مجله بیوتکنولوژی کشاورزی (دوره 2، شماره 2، پاییز و زمستان 1389)

کاوش ژنومیک تمایز جمعیتی در نژادهای زل و لری‌بختیاری

محمد حسین مرادی*[1]، اردشیر نجاتی جوارمی[2]، محمد مرادی شهربابک[3]، کن دادز[4]، جان مک‌ایوان[4]

[1] دانشجوی دکتری، پردیس کشاورزی ومنابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران

[2] دانشیار ، پردیس کشاورزی ومنابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران

[3] استاد پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران

[4] محققین ارشد بخش ژنومیکس و تولید مثل مرکز AgResearch نیوزیلند

تاریخ دریافت: 1390/09/05، تاریخ پذیرش: 1390/10/28

چکیده

انتخاب برای افزایش فراوانی موتاسیون‌های جدیدی که فقط در برخی از زیرجمعیت‌ها سودمند هستند باعث باقی گذاشتن نشانه‌هایی در سطح ژنوم می‌شود. شناسایی این مناطق ژنومی یکی از مهمترین حوزه‌های تحقیقاتی در ژنتیک حیوانی است، زیرا این مناطق اغلب با QTLهای مرتبط با صفات مهم اقتصادی در ارتباط هستند. در این تحقیق با هدف شناسایی مناطق ژنومی که در دو نژاد گوسفند ایرانی زل و لری-بختیاری هدف انتخاب‌های مختلف قرار گرفته‌اند، یک کاوش ژنومیک با حدود 54,000 مارکر SNP انجام شد. بررسی تمایز جمعیتی با استفاده از روش F_{ST} ویر و کوکهام نشان داد که چندین منطقه ژنومی دارای شواهدی از انتخاب در این دو نژاد هستند. در این مقاله 5 ناحیه ژنومی که در صدک 99/99 کل ارزش‌های F_{ST} قرار گرفته بودند برای بررسی‌های بیشتر انتخاب شدند. این مناطق بر روی کروموزومهای 2، 5، 7 (دو ناحیه) و X واقع شده‌اند. برای ارزیابی نشانه‌های انتخاب بر پایه روش‌های عدم تعادل لینکاژی از آزمون هموزیگوسیتی هاپلوئیدی بسط‌داده شده استفاده شد. نتایج این آزمون به همراه بررسی دیاگرام‌های شاخه‌بندی هاپلوتیپی در این دو نژاد وجود تفرق جمعیتی شدید در این مناطق ژنومی را تأیید کرد. در نهایت بررسی QTLهای گزارش شده در مناطق اورتولوگوس گاوی نشان داد که این مناطق با QTLهای صفات مهم اقتصادی از جمله صفات مرتبط با لاشه و تولید مثل همپوشانی دارند. این تحقیق که جزء اولین مراحل توسعه نقشه انتخاب در ژنوم گوسفند محسوب می شود می‌تواند منبع اطلاعاتی ارزشمندی در راستای شناسایی ژن‌های متمایز کننده این دو نژاد فراهم آورد.

واژه های کلیدی: *کاوش ژنومیک، تفرق جمعیتی، نشانه‌های انتخاب.*

* نویسنده مسئول: محمدحسین مرادی تلفن: 09183659133 E. Mail: Moradi.hosein@gmail.com

