

۱ کاوش ژنومی نشانه‌های انتخاب جهت شناسایی مکان‌های کروموزومی مرتبط با بیماری یون

۲ در گاوهای هلشتاین

۳ چکیده

۴ انتخاب باعث ایجاد نشانه‌های انتخاب در سطح ژنوم می‌شود. شناسایی نشانه‌های انتخاب در حیوانات در جهت ارتقا صفات اقتصادی و کاهش
۵ بیماری‌ها، یکی از اصلی‌ترین و چالش برانگیزترین تحقیقات در زمینه ژنتیک جمعیت است. در این تحقیق، با هدف شناسایی مناطق ژنومی تحت انتخاب
۶ مثبت بین جمعیت‌های گاوهای مبتلا به بیماری یون و سالم هلشتاین، پویش گسترده ژنوم با استفاده از چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی (SNP) انجام شد.
۷ در این بررسی از داده‌های ۱۴۵ راس گاو هلشتاین گاوداری فکا در اصفهان استفاده شد. تعداد ۱۰۰ راس گاو سالم و ۴۵ راس بیمار توسط تراشه 30K
۸ شرکت ایلومینا تعیین ژنوتیپ شدند. برای شناسایی مناطق ژنومی تحت انتخاب از دو آماره F_{ST} و XP-EHH استفاده شد. ژن‌های شناسایی شده توسط
۹ آماره F_{ST} در دو جمعیت بیمار و سالم شامل *RAB37*، *ZC3H10*، *ESR1*، *HSD17B6*، *KCNC4*، *ERBB3* و *NACA* بودند. ژن‌های شناسایی شده
۱۰ توسط آماره XP-EHH در دو جمعیت بیمار و سالم شامل *AK1*، *ATP8A1*، *BTBD1*، *C1GALT1*، *CCDC6*، *CEP295*، *CLGN*، *CLSTN2*، *EHHADH*،
۱۱ *ERBB4*، *FRK*، *GRID2*، *GRIP1* و *LRP6* بودند. اکثر ژن‌های شناسایی شده در این مطالعه با ایمنی، بیماری‌هایی مثل سرطان، شیردهی،
۱۲ ماهیچه‌های اسکلتی، چرخه فعلی، مصرف خوراک، چسبندگی اسپرم و رشد در ارتباط بود، که جزو صفات و ویژگی‌های مهم زیستی جاندار قرار می‌گیرد.
۱۳ مطمئناً مطالعات گسترده‌تر با تعداد نمونه‌های بیشتر، درک بهتری از ژن‌های کاندید برای بیماری یون در گاو و طراحی برنامه‌های اصلاح نژادی موفق در
۱۴ جهت کاهش هزینه‌های ناشی از بیماری، ایجاد خواهد نمود.

۱۵ کلید واژه: بیماری یون، گاو هلشتاین، نشانه‌های انتخاب، F_{ST} ، XP-EHH

۱۶

۱۷

۱۸ Genomic probing of selection signature to detect chromosomal regions

۱۹ related to Johne's disease in Holstein cattle

۲۰ Abstract:

۲۱ Selection as a factor increases the frequency of positive mutations in some subpopulations and creates selection signatures
۲۲ in the genome. Identifying selection signatures in animals, with the goal of enhancing economic traits and reducing diseases,
۲۳ is a major and highly challenging research area in population genetics. This study aimed to conduct an extensive genome scan
۲۴ using single nucleotide polymorphisms (SNPs) to identify genomic regions under positive selection between diseased and
۲۵ healthy Holstein cattle populations. In this study, the data of 145 Holstein cows of Foka Dairy in Isfahan were used. 100 healthy
۲۶ cows and 45 diseased cows were genotyped by Illumina 30K chip. F_{ST} and XP-EHH statistics were employed to identify
۲۷ genomic regions under selection. The genes identified by F_{ST} statistics in both diseased and healthy populations included
۲۸ *RAB37*، *ZC3H10*، *ESR1*، *HSD17B6*، *KCNC4*، and *ERBB3*. Genes identified by XP-EHH statistics in both diseased and healthy
۲۹ populations included *AK1*، *ATP8A1*، *BTBD1*، *C1GALT1*، *CCDC6*، *CEP295*، *CLGN*، *CLSTN2*، *EHHADH*، *ERBB4*، *FRK*، *GRID2*،
۳۰ *GRIP1*، and *LRP6*. Most of the genes identified in this study were associated with immunity, diseases such as cancer,
۳۱ lactation, skeletal muscles, estrous cycle, feed consumption, sperm adhesion, and growth, which are crucial biological traits
۳۲ and characteristics of living organisms. Further research with a larger sample size in the population will provide a better
۳۳ understanding of candidate genes for Johne's disease in cattle. Additionally, the development of successful breeding programs
۳۴ will aid in reducing the costs associated with this disease.
۳۵

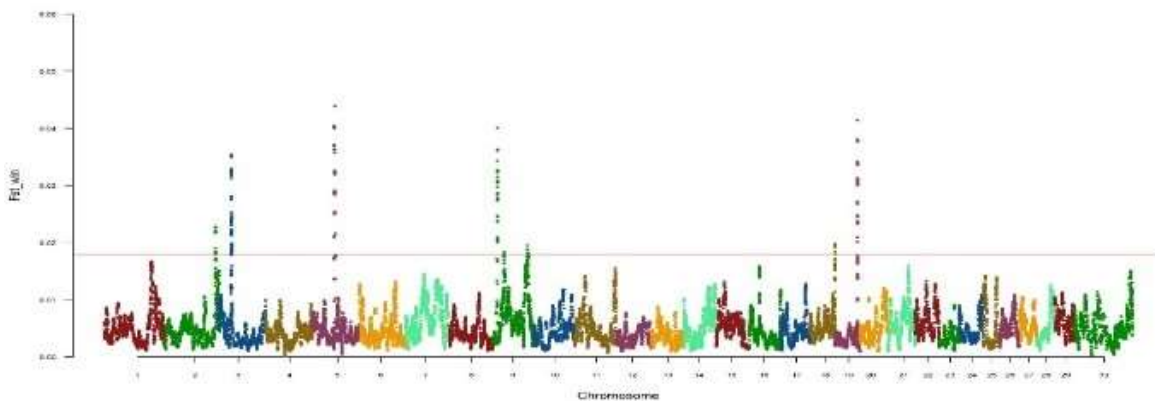
۳۶
۳۷ **Keywords:** *johne's disease*, *Holstein cow*, *selection signatures*, *F_{ST}*, *XP-EHH*

۳۸
۳۹ مقدمه

- ۴۰ بیماری یون، شبه سل یا پاراتوبرکلوزیس یک بیماری عفونی مزمن دستگاه گوارش و روده کوچک در نشخوارکنندگان اهلی و
- ۴۱ وحشی با عامل مایکوپلاکتیریوم/ویوم تحت گونه پاراتوبرکلوزیس است (Van der Giessen et al, 1992). بیماری در گاو و تا
- ۴۲ اندازه‌ای در گوسفند و بز معمول می‌باشد (Kennedy and Benedictus, 2001). از خصوصیات این بیماری آنتروکولیت
- ۴۳ (التهاب)، گرانولوماتوز (اختلال ژنتیکی نادر که در آن فاگوسیت‌های دستگاه ایمنی توانایی لازم را برای از بین بردن برخی میکروب‌ها
- ۴۴ ندارند) و لنفادنیت (التهاب غدد لنفاوی در شکم) است (Clarke, 1997). به دلیل گسترش آهسته بیماری، وقوع بیماری یون به
- ۴۵ صورت تک‌گیر است (Chiodini et al, 1984). در گاو با توجه به دوره نهفته طولانی، علائم درمانگاهی تا قبل از دو سالگی
- ۴۶ ظاهر نمی‌شود (Gyles and Theon, 1993). علائم بالینی اولیه، پس از دوره نهفته ۲ تا ۱۰ ساله علی‌رغم وجود اشتها به صورت
- ۴۷ نقصان وزن تدریجی بروز می‌کند. اسهال مزمن یا متناوب از بارزترین علائم بیماری می‌باشد. فرم تحت بالینی این بیماری با اثراتی
- ۴۸ مثل از دست دادن وزن به صورت پیشرونده، کاهش تولید شیر، کاهش ارزش کشتار و حذف زودرس و نیز اثرات احتمالی بر باروری
- ۴۹ و سلامت پستان مشاهده شده است (Jones et al, 1997). بیماری یون مسئول خسارات اقتصادی قابل توجهی در گله‌های
- ۵۰ شیری در سرتاسر جهان به دلیل کاهش تولید شیر، افزایش هزینه‌های مدیریتی و حذف زودرس یا مرگ ناشی از بیماری بالینی
- ۵۱ است (Smith et al, 2010).
- ۵۲ به تغییر الگوی تنوع ژنتیکی و عدم تعادل بیوستگی در جایگاه‌های متصل با یک جهش سودمند در طی انتخاب، جاروب انتخاب
- ۵۳ (Selective Sweep) می‌گویند. با توجه به اینکه این مناطق با ژن‌های عمده اثر و ژن‌های موثر بر صفات تولیدی و تولید مثلی
- ۵۴ به عنوان صفات مهم اقتصادی ارتباط دارند، دارای اهمیت ویژه‌ای هستند، که برای اجرای تحقیقات بعدی می‌توانند منابع اطلاعاتی
- ۵۵ مناسبی را در دسترس محققان قرار دهند (Hayes et al, 2009). شناسایی نشانه‌های انتخاب یکی از اصلی‌ترین علایق
- ۵۶ متخصصان ژنتیک است زیرا می‌تواند اطلاعاتی از دانش پایه در مورد فرآیندهای تکاملی شکل‌دهنده ژنوم‌ها گرفته تا اطلاعات
- ۵۷ عملکردی در مورد مناطق ژنومی را فراهم کند (Schlötterer, 2003). همچنین امروزه به لطف توالی‌یابی نسل جدید، منابع
- ۵۸ ژنومی به‌طور تصاعدی در حال رشد هستند و تحلیل‌های کاوش ژنومیک را در گونه‌های مختلف بهبود می‌بخشند. هزاران نشانگر
- ۵۹ در انواع مختلف به طور فزاینده‌ای در کاوش ژنومیک استفاده می‌شوند. علاوه بر این، توالی‌های ژنومی به طور ساده در دسترس
- ۶۰ هستند و امکان پردازش بهتر داده‌ها، بهبود بازسازی هاپلوטיפ و انتساب داده‌ها را فراهم می‌کنند (Farzi et al., 2022). به طور
- ۶۱ کلی برای داشتن استراتژی مناسب به منظور مدیریت موثر منابع ژنتیکی حیوانات مزرعه‌ای و مدیریت بیماری‌ها برای بهبود
- ۶۲ سودمندی در گله‌ها، به شناسایی مناطق تحت انتخاب مرتبط با صفات مهم و بیماری‌ها در دام نیاز می‌باشد. یکی از پرکاربردترین
- ۶۳ معیارها، برای شناسایی مناطق تحت انتخاب معیاری است که توسط رایت ابداع شد و به عنوان شاخص تثبیت یا (FST) شناخته
- ۶۴ می‌شود، که میزان تنوع ژنتیکی بین گروه‌ها را بررسی می‌کند (Amato et al, 2009). علاوه بر این یکی دیگر از معیارها، برای

