌های مذکور و عاری بودن این خوانش‌ها از توالی پروب‌ها، برای افزایش هر چه بیشتر این کیفیت، از نسخه ۰/۳۶ برنامه Trimmomatic (Bolger *et al.*, 2014) برای پالایش داده‌ها استفاده شد. این الگوریتم (MAXINFO) با ایجاد تعادل بین طول خوانش‌ها و همچنین نرخ اشتباه در توالی‌یابی آنها، بهترین خوانش‌ها را انتخاب کرده و مابقی را حذف می‌کند. پارامترهای در نظر گرفته شده برای پالایش کیفی با استفاده از الگوریتم مذکور عدد ۴۰ برای Target length و عدد ۰/۵ برای Strictness بود. از آنجایی که به طور کلی کیفیت خوانش‌ها در انتهای ′۳ و ′۵ تا حدودی کمتر از قسمت‌های میانی خوانش‌ها می‌باشند، بازهای ناخوانا (N) و بازهای با نمره کمتر از ۵ از دو انتها حذف شدند. بعد از اعمال این نوع پالایش، خوانش‌هایی که به طول کمتر از ۴۰ باز رسیده بودند نیز از ادامه آنالیزها حذف گردیدند. خوانش‌های پالایش‌شده با استفاده از نسخه ۰.۷.۱۵ برنامه BWA (Li & Durbin, 2009) در ژنوم مرجع (شماره دسترسی در NCBI: GCA_000767585.1)، هم‌ردیف شدند.

شناسایی تنوع تعداد کپی در کل ژنوم شترها

یکی از روش‌های مهم در زمینه شناسایی تنوع تعداد کپی‌ها در سطح ژنوم، استفاده از الگوریتم‌های مبتنی بر عمق خوانش[2] است. این الگوریتم، ژنوم را به قسمت‌های غیر هم‌پوشان تقسیم کرده و تعداد خوانش‌های هم‌ردیف شده در هر بخش را مورد بررسی قرار می‌دهد. فرض این الگوریتم بر این است که عمق خوانش‌ها در کل ژنوم از یک پراکندگی نرمال با میانگینی مشخص تبعیت می‌کند. بنابراین قمست‌هایی از ژنوم که عمق خوانش آنها تفاوت معنی‌داری با میانگین داشته باشد، به عنوان تنوع تعداد کپی گزارش می‌شود (Mandoiu & Zelikovsky, 2016). برای شناسایی تنوع تعداد کپی‌های موجود در ژنوم شترهای تک‌کوهانه ایرانی از نسخه ۱۱.۰ برنامه Control-free (Boeva *et al.*, 2010) استفاده شد. این برنامه فرمت‌هایی مانند SAM و BAM را به عنوان ورودی پذیرفته و با شمارش تعداد خوانش‌ها در بازه‌های غیر هم‌پوشان و نرمال‌سازی آنها با استفاده از میزان محتوای گوانین/سیتوزین در این بازه‌ها به شناسایی تنوع تعداد کپی‌های موجود می‌پردازد. اغلب برنامه‌های شناسایی تنوع تعداد کپی برای مقایسه نمونه‌های سالم و بیمار طراحی شده‌اند و به نمونه کنترل نیاز دارند تا با مقایسه دو نمونه اقدام به شناسایی تنوع تعداد کپی‌ها کنند. یکی از مزایای بارز برنامه Control-free عدم نیاز به نمونه کنترل می‌باشد که امکان شناسایی تنوع تعداد کپی در پروژه‌های توالی‌یابی کل ژنوم را نیز فراهم می‌آورد. بعد از شناسایی تنوع تعداد کپی‌ها، با استفاده از بسته rtracklayer در برنامه R مقدار P-value برای هر کدام

1. Paired end

2. Read Depth

از تنوعات محاسبه شده و تنوع تعداد کپی‌های با مقدار P-value کمتر از ۰/۱ مورد انتخاب نهایی قرار گرفتند. در پایان، آنالیز ژن آنتولوژی بر روی ژن‌های حاوی تنوع تعداد کپی با استفاده از نسخه ۶.۷ برنامه تحت وب DAVID (Huang *et al.*, 2009) صورت پذیرفت. لازم به ذکر است که از مقدار P-value تصحیح شده با روش بنفرونی برای تعیین عبارات معنی‌دار استفاده شد.