مقدمه

بر اساس تئوری خنثی[1] (Kimura, 1983) اکثر موتاسیون‌های ایجاد شده در سطح ژنوم از دیدگاه انتخابی خنثی بوده و تأثیری بر روی شایستگی ژنتیکی افراد ندارند. در این حالت واریانت‌های جدید یا حذف می‌شوند و یا به زمانی طولانی برای افزایش فراوانی در جمعیت نیاز دارند که در طی این زمان به دلیل وجود نوترکیبی، لینکاژ موجود در اطراف این واریانت‌ها به صورت عمده فرسایش می یابد (Sabeti et al., 2002). حال، چنانچه یک موتاسیون جدید باعث افزایش شایستگی افراد حامل آن نسبت به سایر افراد جامعه گردد، انتخاب طبیعی (یا مصنوعی) باعث می‌شوند افرادی که دارای شایستگی بیشتری هستند در تشکیل نسل بعد مشارکت بیشتری داشته باشند. به این ترتیب فراوانی واریانت جهش یافته[2] بسته به سهم آن در افزایش شایستگی به سرعت شروع به افزایش خواهد کرد (Sabeti et al., 2006; Akey, 2009). به دنبال افزایش فراوانی واریانت های سودمند، فراوانی آلل‌های موجود در جایگاه‌های خنثی یا نسبتاً خنثی، که با این واریانت لینک هستند نیز افزایش خواهد یافت. در نتیجه این پدیده، الگوی تنوع ژنتیکی و عدم تعادل لینکاژی[3] (LD) در جایگاه‌های اطراف این موتانت انتخابی تغییر خواهد کرد. به طوری که، هر چه به این آلل جدید نزدیک می شویم میزان تنوع ژنتیکی کاهش و LD افزایش پیدا می کند. بنابراین، زمانی که یک آلل سودمند در طی زمان های مختلف، هدف انتخاب مثبت قرار می گیرد باعث ایجاد نشانه‌هایی[4] در سطح ژنوم می‌گردد که از طریق بررسی طیف فراوانی آللی و LD قابل شناسایی هستند (Sabeti et al., 2006). استفاده از این روش، که به Hitchhiking Approach معروف است در طی چند سال اخیر به یکی از کارآمدترین تکنیک‌ها در شناسایی مناطق ژنومی مؤثر بر صفات کمی در حوزه های مختلف ژنتیک تبدیل شده است. یکی از مزایای اصلی این روش امکان اجرای آن تنها با استفاده از اطلاعات مولکولی در غیاب رکوردهای فنوتیپی است (Akey, 2009) که این روش را در شناسایی جایگاه‌های ژنومی کاندیدا برای بسیاری از صفات از طریق مقایسه نشانه های انتخاب در جمعیت هایی با صفات متمایز به خصوص تحت شرایط نداشتن شجره مناسب و رکوردهای دقیق برای سایر صفات، که هم اکنون برای اکثر نژادهای موجود در کشور صادق است، مناسب می سازد. شناسایی این مناطق ژنومی، با توجه به این که عمدتاً با ژن‌های عمده اثر و صفات مهم اقتصادی همراه هستند دارای اهمیت زیادی می باشد و می توانند منابع اطلاعاتی مناسبی برای بهبود راندمان برنامه های انتخابی فراهم آورند (Hayes et al., 2008; MacEachern et al., 2009).

[1]- Neutral theory
[2] - Derived Mutant
[3]- Linkage Disequilibrium
[4]- Signatures

تاکنون تحقیقات موفقیت آمیز مختلفی در این زمینه در انسان و برخی از حیوانات اهلی گزارش شده است (Carlson et al., 2005; Gu et al., 2009; Stella et al., 2010). در گذشته مهمترین محدودیت در اجرای این تحقیقات در گوسفند فقدان ابزار مناسب جهت ارزیابی الگوی تنوع ژنتیکی و LD در تمام سطح ژنوم محسوب می شد. تا اینکه در سال 2009 طراحی اولین SNP Chip در گوسفند در قالب پروژه Sheep HapMap گزارش شد (Kijas et al., 2009). هدف از این تحقیق استفاده از آرایه‌های طراحی شده جهت تعیین ژنوتیپ دو نژاد شاخص گوسفند کشور شامل زل و لری-بختیاری و شناسایی مناطقی از ژنوم بود که در این نژادها طی سالیان متمادی به صورت طبیعی یا مصنوعی هدف انتخاب‌های مختلف قرار گرفته‌اند و می‌توانند جزء مناطق ژنومی کاندیدا برای صفات متمایز کننده این نژادها محسوب شوند. نتایج ارائه شده در این مقاله بخشی از نتایج بدست آمده از یک تحقیق گسترده با استفاده از نژادهای ایرانی و پروژه Sheep HapMap است که با همکاری ISGC[1] برای شناسایی جایگاههای ژنومی کاندیدای ذخیره چربی انجام شده است.