۶۵	شناسایی مناطق تحت انتخاب روش XP-EHH که مبتنی بر هموزیگوسیتی هاپلوتیپ توسعه یافته (EHH) است، که توان بالایی
۶۶	در شناسایی مناطق تحت انتخاب دارد (Sabeti et al, 2007). با توجه به این که دام‌های متفاوت به لحاظ بیماری و آلوده شدن
۶۷	به باکتری مولد یون رفتارهای متفاوت نشان می‌دهند، و با توجه به این که به لحاظ اقتصادی گاوداری‌ها به خصوص گاوداری‌های
۶۸	صنعتی دچار خسارت‌های فراوانی می‌شوند. لذا شناسایی دام‌های حساس و مقاوم به این بیماری می‌تواند نقش به‌سزا و مهمی در
۶۹	جلوگیری و یا کاهش آلودگی گاوداری‌ها به این عفونت داشته باشد. هدف از این مطالعه شناسایی مناطق ژنومی تحت انتخاب
۷۰	مرتبط با این بیماری در دو جمعیت گاوهای بیمار و سالم هلشتاین با استفاده از نشانگرهای تک نوکلئوتیدی (SNP) می‌باشد.
۷۱	
۷۲	مواد و روش‌ها
۷۳	در این بررسی از داده‌های ۱۴۵ راس گاو هلشتاین گاوداری فکا در اصفهان استفاده شد. تعداد ۱۰۰ راس گاو سالم و ۴۵ راس بیمار توسط تراشه 30K
۷۴	شرکت ایلومینا تعیین ژنوتیپ شدند. برای اطمینان از کیفیت داده‌های حاصل از تعیین ژنوتیپ، مراحل مختلف پالایش بر روی داده‌های
۷۵	اولیه با استفاده از نرم افزار (Purcell et al., 2007) Plink v1.9 انجام شد. شاخص‌های کنترل کیفیت شامل نرخ خوانش
۷۶	حیوان، نرخ خوانش SNP، فراوانی آلل کمیاب و تعادل هاردی - واینبرگ بودند. حیوانات با نرخ تعیین ژنوتیپ کمتر از ۹۹ درصد،
۷۷	SNPها با نرخ تعیین ژنوتیپ کمتر از ۹۹ درصد و فراوانی آلل کمیاب کمتر از ۵ درصد کنار گذاشته شدند. انحراف از تعادل هاردی -
۷۸	واینبرگ با استفاده از تصحیح بنفرونی (Teo et al., 2007) بررسی شد، و SNPهایی که در تعادل نبودند با سطح معنی داری P
۷۹	10^{-6} کنار گذاشته شدند.
۸۰	روش F_{ST} یک روش تجزیه و تحلیل جمعیتی است که بر پایه داده‌های چندشکلی ژنتیکی ایجاد گردیده و به منظور تشخیص
۸۱	ردپای انتخاب در مطالعات استفاده می‌شود. بررسی F_{ST} از طریق روش رایت دارای مسائلی می‌باشد که یکی از آن‌ها نادیده گرفتن
۸۲	خطای نمونه‌گیری است، که با روش برآورد ناریب F_{ST} با نام تتا (θ) این مشکل رفع گردید. این روش به‌طور مستقل از، تعداد
۸۳	گروه‌های نمونه‌گیری شده و تعداد افراد داخل هر گروه اعمال می‌شود و با توجه به ناریب بودن برآوردهای این روش، ممکن است
۸۴	ارزش‌های منفی نیز به دست آید (Hall et al., 2022). برای بررسی الگوی ژنومی انتخاب مثبت در این بیماری، ارزش‌های تتا
۸۵	برای هر SNP به روش برآوردگر ناریب θ (Weir and Cockerham, 1984) در محیط نرم‌افزار R v4.0.4 با استفاده از
۸۶	پکیج F_{SThet} محاسبه شد، جهت شناسایی بهتر نشانه‌های انتخاب به جای ارزش عددی تتای هر SNP، از میانگین ۵ SNP
۸۷	مجاور (win5) به طول ۳۰۰ کیلوگفت باز استفاده شد. تنها ۰.۱٪ SNPهایی که دارای بالاترین میانگین ارزش تتای SNPهای
۸۸	مجاور بودند به عنوان نشانه‌های انتخاب در منطقه‌ی ژنومی مربوطه معرفی شدند. یکی دیگر از روش‌های شناسایی مناطق تحت
۸۹	انتخاب روش XP-EHH است. روش XP-EHH مبتنی بر عدم تعادل پیوستگی و طول هاپلوتیپی است. آماره XP-EHH

- ۹۰ توان بالایی در شناسایی مناطق تحت انتخاب دارد (Sabeti et al, 2007). علاوه بر این برای شناسایی مناطق تحت انتخاب به
- ۹۱ این روش نیاز به مشخص کردن آلل‌های اجدادی نیست (Utsunomiya et al, 2015). در آزمون XP-EHH هاپلوتایپ‌ها در
- ۹۲ دو جمعیت با یکدیگر مقایسه می‌شوند، تا تنوع در میزان نوترکیبی قسمت‌های مختلف ژنوم در نظر گرفته شود. برای شناسایی
- ۹۳ نشانه‌های انتخاب در دو جمعیت از نرم افزار R v4.0.4 و پکیج rehh در این محیط استفاده شد. نشانگرهایی که ارزش XP-
- ۹۴ EHH آن‌ها در صدک ۹۹/۹ بالایی و پایینی بودند به عنوان مناطق تحت انتخاب معرفی شدند. بعد از شناسایی مناطق تحت
- ۹۵ انتخاب، برای پیدا کردن ژن‌های مرتبط با این مناطق از ژن لیست شرکت ایلومینا در محیط نرم افزار Plink v1.9 (Purcell
- ۹۶ et al., 2007) استفاده شد.
- ۹۷ برای شناسایی مسیرهای متابولیکی، از افزونه ClueGo v2.5.6 در نرم افزار Cytoscape استفاده شد است. ClueGo
- ۹۸ تفسیرهای بیولوژیکی از ژن‌ها را ارائه می‌دهد (Bindea et al, 2015). ژن‌های شناسایی شده با استفاده از نرم افزار Cytoscape
- ۹۹ (Saito et al, 2012) و افزونه ClueGO 2.5.6 (Bindea et al, 2009) مورد تجزیه و تحلیل غنی سازی عملکردی قرار
- ۱۰۰ گرفتند. شناسه نماد به عنوان پارامتر ورودی استفاده شد و *B.taurus* به عنوان ارگانیزم پس زمینه انتخاب شد. مقادیر $P < 0.05$.
- ۱۰۱ پس از تصحیح بنفرونی برای آزمایش چندگانه، از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.
- ۱۰۲
- نتایج و بحث** ۱۰۳
- ۱۰۴ پس از کنترل کیفیت داده‌ها، در نهایت ۲۸۷۴۹ عدد SNP برای تجزیه و تحلیل‌های بعدی انتخاب شدند. در این تحقیق، بخش‌هایی
- ۱۰۵ از ژنوم که دارای F_{ST} بالایی هستند نشان‌دهنده تمایز بین دو جمعیت بیمار و سالم می‌باشند، که ممکن است بر اثر بیماری یون
- ۱۰۶ به وجود آمده باشند. توزیع ژنومی F_{ST} به روش win5 برای تمام SNP‌ها بر روی ژنوم انجام شد. نتایج به دست آمده نشان داد
- ۱۰۷ که در چندین منطقه ژنومی SNP‌های مجاور تفرق جمعیتی بالایی دارند. در این تحقیق، ۷۹ منطقه ژنومی روی ۶ کروموزوم بین
- ۱۰۸ ۲ جمعیت بیمار و سالم گاو هلشالین شناسایی شدند (شکل ۱).