نتایج و بحث

توالی‌یابی کامل ژنوم شترهای یزدی و طرودی به ترتیب منجر به تولید ۴۵۶۰۳۹۱۷۸ و ۴۱۸۸۱۳۶۰۲ خوانش ۱۰۰ جفت‌بازی شد. پس از انجام پالایش کیفی روی خوانش‌ها، به ترتیب ۲/۲ و ۲/۶ درصد از خوانش‌های اولیه مربوط به شترهای یزدی و طرودی به دلیل کیفیت پایین حذف شده و مابقی برای انجام آنالیزهای بعدی مورد استفاده قرار گرفتند. هم‌ردیفی خوانش‌های پالایش شده در ژنوم مرجع (با اندازه ۲۰۰۴۰۴۷۰۴۷ جفت باز) منجر به هم‌ردیفی موفق ۹۷/۸ درصد برای شتر یزدی و ۹۷/۴ درصد برای شتر طرودی شد (جدول ۱).

در این مطالعه، برای شترهای یزدی و طرودی به ترتیب ۸۳۱ و ۳۱۲ تنوع تعداد کپی شناسایی شد. هر چند تعداد تنوعات شناسایی‌شده برای شتر طرودی کمتر بود و همچنین مقدار کمتری از ژنوم را پوشش می‌داد، اما دارای میانگین اندازه بزرگ‌تری نسبت به تنوع تعداد کپی‌های شناسایی‌شده برای شتر یزدی بود. نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که در شتر یزدی، ۴۶۸ تنوع تعداد کپی در مجموع تعداد ۶۰۶ ژن را تحت تأثیر قرار می‌دهند. در شتر طرودی نیز ۱۸۲ تنوع تعداد کپی باعث تغییر در ۲۸۸ ژن می‌شدند (جدول ۲). تنوع تعداد کپی‌ها بدلیل اندازه بزرگی که دارا هستند، قادر به اثرگذاری بر چندین ژن بوده و لذا تعداد ژن‌ها از تعداد تنوع تعداد کپی‌ها بیشتر می‌باشند.

شناسایی تنوع تعداد کپی‌ها یکی از چالش‌های مهم در آنالیز ژنوم‌های کامل به شمار می‌رود. این واریانت‌ها دارای اندازه بزرگ و متعاقب آن آثار بیشتری بر روی ژنوم می‌باشند. تاکنون مطالعات زیادی در زمینه ارتباط بین تنوع تعداد کپی‌ها و صفات اقتصادی حتی در گونه‌های پرکاربرد مانند گاو نیز صورت نگرفته است. علیرغم مطالعات انجام گرفته در زمینه ژنومیکس شترهای تک و دوکوهانه (Wu *et al.*, 2014; Fitak *et al.*, 2016; Khalkhali-Evrigh *et al.*, 2018)، بر اساس اطلاعات ما تاکنون هیچ‌گونه شناسایی تنوع تعداد کپی با استفاده از داده‌های توالی‌یابی کل ژنوم برای شترها در جهان صورت نگرفته است. جستجوی این واریانت‌ها در مطالعه حاضر منجر به شناسایی تنوع تعداد کپی‌های با میانگین ۳۸۷۷۵ جفت‌بازی در شتر یزدی و ۵۴۰۴۹ جفت‌بازی در شتر طرودی شد. میانگین اندازه تنوع تعداد کپی‌های شناسایی شده برای شترهای تک‌کوهانه ایرانی بزرگ‌تر از نتایج مربوط به گاو هلشتاین (۴۱۶۳ باز؛ Stothard *et al.*, 2011) و گاو هانوو (۱۰۰۲۶ باز؛ Choi *et al.*, 2013) و کوچکتر از نتایج مربوط به اسب تروبرد (۲۶۹۱۰۰ باز؛ Doan *et al.*, 2012) و ماروارى (۵۶۰۰۰ باز، Jun *et al.*, 2014) بود.