مواد و روش ها

نمونه ها از گله‌هایی که در طی سال های اخیر تحت سیستم ثبت شجره و رکوردگیری مرکز اصلاح نژاد کشور قرار گرفته‌اند جمع‌آوری شدند. در انتخاب حیوانات دو فاکتور مورد توجه قرار گرفت. اول انتخاب حیوانات غیرخویشاوند و دوم جمع آوری نمونه ها به طوری که تا حد ممکن تنوع موجود در نژاد را معرفی نمایند. به این منظور در گله های دارای شجره، حیواناتی که داری جد مشترک نبودند و در گله‌های فاقد شجره از هر گله 4-5 حیوان از گروههای سنی مختلف انتخاب شدند. از طرفی سایر صفات فنوتیپی همچون شماره و موقعیت جغرافیایی گله، جنسیت، وضعیت شاخ، رنگ پوست و پشم، وزن، قد، سن تقریبی و ابعاد دنبه نیز رکورد برداری شدند تا تنوعی از صفات در نمونه‌ها جمع آوری شود. نمونه‌گیری در نژاد زل از گله های مختلف مردمی در استان مازندران و در نژاد لری-بختیاری به صورت عمده از ایستگاه شولی و دو گله مردمی انجام شد. در مجموع بیش از 100 نمونه خون از هر نژاد جمع آوری و در نهایت 47 نمونه در هر نژاد تعیین ژنوتیپ شدند.

استخراج DNA با استفاده از روش بهینه استخراج نمکی (Helms, 1990) از خون کامل انجام شد. پس از اطمینان از کمیت و کیفیت بالای نمونه ها، غلظت آنها تا 50ng/µl جهت تعیین ژنوتیپ رقیق شد. سپس مجموع 94 حیوان شامل 47 نمونه به ازای هر نژاد در مرکز ژنومیکس و تولیدمثل Invermay در کشور نیوزیلند با استفاده از آرایه‌های Illumina OvineSNP50K Beadchip با به کارگیری پروتکل استاندارد شرکت ایلومینا

[1]- International Sheep Genomics Consortium

(illumina.comhttp://www.) تعیین ژنوتیپ شدند. این آرایه‌ها امکان تعیین ژنوتیپ همزمان حدود 54000 جایگاه مارکری را فراهم می‌کنند. سپس برای اطمینان از کیفیت داده های حاصل از تعیین ژنوتیپ در آنالیزهای نهایی مراحل مختلف کنترل کیفیت بر روی داده های اولیه اعمال شد. ابتدا حیوانات با بیش از 5% ژنوتیپ از دست رفته (1 حیوان از هر نژاد) و سپس نمونه‌هایی که بر اساس آنالیز PCA[1] خارج از گروه نژادی خود قرار گرفته بودند (1 حیوان از هر نژاد) از آنالیز های بعدی کنار گذاشته شدند. آنالیز PCA در محیط R انجام شد. سپس SNPهایی که در مجموع حیوانات دارای حداقل فراوانی آللی (MAF[2]) و Call rate (درصدی از نمونه ها که برای آن مارکر تعیین ژنوتیپ شده اند) به ترتیب کمتر از 2% و 95% بودند (شامل به ترتیب 2399 و 3943 مارکرSNP) حذف شدند. در نهایت برای SNPهای باقیمانده آنهایی که در هر کدام از نژادهای مورد مطالعه دارای تعادل هاردی-واینبرگ نبودند (مجموع 44SNP) به عنوان معیاری از خطای تعیین ژنوتیپ (Teo et al., 2007) کنار گذاشته شدند. به این منظور سطح احتمال 10^{-6} در نظر گرفته شد که با استفاده از تصحیح بنفرونی بدست آمد.