شکل ۲- توزیع ارزش‌های Win5 در سطح ژنوم گاوهای بیمار در مقایسه با گاوهای سالم: موقعیت ژنومی SNP ها بر روی محور X و ارزش FST آن‌ها بر روی محور Y نمایش داده شده است. خط ترسیم شده نشان‌دهنده ۹۹/۹ صدک کروموزوم‌ها است.

۱۰۹

۱۱۰

۱۱۱

۱۱۲

پس از بررسی مناطق تحت انتخاب ۳۴ ژن در دو جمعیت بیمار و سالم گاوهای هلشتاین توسط آماره FST شناسایی شد (فایل

۱۱۳

ضمیمه جدول ۱). بعد از شناسایی ژن‌های مرتبط با مناطق تحت انتخاب مسیرهای متابولیکی مرتبط با این ژن‌ها با استفاده از

۱۱۴

نرم‌افزار Cytoscape شناسایی شدند (جدول ۱).

۱۱۵

جدول ۱- مسیرهای شناسایی شده مرتبط با ژن‌های آماره FST در دو جمعیت سالم و بیمار گاوهای هلشتاین

۱۱۶

مسیر	P-Value تصحیح شده به روش بنفرونی	ژن‌ها
negative regulation of production of miRNAs involved in gene silencing by miRNA	0.0116	ZC3H10, ESR1
transmembrane signaling receptor activity	0.0129	ERBB3, CD300E, CD300LF
retinol dehydrogenase activity	0.0218	SDR9C7, HSD17B6
TBP-class protein binding	0.0319	NACA, ESR1
basal plasma membrane	0.0319	ERBB3, LDLRAP1
delayed rectifier potassium channel activity	0.0376	KCNC4, KCNA10

۱۱۷

در مورد آماره XP-EHH اگر این آماره منفی باشد، وجود انتخاب در جمعیت بیمار را نشان می‌دهد و اگر مثبت باشد نشان

۱۱۸

دهنده وجود انتخاب در جمعیت سالم است. وجود بخش‌هایی از ژنوم با ارزش‌های XP-EHH بالا، ممکن است نشان‌دهنده تمایز

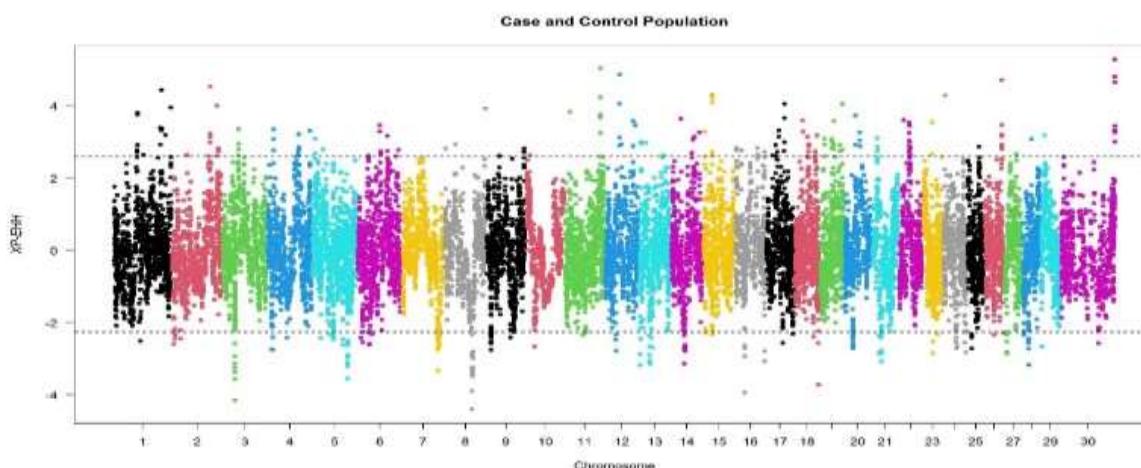
۱۱۹

بین جمعیت‌ها در آن مناطق ژنومی در اثر بیماری باشند (شکل ۲). نتایج به دست آمده نشان داد که در جمعیت سالم ۱۷۰ منطقه

۱۲۰

ژنومی روی کروموزوم‌های مختلف و در جمعیت بیمار ۱۵۶ منطقه ژنومی روی کروموزوم‌های مختلف تحت انتخاب بودند.

۱۲۱



شکل ۲- توزیع مقادیر XP-EHH بین دو جمعیت بیمار و سالم. جمعیت بالا مربوط به سالم و جمعیت پایین مربوط به بیمار. خط‌های ترسیم شده نشان‌دهنده صدک ۹۹/۹ کروموزوم‌ها است.

۱۲۲

۱۲۳

۱۲۴

۱۲۵

پس از بررسی مناطق تحت انتخاب، توسط آماره XP-EHH، ۵۰ ژن در جمعیت بیمار و ۶۲ ژن در جمعیت سالم گواهی

۱۲۶

هلاشتاین توسط آماره XP-EHH شناسایی شد (فایل ضمیمه جدول ۲-۳). بعد از شناسایی ژن‌های مرتبط با مناطق تحت

۱۲۷

انتخاب در دو جمعیت سالم و بیمار مسیرهای متابولیکی مرتبط با این ژن‌ها با استفاده از نرم‌افزار Cytoscape در دو جمعیت

۱۲۸

شناسایی شدند (جدول ۲).

۱۲۹

جدول ۲- مسیرهای شناسایی شده مرتبط با ژن‌های آماره xp-ehh در دو جمعیت سالم و بیمار گواهی هلاشتاین

۱۳۰

مسیر	P-Value تصحیح شده به روش بنفرونی	ژن‌ها
جمعیت سالم		
kidney development	0.0149	PKHD1, C1GALT1, RPGRIPI1L
protein dephosphorylation	0.0157	PTPRE, PPP4R2, PTPRZ1
positive regulation of synaptic transmission	0.0315	RIMS2, CLSTN2
endoplasmic reticulum	0.0322	CPED1, PKHD1, SLC30A9, ATP8A1, RGMA, CLGN
brain development	0.0424	ZFH3, MACO1, SPATA5
ATP binding	0.0464	PFKFB3, PCCA, ATP8A1, ERBB4, PIP5KL1, AK1, SPATA5, FRK
ATP metabolic process	0.0509	AK1, SLC25A25
enzyme binding	0.0506	ZFH3, PCCA, EHHADH
جمعیت بیمار		
identical protein binding	0.0022	ATXN1, TRPA1, BTBD1, RASEF, CCDC6, RBBP8, UBQLN1, ULK1, NTRK2, CEP295, RASEF, RASGRF1,
cytosol	0.0049	BAZ2A, PEX1, ATXN1, BTBD1, PPIP5K2, CCDC6, UBQLN1, ULK1, BCL2L14
Pathways of neurodegeneration - multiple diseases	0.0104	ATXN1, ATP5F1B, ULK1, DNAIL1, LRP6

regulation of macroautophagy	0.0200	UBQLN1, ULK1
protein C-terminus binding	0.0220	GRIP1, ATXN1, PEX1
Amyotrophic lateral sclerosis	0.0306	ATP5F1B, UBQLN1, ULK1, DNAI1
integral component of postsynaptic density membrane	0.0501	GRID2, SORCS3