جدول ۱. خلاصه اطلاعات خوانش‌های توالی‌یابی‌شده برای شترهای یزدی و طرودی

Table 1. Summary of sequenced reads for Yazdi and Trodi camels

Sample	Reads before trim	Reads after trim	Mapped reads	Mapped reads (%)
Yazdi camel	456039178	449857051	440002517	0.97.8
Trodi camel	418813602	413114741	402579313	0.97.4

جدول ۲. مشخصات تنوع تعداد کپی‌های شناسایی‌شده در ژنوم شترهای یزدی و طرودی

Table 2. Characteristics of identified copy number variations in the genome of Yazdi and Trodi camels

Parameter	Yazdi camel	Trodi camel
Copy number variation (CNV)	831	312
Genic CNVs	468	182
None genic CNVs	363	130
Affected genes by CNVs	606	288
Largest CNV (bp)	1275630	734408
Shortest CNV (bp)	850	23574
Average size of CNVs (bp)	38775	54049
Length of total CNVs (bp)	32222475	16863490

هرچند انجام آنالیز ژن آنتولوژی بر روی ژن‌های حاوی تنوع تعداد کپی، هیچ عبارت معنی‌داری را نشان نداد اما نتایج حاشیه‌نویسی نشان داد که تنوع تعداد کپی‌ها در شتر یزدی ژن‌هایی مرتبط با سیستم ایمنی و انتقال یون‌ها را تحت تأثیر قرار داده‌اند. ژن‌هایی مانند s100A8 و s100A9 که پروتئین‌های ضدباکتری و ضدقارچ تولید کرده و در پاسخ به التهابات مؤثر بودند دچار تنوع تعداد کپی شده بودند. همچنین ژن‌هایی مانند DDX58 و CD40LG که در عملکرد سلول‌های B دخیل بوده و در گره‌های لنفاوی دارای بیان بالایی هستند (Fagerberg *et al.*, 2014) نیز تحت تأثیر تنوع تعداد کپی قرار گرفته بودند. یکی دیگر از ژن‌های مرتبط با سیستم ایمنی که در شتر یزدی تحت تأثیر یک تنوع تعداد کپی قرار گرفته بود عبارت بود از IFNB1 که در پاسخ به عوامل بیماری‌زا به خصوص ویروس‌ها مهم بوده و همچنین دارای خاصیت ضد توموری نیز می‌باشد. ژن‌های TF و ACO1 که در متابولیسم آهن نقش دارند به همراه ژن SLC31A2 و SLC31A1 که در جذب مس در بدن دخیل هستند نیز در شتر یزدی دچار تنوع تعداد کپی شده بودند.

نتایج حاشیه‌نویسی در شتر طرودی نیز منجر به شناسایی ژن‌های حاوی تنوع تعداد کپی شد که در مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده[1] نقش داشتند (از جمله ژن‌های IER3IP1، MCL1 و PRUNE2). مرگ سلولی برنامه‌ریزی‌شده، زمانی که سلول‌ها به دلایل مختلفی دچار نقص می‌شوند بسیار حیاتی می‌باشد چرا که عدم حذف سلول‌های آسیب دیده می‌تواند سلول‌های سالم را نیز درگیر کند. ازآنجایی‌که عوامل آسیب‌زای بسیاری مانند اشعه یونیزه‌کننده آفتاب، نمک بالا و همچنین فلزات سنگین در بیابان وجود دارد، لذا به‌نظر می‌رسد تغییرات حاصل شده در ژن‌های مذکور برای مقاوم‌سازی شترها در برابر خطرات باشد. یکی دیگر از ژن‌هایی که دارای تنوع تعداد کپی بود، ژن NEUROD1 بود. این ژن در انسان نقش تنظیم بیان انسولین را داشته و جهش در آن منجر به ایجاد بیماری دیابت نوع دو می‌شود. ازآنجایی‌که شترها دچار دیابت نمی‌شوند (Wu *et al.*, 2014)، به‌نظر می‌رسد مطالعه این ژن می‌تواند اطلاعات ارزشمندی درباره مقاومت شتر به دیابت را در اختیار محققین قرار بدهد.