جهت بررسی الگوی انتخاب مثبت در سطح ژنوم این دو نژاد، F_{ST} در هر جایگاه با استفاده از روش ناریب تتا (Weir&Cockerham, 1984) در محیط R محاسبه گردید. F_{ST} یک روش ارزیابی تفرق جمعیتی بر پایه داده‌های چندشکلی ژنتیکی می باشد. ارزش های حاصل می‌توانند بین 0 (بدون تفاوت) تا 1 (تفاوت کامل، که هر جمعیت برای آلل متفاوتی فیکس شده اند) متغیر باشد. به هر حال با توجه به اینکه این روش یک برآوردگر ناریب است احتمال بدست آوردن ارزش های منفی نیز وجود دارد (Akey et al., 2002). در این تحقیق برای تعیین فازهای هاپلوتیپی در جایگاه‌های ژنومی حامل سیگنال های انتخاب از برنامه PHASE v.2.1 (Stephens et al., 2001) استفاده شد، که بر پایه روش های آماری بیزین استوار است. سپس هاپلوتیپ‌های حاصل به عنوان فایل ورودی در برنامه SWEEP v.1.1 (Sabeti et al., 2002) به کار برده شدند. از این برنامه جهت محاسبه EHH[3] و ترسیم گراف های شاخه‌بندی[4] هاپلوتیپی استفاده شد.

جهت بررسی QTLهای احتمالی گزارش شده در گاو در مناطق ژنومی مورد نظر، ابتدا توالی ژنومی گوسفند در این ناحیه در فاصله‌ای که SNPها در صدک 99/9 بالای ارزش تتا واقع شده بودند با استفاده از Sheep Gbrowser v.1.0 (Dalrymple et al., 2007) به دست آمد. برای تعیین موقعیت ژنومی SNPها در سطح ژنوم از OAR true chromosomes (ver.1.0, as at 5/2008) مرکز CSIRO استرالیا استفاده شد. سپس

[1]- Principal Component Analysis
[2]- Minor Allele Frequency
[3]- Extended Haplotype Homozygosity
[4]- Bifurcation diagram

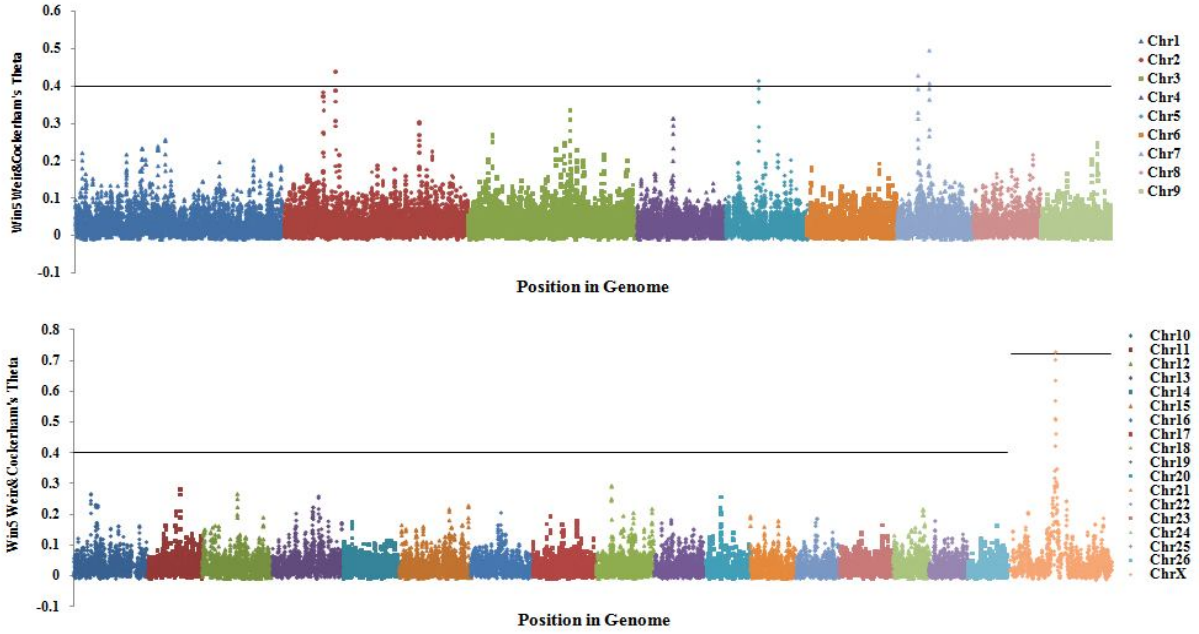
توالی های اورتولوگوس[1] بر روی ژنوم گاو با استفاده از جستجوی BLAT در UCSC Genome Browser (Baylor 4.0/bosTau4 Assembly, Oct. 2007) شناسایی شد. BLAT یک روش سریع برای یافتن توالی هایی با مشابهت 95% یا بیشتر در سطح ژنوم گونه های مختلف می باشد. در مرحله بعد برای بررسی این که آیا مناطق مورد نظر با QTLهای شناسایی شده در مناطق اورتولوگوس گاوهای شیری و گوشتی همپوشانی دارد یا خیر، دو مرکز اطلاعاتی آنلاین QTL شامل http://genomes.sapac.edu.au/bovineqtl/index.html و http://www.animalgenome.org/QTLdb/cattle.html مورد بررسی قرار گرفتند.