- ۱۳۱
- ۱۳۲ در مطالعه حاضر، از دو روش مختلف برای شناسایی مناطق تحت انتخاب، به منظور افزایش دقت استفاده کردیم، اما به
- ۱۳۳ دلایل مختلف همپوشانی بین دو آماره اندک بود. از عمده دلایل آن می شود به وجود روش های مختلف برآورد در هر آماره، اندازه
- ۱۳۴ نمونه کم، تراکم مارکر پایین و کیفیت ژنوتایپینگ اشاره کرد. ژن های شناسایی شده توسط آماره FST در دو جمعیت بیمار و سالم
- ۱۳۵ شامل *ZC3H10*، *ESR1*، *HSD17B6*، *KCNC4*، *ERBB3* و *NACA* بودند. در مطالعه ای بیان ژن *ZC3H10* به طور
- ۱۳۶ قابل توجهی در سلول های فیبروبلاست جنین گاوی (BFF) افزایش یافت. *ZC3H10* در مسیرهای مرتبط با ایمنی ناشی از
- ۱۳۷ استرس سرما و ژن های تنظیم شده دخیل در متابولیسم گلوکز و لیپید و انتقال چربی شرکت می کند، در نتیجه سازگاری با استرس
- ۱۳۸ سرما را تسهیل می کند (Wang et al, 2022). شواهد قابل توجهی نشان می دهد که استرس سرما بر تنظیم ایمنی تأثیر می گذارد
- ۱۳۹ (Jia et al, 2019). *ESR1* این ژن یک گیرنده استروژن و فاکتور رونویسی فعال شده با پیوند را کد می کند (Molli et al, 2008).
- ۱۴۰ *ESR1* برای مدتی طولانی در سرطان پستان مورد توجه بوده است، اما از نظر بالینی در سرطان آندومتر، تخمدان و سایر
- ۱۴۱ انواع سرطان نیز مرتبط است (Sá Filho et al, 2017). *HSD17B6* آنزیمی را با فعالیت اکسیدوردوکتاز و اپی مرز نسبت به
- ۱۴۲ آندروژن ها و استروژن ها رمزگذاری می کند و احتمالاً عملکرد استروئیدی را در دستگاه تناسلی جنس نر تنظیم می کند (Huang, 2000).
- ۱۴۳ *KCNC4* یک پروتئین غشایی یکپارچه است و بیماری های مرتبط با *KCNC4* شامل اختلال مادرزادی
- ۱۴۴ گلیکوزیلاسیون، نوع Iic و آتاکسی نخاعی ۱۳ است (Ghanshani et al, 1992). *ERBB3* در گسترش شیردهی و تمایز غده
- ۱۴۵ پستانی در دوران بارداری نقش دارد زیرا بیان ژن های کلیدی برای شیردهی را تنظیم می کند (Marín-Garzón et al, 2021).
- ۱۴۶ علاوه بر این، *ERBB3* توسط Du و همکاران گزارش شده است (Du et al, 2020). ژن *NACA* در تنظیم و تمایز سلول های
- ۱۴۷ میوبلاست و دودمان میوژنیک نقش دارد (Berger et al, 2012).
- ۱۴۸ همچنین ژن های مناطق تحت انتخاب در گاو با چند مسیر در ارتباط بودند. به دلیل مطالعات محدود روی بیماری یون
- ۱۴۹ تنها یک مسیر در چندین مطالعه گزارش شده است که TBP-class protein binding به ترانسفرین گاو متصل می شود. در
- ۱۵۰ مطالعه ای اختصاصیت TBP-class protein binding در پاتوژن گاو، گوسفند و بز بررسی شد. آنها دریافتند که TBP-class
- ۱۵۱ protein binding به ترانسفرین های گوسفند و بز و همچنین ترانسفرین گاو متصل می شود (Pogoutse and Moraes, 2020).
- ۱۵۲ مطالعه دیگری توسط پاتر و همکاران. توانایی TBP-class protein binding برای محافظت در برابر عفونت در گوساله ها را
- ۱۵۳ آزمایش کردند. نتایج نشان داد که TBP-class protein binding از طریق القای یک پاسخ ایمنی غیرواسطه ای آنتی بادی به

- ۱۵۴ محافظت گوساله کمک می‌کند (Potter et al, 1999). این یافته‌ها نشان می‌دهد که پروتئین‌های کلاس TBP-class protein
- ۱۵۵ binding می‌توانند به ترانسفرین گاو متصل شوند و در تعاملات میزبان و پاتوژن نقش داشته باشند.
- ۱۵۶ ژن‌های شناسایی شده توسط آماره XP-EHH در دو جمعیت بیمار و سالم شامل *BTBD1* *ATP8A1* *AK1*
- ۱۵۷ *GRIP1* *GRID2* *FRK* *ERBB4* *EHHADH* *CLSTN2* *CLGN* *CEP295* *CCDC6* *CIGALT1* و
- ۱۵۸ *LRP6* بودند. ژن *AK1* انتقال برگشت پذیر گروه فسفات پایانی بین *ATP* و *AMP* را کاتالیز می‌کند (Matsuura et al, 1989)
- ۱۵۹ *AK1* در گلوبول قرمز، عضله اسکلتی و مغز بیان شده و مسئول فسفوریلاسیون *AMP* در گلوبول‌های قرمز و تولید *ADP*
- ۱۶۰ در مسیر متابولیسم آدنین گوانین است (Gaudet et al, 2021). این ژن یک آنزیم آدنیلات کیناز را کد می‌کند که در متابولیسم
- ۱۶۱ انرژی و هموستاز نسبت‌های نوکلئوتیدی آدنین سلولی در بخش‌های مختلف درون سلولی نقش دارد. این ژن در ماهیچه‌های
- ۱۶۲ اسکلتی، مغز و گلوبول‌های قرمز به شدت بیان می‌شود. جهش‌های خاصی در این ژن که منجر به یک آنزیم ناکافی از نظر عملکرد
- ۱۶۳ می‌شود، با یک اختلال ژنتیکی نادر که باعث کم خونی همولیتیک غیرسفروسیته می‌شود، مرتبط است. پیوند جایگزین این ژن
- ۱۶۴ منجر به چندین نسخه می‌شود که ایزوفرم‌های مختلف را کد می‌کند (Amiri et al, 2013). در مطالعه‌ای که Sanata و
- ۱۶۵ همکاران در سال ۲۰۱۴ بر روی بررسی سیستم‌های ژنتیکی، مصرف خوراک، کارایی و عملکرد خوراک در گاو (*Bos indicus*)
- ۱۶۶ انجام دادند مشخص شد ژن *ATP8A1* در ضریب تبدیل خوراک، مصرف خوراک باقیمانده و افزایش وزن تاثیر دارد (Santana
- ۱۶۷ et al, 2014). در مطالعه‌ای که به بررسی اساس ژنتیکی تولید مثل تخمدان گاو شیانگشی (Xiangxi) و آنگوس می‌پرداخت
- ۱۶۸ نشان داده شد که با توجه به بیان بالاتر *CCDC6* در گاو شیانگشی، می‌توان فرض کرد که احتمال تشکیل تومور در بافت تخمدان
- ۱۶۹ گاو شیانگشی در مقایسه با گاو آنگوس کمتر است (Fang et al, 2022). ژن *CEP295* درگیر در چندین فرآیند، از جمله
- ۱۷۰ همانندسازی سانتیریول، تنظیم استیللاسیون پروتئین، اسکلت سلولی میکروتوبول و غشای پلاسمایی واقع است. بیماری‌های مرتبط
- ۱۷۱ با *CEP295* شامل میکروسفالی اتوزومال مغلوب اولیه و سندرم Bardet-Biedl 1 است (Chang et al, 2016). این ژن
- ۱۷۲ پروتئینی را کد می‌کند که برای تولید بخش دیستال سانتیریول‌های تازه متولد شده با واسطه *CENPJ* در طول چرخه سلولی
- ۱۷۳ ضروری است (Izquierdo et al, 2014). *CLGN* در اسپرم سازی و ناباروری نقش دارد (McPhaul et al, 1993). در
- ۱۷۴ طول اسپرماتوزن به‌عنوان یک پروتئین پیشرو برای طیف وسیعی از پروتئین‌هایی که برای چسبندگی اسپرم و نفوذ بعدی به تخمک
- ۱۷۵ مهم هستند، عمل می‌کند. برای مهاجرت طبیعی اسپرم از رحم به داخل مجرای تخمک و برای باروری طبیعی در جنس نر لازم
- ۱۷۶ است (Ikawa et al, 2001). *CLSTN2* ژنی است که با صفات تولیدمثلی مرتبط است و نقش مهمی در ترویج تکثیر سلول‌های
- ۱۷۷ چربی در بافت چربی احشایی و چربی زیر جلدی دارد و با چاقی پستانداران مرتبط است (Santana et al, 2015). و بیان آن
- ۱۷۸ مرتبط است با اختلالات متابولیسمی مانند گلوکز، اختلال متابولیسم، اختلال در پانکراس، مرتبط است (Mas et al, 2013). این