دو ژن مهم که در هر دو شتر دارای تنوع تعداد کپی بودند، ژن‌های OOEP و WWC3 هستند. ژن OOEP به‌صورت اختصاصی در تخمک‌های در حال رشد و مراحل اولیه جنینی به مقدار بالایی بیان شده و در باروری ماده‌ها بسیار حیاتی می‌باشد. این ژن برای رشد و توسعه جنین به خصوص در مرحله زیگوتی بسیار حیاتی است. مطالعات نشان می‌دهد که خاموش کردن ژن OOEP منجر به عقیم شدن ماده‌ها شده و یا باعث اختلال در رشد جنین می‌شود (Tashiro *et al.*, 2010). این ژن در هر دو شتر ایرانی دارای تنوع تعداد کپی از نوع زیاد شدن تعداد کپی[2] می‌باشد و تعداد کپی‌های آن در شتر یزدی (۱۰ کپی) بیشتر از طرودی (۵ کپی) بود. ژن WWC3 از خانواده سه عضوی WWCها (WWC3، WWC2 و WWC1) است. این خانواده بیشتر در مغز، کبد و ریه‌ها بیان می‌شوند اما WWC2 در بیضه‌ها و WWC3 در تخمدان دارای بیان بالایی می‌باشند که از ارتباط این دو ژن با تولیدمثل و باروری در پستانداران خبر می‌دهد (Wennmann *et al.*, 2014).

نتیجه‌گیری کلی

مطالعات ژنوم شترها در مراحل ابتدایی خود قرار داشته و نیازمند توجه ویژه و طراحی مطالعات بیشتر و وسیع‌تری در این زمینه می‌باشد. مطالعه حاضر در این راستا اجرا شد و توجه محققان به ویژه در کشورهایی مانند ایران که زیستگاه شترهای تک و دوکوهانه می‌باشد، این فرصت را ایجاد خواهد کرد تا اطلاعات بیشتری درباره این گونه‌های ارزشمند کسب کنیم. شناخت عمیق، وسیع و دقیق از شترها می‌تواند شرایطی برای ورود این گونه به مزارع صنعتی را فراهم آورده و با توجه به شرایط اقلیمی کشور، در آینده

1. Programmed cell death

2. Gain

نزدیک، به یک تولیدکننده مهم منابع پروتئینی تبدیل شود. نتایج مطالعه کنونی نشان داد که ژن‌های مهمی از جمله ژن‌های مرتبط با تولیدمثل در شترها، دارای تنوع تعداد کپی هستند. جمع‌آوری اطلاعات فنوتیپی توسط مراکز پرورش و اصلاح نژاد شترها می‌تواند در کنار مطالعاتی از این دست، به ردگیری تأثیر این نوع از تنوعات در عملکرد حیوانات و در نتیجه انتخاب ژنوتیپ‌های مناسب، منجر شود.