نتایج و بحث

پس از اجرای مراحل مختلف کنترل کیفیت داده‌های اولیه مجموع 47166 مارکر SNP جهت اجرای آنالیزهای بعدی انتخاب شدند. توزیع SNPها روی کروموزوم‌های مختلف متفاوت، ولی میانگین فاصله دو SNP مجاور نسبتاً یکسان و حدود 59 kb بود. در نهایت 45 حیوان از هر نژاد (شامل 36 حیوان ماده و 9 حیوان نر) توانستند مراحل مختلف کنترل کیفیت را بگذرانند و در آنالیزهای نهایی استفاده شوند.

نتایج تحقیقات گسترده بر روی گاو در طی چند سال اخیر نشان داده است که اهلی کردن و به دنبال آن شکل گیری نژادها و انتخاب طبیعی یا مصنوعی باعث ایجاد سیگنال‌های انتخاب در مناطق مختلف ژنوم شده است (Barendse et al., 2009; MacEachern et al., 2009; Hayes et al., 2009; Stella et al., 2010; Qanbari et al., 2010) که می‌توان این جایگاه‌ها را از طریق مقایسه تمایز جمعیتی در نژادهای مختلف با استفاده از روش های آماری مناسب شناسایی کرد. در این تحقیق که جزء یکی از اولین مراحل توسعه نقشه انتخاب در سطح ژنوم گوسفند با استفاده از آرایه-های SNP می باشد، برای شناسایی مناطق ژنومی که در دو نژاد ایرانی زل و لری-بختیاری هدف انتخاب‌های مختلف قرار گرفته‌اند از آماره نااریب تتا (Weir&Cockerham, 1984) استفاده شد. این آماره پس از به کارگیری موفقیت‌آمیز در ترسیم اولین نقشه انتخاب در انسان (Akey et al. 2002) به طور گسترده ای در تحقیقات مختلف جهت شناسایی جایگاه‌های کاندیدای ژن‌ها استفاده شده است. پس از محاسبه ضرایب تتا در هر جایگاه مارکری با توجه به این که انتخاب، علاوه بر موتاسیون سودمند مارکرهای مجاور آن را هم تحت تأثیر قرار می دهد و از طرف دیگر برای نمایش بهتر سیگنال های انتخاب در سطح ژنوم به جای در نظر گرفتن ارزش هر SNP میانگین ارزش تتا مربوط به پنج SNP مجاور محاسبه و تحت عنوان ارزش Win5 هر مارکر در نظر گرفته شد و توزیع آن در سطح ژنوم مورد بررسی قرار گرفت (شکل 1).

[1]- Orthologous



شکل 1- توزیع ارزش‌های Win5 تتا در سطح ژنوم نژاد زل در مقایسه با نژاد لری-بختیاری: موقعیت ژنومی SNPها بر روی محور X و ارزش تتا آنها بر روی محور Y نمایش داده شده است. خط ترسیم شده نشان‌دهنده 99/99 صدک کروموزوم‌های اوتوزوم و X است.