- ۱۷۹ ژن متابولسیم چربی، با تکثیر سلول‌های شبه چربی مرتبط است و بیش‌بیشتری در مورد نقش متابولسیم لیپید در کنترل
- ۱۸۰ فیزیولوژیکی فنوتیپ ارائه می‌دهد. با این حال، این مسیر متابولیک تنها به بخشی از فیزیولوژی مربوط می‌شود که صفات لاشه را
- ۱۸۱ در گاو گوشتی کنترل می‌کند و مطالعات بیشتری برای تأیید این نتایج ضروری است (Santana et al, 2015). ERBB4 با
- ۱۸۲ STAT5A در پروموتور CSN2 برای تنظیم رونویسی پروتئین‌های شیر در طول دوره شیردهی ضروری است (Jeyabalan
- ۱۸۳ and Clement, 2016). FRK مرتبط با چرخه سلولی است و قبلاً نشان داده شده بود که با مصرف خوراک و کارایی خوراک
- ۱۸۴ در گاوهای گوشتی مرتبط است (Sherman et al, 2010). GRID2 پروتئین کدگذاری شده توسط این ژن عضوی از خانواده
- ۱۸۵ گیرنده‌های گلوتامات یونوتروپیک است که گیرنده‌های انتقال دهنده عصبی تحریکی غالب در مغز پستانداران هستند. پروتئین
- ۱۸۶ کدگذاری شده یک پروتئین غشایی است که به طور انتخابی در سلول‌های پورکنز (Purkinje cells) مخچه بیان می‌شود
- ۱۸۷ (Bertolini et al, 2022). این ژن منجر به تولید چندین نسخه از آن می‌شود که ایزوفرم‌های مختلفی را کد می‌کند. جهش در
- ۱۸۸ این ژن باعث آتاکسی مخچه در انسان می‌شود (Elegheert et al, 2016). ژن GRIP1 که در تحقیقات قبلی شناسایی شده
- ۱۸۹ است، با صفات تولید مثلی مرتبط بود (Fortes و همکاران، ۲۰۱۳). به نظر می‌رسد که GRIP1 در پروتئین‌های ماتریکس خارج
- ۱۹۰ سلولی نقش دارد و در طول رشد جنین ضروری است (Kato et al, 2010). مشخص شده است که انواع ژنتیکی LRP6 با
- ۱۹۱ افزایش خطر ابتلا به بیماری آلزایمر در انسان مرتبط است (Shaw et al, 2011). در مدل آمیلوئید موش، کمبود LRP6 باعث
- ۱۹۲ افزایش سطح آمیلوئید بتا شده و با ابتلا به آلزایمر مرتبط است (Liu et al, 2014).
- ۱۹۳ ژن BTBD1 با لاشه و صفات رشد در جوجه‌های گوشتی مرتبط است (Zhang et al, 2015). BTBD1 یک ژن
- ۱۹۴ کدکننده پروتئین است. بیماری‌های مرتبط با BTBD1 عبارتند از نفرومای مزوبلاستیک مادرزادی و فیبروسارکوم دوران کودکی،
- ۱۹۵ از جمله مسیرهای مرتبط با آن می‌توان به پردازش و ارائه آنتی ژن با واسطه MHC کلاس I و متابولسیم پروتئین‌ها اشاره کرد.
- ۱۹۶ پارالوگ مهم این ژن BTBD2 است (Furukawa et al, 2003). ژن C1GALT1 پروتئینی را کد می‌کند که نقش اصلی
- ۱۹۷ را در بسیاری از فرآیندها، مانند رگ‌زایی، ترومبوز و توسعه هموستاز کلیه ایفا می‌کند (Zhang et al, 2015). در موش‌های جهش
- ۱۹۸ یافته با ژن G1GALT1، گلیکوپروتئین‌های تخمک اصلاح شده نسبت فاکتور رشد به بیان پروتئین مورفوژنتیک استخوان را
- ۱۹۹ تغییر می‌دهند، و منجر به تولید فولیکول‌های بیشتر و چرخه فحلی طولانی‌تر می‌شود (Grasa et al, 2015). C1GALT1
- ۲۰۰ می‌تواند به عنوان یک انکوژن یا یک ژن سرکوب کننده تومور در شرایط مختلف عمل کند. بیان بالای C1GALT1 در بافت‌های
- ۲۰۱ سرطانی کبد یا تومورهای پیشرفته گزارش شده است (Liu et al, 2014). عملکرد ژن CCDC6 منجر به کاهش پیشرفت
- ۲۰۲ تومور در اندام‌ها است. در مطالعه‌ای سطوح پایین پروتئین CCDC6 را گزارش کرده بودند که با احتمال وقوع تومور در ارتباط
- ۲۰۳ بود (Morra et al, 2015). ژن EHHADH یک پروتئین کدکننده است و پروتئین کدگذاری شده توسط این ژن یک آنزیم

- ۲۰۴ دو عملکردی است و یکی از چهار آنزیم مسیر بتا اکسیداسیون پراکسی زومی است (Qi et al, 1999). نقص در این ژن علت
- ۲۰۵ اصلی اختلالات پراکسیزومال مانند سندرم زلوگر است. از مسیرهای مرتبط با آن می توان به متابولیسم اسیدهای چرب و متابولیسم
- ۲۰۶ لیپید پراکسیزومال اشاره کرد (Houten et al, 2012). در مطالعه تشخیص تری گلیسیرید داخل سلولی نشان داد که بیان بیش
- ۲۰۷ از حد EHHADH منجر به کاهش قابل توجهی در تری گلیسیرید داخل سلولی می شود (Li et al, 2022). ERBB4 با مرگ
- ۲۰۸ و میر جنینی در موش مرتبط است (Tidcombe et al, 2003). این ژن با مسیر ERBB4 معروف است و این مسیر در توسعه
- ۲۰۹ و پیشرفت ملانوسیت ها نقش دارد (Choi et al, 2010). جهش در این ژن با سرطان مرتبط است (Ferreira et al, 2008).
- ۲۱۰ این ژن پروتئین تیروزین کیناز را کد می کند که نقش اساسی به عنوان گیرنده سطح سلولی برای نوروگولین ها و اعضای خانواده
- ۲۱۱ EGF ایفا می کند و رشد قلب، سیستم عصبی مرکزی و غده پستانی، رونویسی ژن، تکثیر سلولی، تمایز، مهاجرت و آپوپتوز را
- ۲۱۲ تنظیم می کند (Breitenkamp et al, 2014).
- ۲۱۳ علاوه بر این چندین مسیر شناسایی شده توسط ژن های تحت انتخاب در آماره XP-EHH نیز گزارش شده است. ATP
- ۲۱۴ metabolic process در گاو شامل فرآیندها و مسیرهای مختلفی است. مسیر سنتز پورین نقش مهمی در تولید نوکلئوتیدهای پورین
- ۲۱۵ مانند AMP و GMP دارد که برای متابولیسم انرژی و سیگنال دهی سلولی ضروری هستند (Bønsdorff et al, 2004).
- ۲۱۶ ماکرواوتوفازی، یک مسیر تخریب سلولی، توسط عوامل مختلفی در گاوها تنظیم می شود. اسیدهای انسولین و آمینه، که از
- ۲۱۷ طریق مسیر سیگنالینگ mTORC1 عمل می کنند، ماکرو اتوفازی را در بالادست تشکیل اتوفاگوزوم مهار می کنند (Mehrpour
- ۲۱۸ et al, 2010). ناحیه C ترمینال آدیوفیلین (ADPH) یک ساختار مارپیچی اتصال غشایی پایدار را تشکیل می دهد که برای ترشح
- ۲۱۹ قطرات لیپید سیتوپلاسمی (CLD) در سلول های اپیتلیال پستان مهم است (Chong et al, 2011). قطعه C ترمینال می تواند
- ۲۲۰ پاسخ آنتی بادی قوی را القا کند و فعالیت سم آلفا و C را خنثی کند. اسکروز جانبی آمیوتروفیک (ALS) یک اختلال عصبی است
- ۲۲۱ که با تخریب و از دست دادن نورون های حرکتی مشخص می شود. هر دو نورون حرکتی فوقانی و تحتانی را تحت تاثیر قرار می
- ۲۲۲ دهد و منجر به ضعف عضلانی، آتروفی و فلج می شود.
- نتیجه گیری** ۲۲۳
- ۲۲۴ به صورت کلی مطالعات در زمینه بیماری یون محدود بوده و هنوز به طور قطع اطلاعات دقیقی از تغییرات ژنتیکی این
- ۲۲۵ بیماری گزارش نشده است. از نتایج حاصل از ژن های این مطالعه می شود نتیجه گرفت که بیماری یون منجر به کاهش مصرف
- ۲۲۶ خوراک و به طبع کاهش تولید شیر می شود. همچنین سیستم ضعیف ایمنی بدن دام شدت بیماری را تشدید می کند و ژن های مهم
- ۲۲۷ زیستی (تولید مثل) و اقتصادی (تولید شیر و گوشت) را درگیر می کند. زمانی که دام درگیر بیماری است میزان مصرف خوراک هم
- ۲۲۸ در آن کاهش می یابد، نتایج نشان داد که ژن های دخیل در مصرف خوراک و بازدهی خوراک هم در بیماری یون تحت تاثیر قرار

- ۲۲۹ می‌گیرند. با کاهش مصرف خوراک علاوه بر ضعیف شدن سیستم ایمنی و تشدید بیماری در دام، رشد دام هم دچار مشکل شده و
- ۲۳۰ تحت تاثیر قرار می‌گیرد. پس به صورت کلی بیماری یون در دام با ویژگی‌های ایمنی، بیماری، شیردهی، ماهیچه‌های اسکلتی،
- ۲۳۱ چرخه فحلی، مصرف خوراک، چسبندگی اسپرم و رشد در ارتباط بودند، که جزو صفات و ویژگی‌های مهم زیستی جاندار قرار
- ۲۳۲ می‌گیرد. بیماری یون یک بیماری نهفته است و مشکلات و ضررهای اقتصادی فراوانی را در بخش دامداری ایجاد نموده است، با
- ۲۳۳ شناسایی دقیق ژن‌های دخیل در این بیماری با مطالعات گسترده تر انتخاب دام‌ها به عنوان والدین نسل بعد بهتر انجام خواهد شد.
- ۲۳۴ نتایج حاصل از این تحقیق با مشخص نمودن ژن‌های کاندید احتمالی مرتبط با بیماری یون و جایگاه‌هایی از ژنوم که ممکن است
- ۲۳۵ در اثر بیماری تغییر پیدا کرده‌اند، می‌تواند در برنامه‌های اصلاح نژادی روی گاوهای هلشتاین در کشور مورد استفاده قرار گیرد. البته
- ۲۳۶ با توجه به کامل نبودن اطلاعات مربوط به عملکرد ژن‌ها در گونه گاو و کوچک بودن جمعیت مورد مطالعه، مطالعات بیشتر با تعداد
- ۲۳۷ نمونه‌های بزرگتر، درک بهتری از ژن‌های کاندید برای بیماری یون در جمعیت گاو ایجاد خواهد نمود. با توجه به اهمیت پرورش
- ۲۳۸ گاو برای تأمین منابع لبنی در کشور و همچنین فراگیری وسیع گاو هلشتاین در جهان، افزایش اطلاعات در این زمینه مطمئناً تاثیر
- ۲۳۹ مناسبی بر طراحی استراتژی‌های اصلاح نژاد در گاوهای کشور دارد. هزینه‌های انجام این طرح به صورت کامل توسط گاوداری
- ۲۴۰ فکا در اصفهان پرداخت شد.