REFERENCES

1. Axelsson, E., Ratnakumar, A., Arendt, M. L., Maqbool, K., Webster, M. T., Perloski, M., Liberg, O., Arnemo, J. M., Hedhammar, Å. & Lindblad-Toh, K. (2013). The genomic signature of dog domestication reveals adaptation to a starch-rich diet. *Nature*, 495(7441), 360-366.
2. Boeva, V., Zinovyev, A., Bleakley, K., Vert, J. P., Janoueix-Lerosey, I., Delattre, O. & Barillot, E. (2010). Control-free calling of copy number alterations in deep-sequencing data using GC-content normalization. *Bioinformatics*, 27(2), 268-269.
3. Bolger, A. M., Lohse, M. & Usadel, B. (2014). Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*, 30(15), 2114-2120.
4. Choi, J. W., Liao, X., Park, S., Jeon, H. J., Chung, W. H., Stothard, P., Park, Y. S., Lee, J. K., Lee, K. T., Kim, S. H. & OH, J. D. (2013). Massively parallel sequencing of Chikso (Korean brindle cattle) to discover genome-wide SNPs and InDels. *Molecules and Cells*, 36(3), 203-211.
5. Clop, A., Vidal, O. & Amills, M. (2012). Copy number variation in the genomes of domestic animals. *Animal Genetics*, 43(5), 503-517.
6. Doan, R., Cohen, N. D., Sawyer, J., Ghaffari, N., Johnson, C. D. & Dindot, S. V. (2012). Whole-genome sequencing and genetic variant analysis of a Quarter Horse mare. *BMC Genomics*, 13(1), 78-88.
7. Drögemüller, C., Distl, O. & Leeb, T. (2001). Partial deletion of the bovine ED1 gene causes anhidrotic ectodermal dysplasia in cattle. *Genome Research*, 11(10), 1699-1705.
8. Fagerberg, L., Hallström, B. M., Oksvold, P., Kampf, C., Djureinovic, D., Odeberg, J., Habuka, M., Tahmasebpoor, S., Danielsson, A., Edlund, K. & Asplund, A. (2014). Analysis of the human tissue-specific expression by genome-wide integration of transcriptomics and antibody-based proteomics. *Molecular & Cellular Proteomics*, 13(2), 397-406.
9. Fitak, R. R., Mohandesan, E., Corander, J. & Burger, P. A. (2016). The de novo genome assembly and annotation of a female domestic dromedary of North African origin. *Molecular Ecology Resources*, 16(1), 314-324.
10. Gorla, E., Cozzi, M. C., Román-Ponce, S. I., López, F. R., Vega-Murillo, V. E., Cerolini, S., Bagnato, A. & Strillacci, M. G. (2017). Genomic variability in Mexican chicken population using copy number variants. *BMC Genetics*, 18(1), 61-71.
11. Henrichsen, C. N., Chaignat, E. & Reymond, A. (2009). Copy number variants, diseases and gene expression. *Human Molecular Genetics*, 18, 1-8.
12. 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, 44-57.
13. Iafrate, A. J., Feuk, L., Rivera, M. N., Listewnik, M. L., Donahoe, P. K., Qi, Y., Scherer, S. W. & Lee, C. (2004). Detection of large-scale variation in the human genome. *Nature Genetics*, 36(9), 949.
14. Jenkins, G. M., Goddard, M. E., Black, M. A., Brauning, R., Auvray, B., Dodds, K. G., Kijas, J. W., Cockett, N. & McEwan, J. C. (2016). Copy number variants in the sheep genome detected using multiple approaches. *BMC Genomics*, 17(1), 441-455.
15. Jun, J., Cho, Y. S., Hu, H., Kim, H. M., Jho, S., Gadhvi, P., Park, K. M., Lim, J., Paek, W. K., Han, K. & Manica, A. (2014). Whole genome sequence and analysis of the Marwari horse breed and its genetic origin. *BMC Genomics*, 15(9), 4.
16. Khalkhali-Evrigh, R., Hafezian, S. H., Hedayat-Evrigh, N., Farhadi, A. & Bakhtiarizadeh, M. R. (2018). Genetic variants analysis of three dromedary camels using whole genome sequencing data. *PloS one*, 13(9), 204-218.
17. Letaief, R., Rebours, E., Grohs, C., Meersseman, C., Fritz, S., Trouilh, L., Esquerré, D., Barbieri, J., Klopp, C., Philippe, R. & Blanquet, V. (2017). Identification of copy number variation in French dairy and beef breeds using next-generation sequencing. *Genetics Selection Evolution*, 49(1), 77.
18. Li, H. & Durbin, R. (2009). Fast and accurate short read alignment with Burrows–Wheeler transform. *Bioinformatics*, 25(14), 1754-1760.
19. Liu, M., Zhou, Y., Rosen, B. D., Van Tassell, C. P., Stella, A., Tosser-Klopp, G., Rupp, R., Palhière, I., Colli, L., Sayre, B. & Crepaldi, P. (2019). Diversity of copy number variation in the worldwide goat population. *Heredity*, 122(5), 636-646.