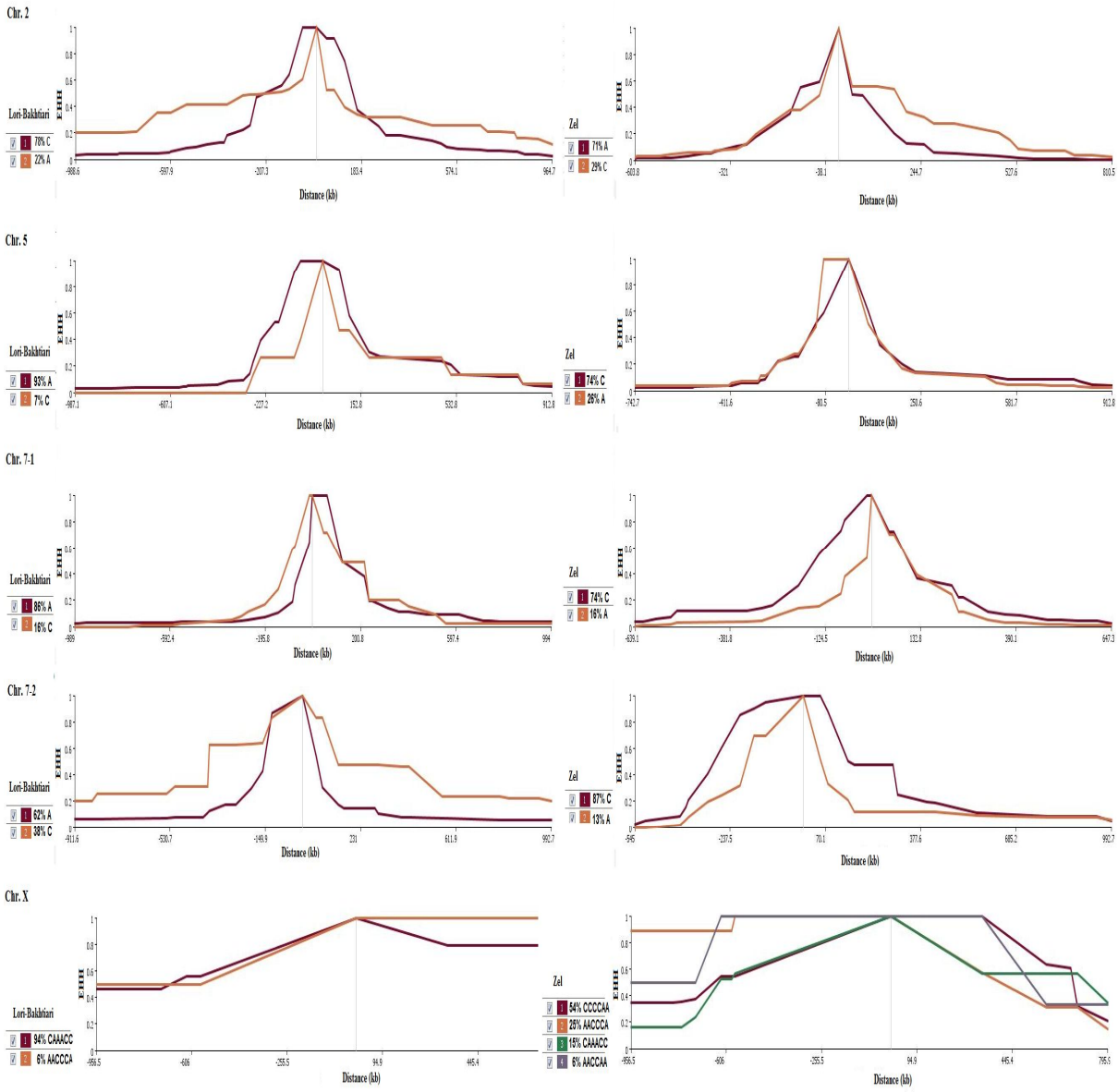
Figure 1- Distribution of windowed theta values for Zel versus Lori-Bakhtiari breeds by chromosome: SNP position in the genome is shown on the X-axis, and win5 theta values are plotted on the Y-axis. The values above the line are in the 99.99 percentile of autosomal and chromosome X SNPs.