۲۴۱ منابع

- ۲۴۲
- ۲۴۳ 1. Amato, R., Pinelli, M., Monticelli, A., Marino, D., Miele, G., & Coccozza, S. (2009). Genome-wide scan for signatures of human population differentiation and their relationship with natural selection, functional pathways and diseases. *PLoS one*, 4(11), e7927. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0007927>
- ۲۴۴ 2. Amiri, M., Conserva, F., Panayiotou, C., Karlsson, A., & Solaroli, N. (2013). The human adenylate kinase 9 is a nucleoside mono- and diphosphate kinase. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 45(5), 925-931. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2013.02.004>
- ۲۴۵ 3. Berger, F., Berkholz, J., Breustedt, T., Ploen, D., & Munz, B. (2012). Skeletal muscle-specific variant of nascent polypeptide associated complex alpha (skNAC): implications for a specific role in mammalian myoblast differentiation. *European Journal of Cell Biology*, 91(2), 150-155. <https://doi.org/10.1016/j.ejcb.2011.10.004>
- ۲۴۶ 4. Bertolini, F., Moscatelli, G., Schiavo, G., Bovo, S., Ribani, A., Ballan, M., & Fontanesi, L. (2022). Signatures of selection are present in the genome of two close autochthonous cattle breeds raised in the North of Italy and mainly distinguished for their coat colours. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 139(3), 307-319. <https://doi.org/10.1111/jbg.12659>
- ۲۴۷ 5. Bindea, G., Mlecnik, B., Hackl, H., Charoentong, P., Tosolini, M., Kirilovsky, A., & Galon, J. (2009). ClueGO: a Cytoscape plug-in to decipher functionally grouped gene ontology and pathway annotation networks. *Bioinformatics*, 25(8), 1091-1093. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp101>
- ۲۴۸ 6. Breitenkamp, A. F., Matthes, J., Nass, R. D., Sinzig, J., Lehmkuhl, G., Nürnberg, P., & Herzig, S. (2014). Rare mutations of CACNB2 found in autism spectrum disease-affected families alter calcium channel function. *PLoS One*, 9(4), e95579. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0095579>
- ۲۴۹ 7. Bønsdorff, T., Gautier, M., Farstad, W., Rønningen, K., Lingaas, F. and Olsaker, I. (2004). Mapping of the bovine genes of the de novo AMP synthesis pathway 1. *Animal genetics*, 35(6), pp.438-444. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.2004.01201.x>
- ۲۵۰
- ۲۵۱
- ۲۵۲
- ۲۵۳
- ۲۵۴
- ۲۵۵
- ۲۵۶
- ۲۵۷
- ۲۵۸
- ۲۵۹
- ۲۶۰
- ۲۶۱
- ۲۶۲
- ۲۶۳
- ۲۶۴
- ۲۶۵

8. Chang, C. W., Hsu, W. B., Tsai, J. J., Tang, C. J. C., & Tang, T. K. (2016). CEP295 interacts with microtubules and is required for centriole elongation. *Journal of cell science*, 129(13), 2501-2513. <https://doi.org/10.1242/jcs.186338> ۲۶۶
۲۶۷
9. Chiodini, R. J., Van Kruiningen, H. J., & Merkal, R. S. (1984). Ruminant paratuberculosis (Johne's disease): The current status and future prospects. *Cornell veterinarian*, 74(3), 218-262. ۲۶۸
۲۶۹
10. Choi, J., Young, J. A., & Callaway, E. M. (2010). Selective viral vector transduction of ErbB4 expressing cortical interneurons in vivo with a viral receptor–ligand bridge protein. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(38), 16703-16708. <https://doi.org/10.1073/pnas.1006233107> ۲۷۰
۲۷۱
11. Chong, B.M., Russell, T.D., Schaack, J., Orlicky, D.J., Reigan, P., Ladinsky, M. and McManaman, J.L. (2011). The adipophilin C terminus is a self-folding membrane-binding domain that is important for milk lipid secretion. *Journal of Biological Chemistry*, 286(26), pp.23254-23265. ۲۷۲
۲۷۳
۲۷۴
12. Clarke, C. J. (1997). The pathology and pathogenesis of paratuberculosis in ruminants and other species. *Journal of comparative pathology*, 116(3), 217-261. [https://doi.org/10.1016/S0021-9975\(97\)80001-1](https://doi.org/10.1016/S0021-9975(97)80001-1) ۲۷۵
۲۷۶
13. Du, C., Deng, T. X., Zhou, Y., Ghanem, N., & Hua, G. H. (2020). Bioinformatics analysis of candidate genes for milk production traits in water buffalo (*Bubalus bubalis*). *Tropical animal health and production*, 52, 63-69. <https://doi.org/10.1007/s11250-019-01984-1> ۲۷۷
۲۷۸
14. Elegheert, J., Kakegawa, W., Clay, J. E., Shanks, N. F., Behiels, E., Matsuda, K., & Aricescu, A. R. (2016). Structural basis for integration of GluD receptors within synaptic organizer complexes. *Science*, 353(6296), 295-299. <https://doi.org/10.1126/science.aae0104> ۲۷۹
۲۸۰
15. Fang, H., Ao, S., Yun, L., Jianbo, L., Haobang, L., Yang, L., & Kangle, Y. (2022). Exploring the Genetic Basis of Xiangxi Cattle Ovary Reproduction: A Rudimentary Study of Ovary Transcriptome in Xiangxi and Angus Cattle. *Pakistan Veterinary Journal*, 42(2). ۲۸۱
۲۸۲
16. Farzi, M., Moradi Shahrabak, M., Moradi Shahrabak, H. and Zandi Baghcheh Maryam, M.B., (2022). Genomic scan for selection signatures in native (Sarabi, Najdi and Taleshi) and Holstein cattle breeds using hapFLK method. *Iranian Journal of animal Science*, 53(3), pp.203-209. ۲۸۳
۲۸۴
17. Ferreira, M. A., O'Donovan, M. C., Meng, Y. A., Jones, I. R., Ruderfer, D. M., Jones, L., & Craddock, N. (2008). Collaborative genome-wide association analysis supports a role for ANK3 and CACNA1C in bipolar disorder. *Nature genetics*, 40(9), 1056-1058. <https://doi.org/10.1038/ng.209> ۲۸۵
۲۸۶
18. Fortes, M. R. S., Reverter, A., Kelly, M., McCulloch, R., & Lehnert, S. A. (2013). Genome- wide association study for inhibin, luteinizing hormone, insulin- like growth factor 1, testicular size and semen traits in bovine species. *Andrology*, 1(4), 644-650. <https://doi.org/10.1111/j.2047-2927.2013.00101.x> ۲۸۷
۲۸۸
19. Furukawa, M., He, Y. J., Borchers, C., & Xiong, Y. (2003). Targeting of protein ubiquitination by BTB–Cullin 3–Roc1 ubiquitin ligases. *Nature cell biology*, 5(11), 1001-1007. <https://doi.org/10.1038/ncb1056> ۲۸۹
۲۹۰
20. Gaudet, P., Livstone, M. S., Lewis, S. E., & Thomas, P. D. (2011). Phylogenetic-based propagation of functional annotations within the Gene Ontology consortium. *Briefings in bioinformatics*, 12(5), 449-462. <https://doi.org/10.1093/bib/bbr042> ۲۹۱
۲۹۲
21. Ghanshani, S., Pak, M., McPherson, J. D., Strong, M., Dethlefs, B., Wasmuth, J. J., & Chandy, K. G. (1992). Genomic organization, nucleotide sequence, and cellular distribution of a Shaw-related potassium channel gene, Kv3. 3, and mapping of Kv3. 3 and Kv3. 4 to human chromosomes 19 and 1. *Genomics*, 12(2), 190-196. [https://doi.org/10.1016/0888-7543\(92\)90365-Y](https://doi.org/10.1016/0888-7543(92)90365-Y) ۲۹۳
۲۹۴
22. Grasa, P., Ploutarchou, P., & Williams, S. A. (2015). Oocytes lacking O- glycans alter follicle development and increase fertility by increasing follicle FSH sensitivity, decreasing apoptosis, and modifying GDF9: BMP15 expression. *The fASEB journal*, 29(2), 525-539. <https://doi.org/10.1096/fj.14-253757> ۲۹۵
۲۹۶
23. Gyles, C.L. and Theon, O.C. (1993). Pathogenesis of Bacterial Infection in Animals. 2ed edition. USA: Ames, Iowa, *Iowa State University*, pp: 44-54. ۲۹۷
۲۹۸
24. Hall, S. J. (2022). Genetic Differentiation among Livestock Breeds Values for Fst. *Animals*, 12(9), 1115. ۲۹۹
۳۰۰
25. Hayes, B. J., Chamberlain, A. J., Maceachern, S., Savin, K., McPartlan, H., MacLeod, I., & Goddard, M. E. (2009). A genome map of divergent artificial selection between *Bos taurus* dairy cattle and *Bos taurus* beef cattle. *Animal genetics*, 40(2), 176-184. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.2008.01815.x> ۳۰۱
۳۰۲
26. Houten, S. M., Denis, S., Argmann, C. A., Jia, Y., Ferdinandusse, S., Reddy, J. K., & Wanders, R. J. (2012). Peroxisomal L-bifunctional enzyme (Ehhadh) is essential for the production of medium-chain dicarboxylic acids. *Journal of lipid research*, 53(7), 1296-1303. <https://doi.org/10.1194/jlr.M024463> ۳۰۳
۳۰۴
27. Huang, X. F. (2000). Molecular characterization of a first human 3 ($\alpha \rightarrow \beta$)-hydroxysteroid epimerase. *Journal of Biological Chemistry*, 275(38), 29452-29457. <https://doi.org/10.1074/jbc.M000562200> ۳۰۵
۳۰۶
28. Ikawa, M., Nakanishi, T., Yamada, S., Wada, I., Kominami, K., Tanaka, H., & Okabe, M. (2001). Calmegin is required for fertilin $\alpha\beta$ heterodimerization and sperm fertility. *Developmental biology*, 240(1), 254-261. <https://doi.org/10.1006/dbio.2001.0462> ۳۰۷
۳۰۸
۳۰۹
۳۱۰
۳۱۱
۳۱۲
۳۱۳
۳۱۴
۳۱۵
۳۱۶
۳۱۷
۳۱۸
۳۱۹
۳۲۰
۳۲۱
۳۲۲
۳۲۳