20. Mandoiu, I. & Zelikovsky, A. (2016). *Computational Methods for Next Generation Sequencing Data Analysis*. John Wiley & Sons.
21. McCarroll, S. A., Huett, A., Kuballa, P., Chilewski, S. D., Landry, A., Goyette, P., Zody, M. C., Hall, J. L., Brant, S. R., Cho, J. H. and Duerr, R. H. (2008). Deletion polymorphism upstream of IRGM associated with altered IRGM expression and Crohn's disease. *Nature Genetics*, 40(9), 1107- 1112.
22. Mei, C., Junjvlieke, Z., Raza, S. H. A., Wang, H., Cheng, G., Zhao, C., Zhu, W. & Zan, L. (2019). Copy number variation detection in Chinese indigenous cattle by whole genome sequencing. *Genomics*. In press.
23. Norris, B. J. & Whan, V. A. (2008). A gene duplication affecting expression of the ovine ASIP gene is responsible for white and black sheep. *Genome Research*, 18(8), 1282-1293.
24. Revilla, M., Puig-Oliveras, A., Castelló, A., Crespo-Piazuelo, D., Paludo, E., Fernández, A. I., Ballester, M. & Folch, J. M. (2017). A global analysis of CNVs in swine using whole genome sequence data and association analysis with fatty acid composition and growth traits. *PloS one*, 12(5), 1-17.
25. Sebat, J., Lakshmi, B., Troge, J., Alexander, J., Young, J., Lundin, P., Månér, S., Massa, H., Walker, M., Chi, M. & Navin, N. (2004). Large-scale copy number polymorphism in the human genome. *Science*, 305(5683), 525-528.
26. Serres-Armero, A., Povolotskaya, I.S., Quilez, J., Ramirez, O., Santpere, G., Kuderna, L. F., Hernandez-Rodriguez, J., Fernandez-Callejo, M., Gomez-Sanchez, D., Freedman, A. H. & Fan, Z. (2017). Similar genomic proportions of copy number variation within gray wolves and modern dog breeds inferred from whole genome sequencing. *BMC Genomics*, 18(1), 977-992.
27. Singleton, A. B., Farrer, M., Johnson, J., Singleton, A., Hague, S., Kachergus, J., Hulihan, M., Peuralinna, T., Dutra, A., Nussbaum, R. & Lincoln, S. (2003). α-Synuclein locus triplication causes Parkinson's disease. *Science*, 302(5646), 841-841.
28. Stothard, P., Choi, J. W., Basu, U., Sumner-Thomson, J. M., Meng, Y., Liao, X. & Moore, S. S. (2011). Whole genome resequencing of black Angus and Holstein cattle for SNP and CNV discovery. *BMC Genomics*, 12(1), 559-573.
29. Tashiro, F., Kanai-Azuma, M., Miyazaki, S., Kato, M., Tanaka, T., Toyoda, S., Yamato, E., Kawakami, H., Miyazaki, T. & Miyazaki, J. I. (2010). Maternal-effect gene Ces5/Ooep/Moep19/Floped is essential for oocyte cytoplasmic lattice formation and embryonic development at the maternal-zygotic stage transition. *Genes to Cells*, 15(8), 813-828.
30. Wennmann, D. O., Schmitz, J., Wehr, M. C., Krahn, M. P., Koschmal, N., Gromnitza, S., Schulze, U., Weide, T., Chekuri, A., Skryabin, B. V. and Gerke, V. (2014). Evolutionary and molecular facts link the WWC protein family to Hippo signaling. *Molecular Biology and Evolution*, 31(7), 1710-1723.
31. Wu, H., Guang, X., Al-Fageeh, M.B., Cao, J., Pan, S., Zhou, H., Zhang, L., Abutarboush, M. H., Xing, Y., Xie, Z. & Alshanqeeti, A. S. (2014). Camelid genomes reveal evolution and adaptation to desert environments. *Nature Communications*, 5, 5188-5197.
32. Yang, L., Xu, L., Zhou, Y., Liu, M., Wang, L., Kijas, J. W., Zhang, H., Li, L. & Liu, G. E. (2018). Diversity of copy number variation in a worldwide population of sheep. *Genomics*, 110(3), 143-148.
33. Yi, G., Qu, L., Liu, J., Yan, Y., Xu, G. & Yang, N. (2014). Genome-wide patterns of copy number variation in the diversified chicken genomes using next-generation sequencing. *BMC Genomics*, 15(1), 962-978.
34. Zhang, R. Q., Wang, J. J., Zhang, T., Zhai, H. L. & Shen, W. (2019). Copy-number variation in goat genome sequence: A comparative analysis of the different litter size trait groups. *Gene*, 696, 40-46.