29. Izquierdo, D., Wang, W. J., Uryu, K., & Tsou, M. F. B. (2014). Stabilization of cartwheel-less centrioles for duplication requires CEP295-mediated centriole-to-centrosome conversion. *Cell reports*, 8(4), 957-965. <http://dx.doi.org/10.1016/j.celrep.2014.07.022> ۳۲۴
۳۲۵
30. Jeyabalan, N., & Clement, J. P. (2016). SYNGAP1: mind the gap. *Frontiers in cellular neuroscience*, 10, 32. <https://doi.org/10.3389/fncel.2016.00032> ۳۲۶
۳۲۷
31. Jia, Z., Chen, A., Wang, C., He, M., Xu, J., Fu, H., & Guo, Z. (2019). Amelioration effects of Kaempferol on immune response following chronic intermittent cold-stress. *Research in veterinary science*, 125, 390-396. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2019.08.012> ۳۲۸
۳۲۹
32. Jones, T. C., Hunt, R. D., & King, N. W. (1997). Canine distemper. *Veterinary Pathology*, sixth ed. Williams & Wilkins, Baltimore, 311-315. ۳۳۰
۳۳۱
33. Kato, M., Takaishi, H., Yoda, M., Tohmonda, T., Takito, J., Fujita, N., & Chiba, K. (2010). GRIP1 enhances estrogen receptor α -dependent extracellular matrix gene expression in chondrogenic cells. *Osteoarthritis and Cartilage*, 18(7), 934-941. <https://doi.org/10.1016/j.joca.2010.03.008> ۳۳۲
۳۳۳
34. Kennedy, D. J., & Benedictus, G. (2001). Control of Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis infection in agricultural species. *Revue Scientifique et Technique-Office International des Epizooties*, 20(1), 151-179. ۳۳۴
۳۳۵
35. Li, G., Yang, R., Lu, X., Liu, Y., He, W., Li, Y., & Fang, X. (2022). RNA-Seq Analysis Identifies Differentially Expressed Genes in the Longissimus dorsi of Wagyu and Chinese Red Steppe Cattle. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(1), 387. <https://doi.org/10.3390/ijms24010387> ۳۳۶
۳۳۷
36. Liu, C. C., Tsai, C. W., Deak, F., Rogers, J., Penuliar, M., Sung, Y. M., & Bu, G. (2014). Deficiency in LRP6-mediated Wnt signaling contributes to synaptic abnormalities and amyloid pathology in Alzheimer's disease. *Neuron*, 84(1), 63-77. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuron.2014.08.048> ۳۳۸
۳۳۹
37. Liu, C. H., Hu, R. H., Huang, M. J., Lai, I. R., Chen, C. H., Lai, H. S., & Huang, M. C. (2014). C1GALT1 promotes invasive phenotypes of hepatocellular carcinoma cells by modulating integrin β 1 glycosylation and activity. *PLoS One*, 9(8), e94995. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0094995> ۳۴۰
۳۴۱
38. Marín-Garzón, N. A., Magalhães, A. F. B., Schmidt, P. I., Serna, M., Fonseca, L. F. S., Salatta, B. M., & Albuquerque, L. G. (2021). Genome-wide scan reveals genomic regions and candidate genes underlying direct and maternal effects of preweaning calf mortality in Nelore cattle. *Genomics*, 113(3), 1386-1395. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2021.02.021> ۳۴۲
۳۴۳
39. Mas, S., Gassó, P., Bernardo, M., & Lafuente, A. (2013). Functional analysis of gene expression in risperidone treated cells provide new insights in molecular mechanism and new candidate genes for pharmacogenetic studies. *European Neuropsychopharmacology*, 23(4), 329-337. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2012.04.016> ۳۴۴
۳۴۵
40. Matsuura, S., Igarashi, M., Tanizawa, Y., Yamada, M., Kishi, F., Kajii, T., & Nakazawa, A. (1989). Human adenylate kinase deficiency associated with hemolytic anemia: a single base substitution affecting solubility and catalytic activity of the cytosolic adenylate kinase. *Journal of Biological Chemistry*, 264(17), 10148-10155. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)81779-3](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)81779-3) ۳۴۶
۳۴۷
41. McPhaul, M. J., Marcelli, M., Zoppi, S., Griffin, J. E., & Wilson, J. D. (1993). Genetic basis of endocrine disease. 4. The spectrum of mutations in the androgen receptor gene that causes androgen resistance. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 76(1), 17-23. <https://doi.org/10.1210/jcem.76.1.8421085> ۳۴۸
۳۴۹
42. Mehrpour, M., Esclatine, A., Beau, I. and Codogno, P. (2010). Overview of macroautophagy regulation in mammalian cells. *Cell research*, 20(7), pp.748-762. <https://doi.org/10.1038/cr.2010.82> ۳۵۰
۳۵۱
43. Molli, P. R., Singh, R. R., Lee, S. W., & Kumar, R. (2008). MTA1-mediated transcriptional repression of BRCA1 tumor suppressor gene. *Oncogene*, 27(14), 1971-1980. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1210839> ۳۵۲
۳۵۳
44. Morra, F., Luise, C., Merolla, F., Poser, I., Visconti, R., Ilardi, G., & Celetti, A. (2015). FBXW7 and USP7 regulate CCDC6 turnover during the cell cycle and affect cancer drugs susceptibility in NSCLC. *Oncotarget*, 6(14), 12697. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.3708> ۳۵۴
۳۵۵
45. Purcell, S., Neale, B., Todd-Brown, K., Thomas, L., Ferreira, M. A., Bender, D., Maller, J., Sklar, P., de Bakker, P. I. W., Daly, M. J., & Sham, P. C. (2007). PLINK: A tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *The American Journal of Human Genetics*, 81(3), 559-575. <https://doi.org/10.1086/519795> ۳۵۶
۳۵۷
46. Pogoutse, A.K. and Moraes, T.F. (2020). Transferrin binding protein B and transferrin binding protein A2 expand the transferrin recognition range of Histophilus somni. *Journal of Bacteriology*, 202(14), pp.10-1128. <https://doi.org/10.1128/jb.00177-20> ۳۵۸
۳۵۹
47. Potter, A.A., Schryvers, A.B., Ogunnariwo, J.A., Hutchins, W.A., Lo, R.Y. and Watts, T. (1999). Protective capacity of the Pasteurella haemolytica transferrin-binding proteins TbpA and TbpB in cattle. *Microbial pathogenesis*, 27(4), pp.197-206. <https://doi.org/10.1006/mpat.1999.0297> ۳۶۰
۳۶۱
48. Qi, C., Zhu, Y., Pan, J., Usuda, N., Maeda, N., Yeldandi, A. V., & Reddy, J. K. (1999). Absence of spontaneous peroxisome proliferation in enoyl-CoA hydratase/L-3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase- ۳۶۲
۳۶۳
۳۶۴
۳۶۵
۳۶۶
۳۶۷
۳۶۸
۳۶۹
۳۷۰
۳۷۱
۳۷۲
۳۷۳
۳۷۴
۳۷۵
۳۷۶
۳۷۷
۳۷۸
۳۷۹
۳۸۰
۳۸۱
۳۸۲

- deficient mouse liver: Further support for the role of fatty acyl CoA oxidase in PPAR α ligand metabolism. *Journal of Biological Chemistry*, 274(22), 15775-15780. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.22.15775>
49. Sá Filho, M. F. D., Gonella-Diaza, A. M., Sponchiado, M., Mendanha, M. F., Pugliesi, G., Ramos, R. D. S., & Binelli, M. (2017). Impact of hormonal modulation at proestrus on ovarian responses and uterine gene expression of suckled anestrous beef cows. *Journal of animal science and biotechnology*, 8(1), 1-14. <https://doi.org/10.1186/s40104-017-0211-3>
 50. Sabeti, P. C., Varilly, P., Fry, B., Lohmueller, J., Hostetter, E., Cotsapas, C., & Wellcome Trust Kennedy Karen 67 Jamieson Ruth 64 Stewart John 64. (2007). Genome-wide detection and characterization of positive selection in human populations. *Nature*, 449(7164), 913-918. <https://doi.org/10.1038/nature06250>
 51. Saito, R., Smoot, M. E., Ono, K., Ruscheinski, J., Wang, P. L., Lotia, S., & Ideker, T. (2012). A travel guide to Cytoscape plugins. *Nature methods*, 9(11), 1069-1076. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2212>
 52. Santana, M. H. A., Kadarmideen, H., Pant, S., Alexandre, P., Junior, G. O., Gomes, R., & Ferraz, J. B. S. (2014, August). Systems genetics investigations for feed intake, feed efficiency and performance in Nellore (*Bos indicus*) Cattle. In *10th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*.
 53. Santana, M. H. D. A., Ventura, R. V., Utsunomiya, Y. T., Neves, H. H. D. R., Alexandre, P. A., Oliveira Junior, G. A., & Ferraz, J. B. S. (2015). A genomewide association mapping study using ultrasound-scanned information identifies potential genomic regions and candidate genes affecting carcass traits in Nellore cattle. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 132(6), 420-427. <https://doi.org/10.1111/jbg.12167>
 54. Schlötterer, C. (2003). Hitchhiking mapping—functional genomics from the population genetics perspective. *Trends in Genetics*, 19(1), 32-38. [https://doi.org/10.1016/S0168-9525\(02\)00012-4](https://doi.org/10.1016/S0168-9525(02)00012-4)
 55. Shaw, C. A., Li, Y., Wiszniewska, J., Chasse, S., Zaidi, S. N. Y., Jin, W., & Szigeti, K. (2011). Olfactory copy number association with age at onset of Alzheimer disease. *Neurology*, 76(15), 1302-1309. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e3182166df5>
 56. Sherman, E. L., Nkrumah, J. D., & Moore, S. S. (2010). Whole genome single nucleotide polymorphism associations with feed intake and feed efficiency in beef cattle. *Journal of animal science*, 88(1), 16-22. <https://doi.org/10.2527/jas.2008-1759>
 57. Smith, R. L., Strawderman, R. L., Schukken, Y. H., Wells, S. J., Pradhan, A. K., Espejo, L. A., & Gröhn, Y. T. (2010). Effect of Johne's disease status on reproduction and culling in dairy cattle. *Journal of dairy science*, 93(8), 3513-3524. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2742>
 58. Teo, Y. Y., Fry, A. E., Clark, T. G., Tai, E. S. and Seielstad, M., (2007). On the usage of HWE for identifying genotyping errors. *Annals of Human genetics*, 71(5), pp.701-70
 59. Tidcombe, H., Jackson-Fisher, A., Mathers, K., Stern, D. F., Gassmann, M., & Golding, J. P. (2003). Neural and mammary gland defects in ErbB4 knockout mice genetically rescued from embryonic lethality. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(14), 8281-8286. <https://doi.org/10.1073/pnas.1436402100>
 60. Utsunomiya, Y. T., Pérez O'Brien, A. M., Sonstegard, T. S., Sölkner, J., & Garcia, J. F. (2015). Genomic data as the “hitchhiker's guide” to cattle adaptation: tracking the milestones of past selection in the bovine genome. *Frontiers in Genetics*, 6, 36. <https://doi.org/10.3389/fgene.2015.00036>
 61. Van der Giessen, J. W. B., Eger, A., Haagsma, J., Haring, R. M., Gaastra, W., & Van Der Zeijst, B. A. M. (1992). Amplification of 16S rRNA sequences to detect Mycobacterium paratuberculosis. *Journal of medical microbiology*, 36(4), 255-263. <https://doi.org/10.1099/00222615-36-4-255>
 62. Wang, L., Gao, Y., Wang, J., Huang, N., Jiang, Q., Ju, Z., & Huang, J. (2022). Selection Signature and CRISPR/Cas9-Mediated Gene Knockout Analyses Reveal ZC3H10 Involved in Cold Adaptation in Chinese Native Cattle. *Genes*, 13(10), 1910. <https://doi.org/10.3390/genes13101910>
 63. Weir, B. S., & Cockerham, C. C. (1984). Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *evolution*, 1358-1370. <https://doi.org/10.2307/2408641>
 64. Zhang, H., Shen, L. Y., Xu, Z. C., Kramer, L. M., Yu, J. Q., Zhang, X. Y., & Li, H. (2020). Haplotype-based genome-wide association studies for carcass and growth traits in chicken. *Poultry science*, 99(5), 2349-2361. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.01.009>
 65. Zhang, X., Dong, W., Zhou, H., Li, H., Wang, N., Miao, X., & Jia, L. (2015). α - 2, 8- sialyltransferase is involved in the development of multidrug resistance via PI 3 K/A kt pathway in human chronic myeloid leukemia. *IUBMB life*, 67(2), 77-87. <https://doi.org/10.1002/iub.1351>

Introduction:

Johne's disease, pseudotuberculosis, or paratuberculosis is a chronic infectious disease of the digestive system and small intestines in domestic and wild ruminants caused by

Mycobacterium ovium subspecies paratuberculosis [1]. The disease is common in cattle and, to some extent, in sheep and goats [2]. The characteristics of this disease include granulomatous enterocolitis and lymphadenitis [3]. Due to the slow spread of the disease, Johne's disease occurs in isolation [4]. In cattle, clinical symptoms do not appear until two years of age due to the long incubation period [5]. Johne's disease is responsible for significant economic losses in dairy herds worldwide, leading to reduced milk production, increased management costs, and premature culling or death due to clinical disease [7]. The alteration of the pattern of genetic diversity and linkage disequilibrium of the connected loci with a beneficial mutation during selection is called a Selective Sweep. These regions are related to major effect genes and genes affecting production traits and reproduction, making them of special importance as valuable sources of information for further research [8]. Therefore, identifying susceptible and resistant animals to this disease can play a significant and important role in preventing or reducing contamination of cattle farms with this infection. This study aims to identify genomic regions under selection related to this disease in two populations of diseased and healthy Holstein cattle using single nucleotide markers (SNPs).

Materials and Methods:

The present study was conducted at Foka cattle ranch in Isfahan. Initially, in the laboratory, the blood samples of the cows were tested for Johne's disease with ELISA. Subsequently, the cows were categorized into two groups: sick and healthy, comprising 45 sick cattle and 100 healthy cattle. Both groups were genotyped based on microarrays and SNPchip30k. To ensure the quality of the genotype data, various filtration steps were applied to the raw data using Plink version 1.9 (Purcell et al.,2007) software. To investigate the genomic pattern of positive selection in this disease, theta values for each SNP were calculated using the unbiased θ estimator method [10] in the R x64 4.0.4 software environment. Instead of the numerical theta value of each SNP, the average of 5 adjacent SNPs within a 300 kbp range was used to better identify the selection signals. Ancestral alleles were not required to identify the regions under selection [12]. In the XP-EHH test, haplotypes in two populations were compared to consider the variation in the recombination rate across different genomic regions. The R x64 4.0.4 software and rehh package were used to identify selection signals in two populations. After identifying the selected regions, Illumina's gene list was used in the Plink version 1.9 (Purcell et al.,2007) software environment to identify the genes related to these regions. To identify important KEGG metabolic pathways, ClueGo version 2.5.6, a Cytoscape plugin that provides biological annotations of genes, was used [13].

Results:

After quality control of the data, 28,749 SNP markers were selected for further analysis. The genomic distribution of F_{ST} was determined using the win5 method for all SNPs across the genome. The results showed that several genomic regions had high population differences among adjacent SNPs. In this research, 79 genomic regions on 6 chromosomes were identified between the two populations of diseased and healthy cattle. After analyzing the regions under selection, 34 genes were identified in two populations of sick and healthy Holstein cows using F_{ST} statistics. The XP-EHH statistic indicated the presence of selection in the patient population

۴۴۰
۴۴۱
۴۴۲
۴۴۳
۴۴۴
۴۴۵
۴۴۶
۴۴۷
۴۴۸
۴۴۹
۴۵۰
۴۵۱
۴۵۲
۴۵۳
۴۵۴
۴۵۵
۴۵۶
۴۵۷
۴۵۸
۴۵۹
۴۶۰
۴۶۱
۴۶۲
۴۶۳
۴۶۴
۴۶۵
۴۶۶
۴۶۷
۴۶۸
۴۶۹
۴۷۰
۴۷۱
۴۷۲
۴۷۳
۴۷۴
۴۷۵
۴۷۶
۴۷۷
۴۷۸
۴۷۹
۴۸۰
۴۸۱
۴۸۲

when it was negative and in the healthy population when it was positive. Regions of the genome with high XP-EHH values were indicative of population differentiation in those genomic regions due to the disease. The results showed that 170 regions on different chromosomes were identified in the healthy population, and 156 genomic regions were identified on different chromosomes in the patient population. After analyzing the selected regions, 50 genes were identified in the diseased population, and 62 genes were identified in the healthy population of Holstein cows using the XP-EHH statistic.

۴۸۳
۴۸۴
۴۸۵
۴۸۶
۴۸۷
۴۸۸
۴۸۹
۴۹۰
۴۹۱
۴۹۲
۴۹۳
۴۹۴
۴۹۵
۴۹۶
۴۹۷
۴۹۸

Conclusion:

Most of the genes identified in this study were related to immunity, diseases such as cancer, lactation, skeletal muscles, estrous cycle, feed consumption, sperm adhesion, and growth. These traits are among the important biological characteristics of living organisms. The results of this research, by identifying potential candidate genes related to Johne's disease and changes in the genome due to the disease, can be used in breeding programs for Holstein cows in the given country.