ارزش‌های تتا در کروموزوم‌های اوتوزوم و X به ترتیب با میانگین 0/034 و 0/047 به طور معنی داری با هم متفاوت بودند ($P<10^{-8}$). این تفاوت به دلیل هموزیگوت بودن SNPهای حیوانات نر در این کروموزوم و در نتیجه کوچکتر بودن اندازه مؤثر جمعیت در آن است. به همین خاطر کروموزوم‌های اوتوزوم و X به صورت جداگانه مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج این تحقیق نشان داد در چندین منطقه ژنومی SNPهای مجاور دارای تفرق جمعیتی بالایی بودند به خصوص در 5 منطقه ژنومی شامل کروموزوم‌های 2 (موقعیت 73,744,625 بازی)، 5 (موقعیت 47,263,230 بازی)، 7 (موقعیت 30,525,058 بازی)، 7 (موقعیت 46,818,598 -46,765,080 بازی) و X (موقعیت 59,571,364 بازی) ارزش های تتا در 99/99 صدک بالای کل جایگاه‌های مورد مطالعه واقع شده و بسیار معنی دار بودند. ارزش 0/399 و 0/725 به ترتیب در کروموزوم‌های اوتوزوم و X در صدک

99/99 قرار داشتند. هر چند سایر مناطق با سطح معنی‌داری پایین‌تر نیز می توانند به عنوان مناطق کاندیدای انتخاب مطرح شوند ولی در این مقاله این مناطق که بیشترین تمایز جمعیتی را در بین این دو نژاد نشان می دهند مورد بررسی بیشتر قرار گرفتند.

بر اساس تئوری Hitchhiking، انتخاب در جهت افزایش فراوانی موتاسیون‌های سودمند در نژادهای مختلف باعث می شود در برخی از مناطق ژنوم یک آلل نه تنها دارای فراوانی بالا باشد بلکه دارای LD در یک دامنه طولانی هم باشد در حالی که، همان طور که قبلاً بیان شد بر اساس تئوری خنثی انتظار می رود که نوترکیبی در طی مدت افزایش فراوانی آلل جدید باعث شکستن LD در مناطق مجاور شود (Sabeti et al., 2006). تحقیقی در این زمینه در انسان بر روی ژن *LCT*[1] نشان داد که یک هاپلوتیپ به طول حدود 1 Mb در بیش از 77% جمعیت های اروپایی وجود دارد، در حالی که فراوانی این هاپلوتیپ در جمعیت های آسیایی 0% می باشد (Bersaglier et al., 2004). این ژن در هضم لاکتوز شیر نقش دارد که در بیشتر جمعیت های انسانی فعالیت آن فقط تا دوران بلوغ ادامه دارد ولی در جمعیت های اروپایی فعالیت آن پس از سن بلوغ هم ادامه می یابد. در این تحقیق جهت بررسی LD در مناطق ژنومی مورد نظر از آماره EHH استفاده شد (شکل 2). این آماره ابزار قدرتمندی است که فرسایش LD در اطراف منطقه ژنومی کاندیدای انتخاب را با ارزیابی خصوصیات هاپلوئیدی در داخل یک جمعیت مورد بررسی قرار می دهد (Sabeti et al., 2002). جایگاه‌هایی که دارای فراوانی بالا و همچنین EHH بالایی در مجاور آلل انتخابی باشند هدف انتخاب‌های مثبت بوده و به خصوص در دام‌ها، که علاوه بر انتخاب طبیعی تحت انتخاب مصنوعی نیز قرار دارند می توانند جزء جایگاه‌های کاندیدا برای ژن‌های عمده-اثر باشند (Hayes et al., 2008). نتایج نشان داد که در نژاد لری بختیاری در جایگاه‌های ژنومی کروموزوم 2 و 5 آلل‌های C نه تنها دارای فراوانی آللی بالایی (به ترتیب 78% و 93%) هستند، بلکه LD اطراف آنها نسبت به آلل‌های متناظر خود که دارای فراوانی پایینی می باشند نیز بیشتر است که به نظر می رسد این مناطق ژنومی در این نژاد به شدت تحت تأثیر انتخاب مثبت بوده است. درحالی که، در جایگاه‌های کروموزومی مورد نظر در کروموزوم 7 پدیده مشابهی در جهت افزایش فراوانی آلل مطلوب در نژاد زل اتفاق افتاده است.

[1]- Lactose gene



شکل 2- فراوانی آللی SNPهای نشان دهنده سیگنال انتخاب و توزیع EHH در اطراف آلل‌های انتخابی در نژاد های لری-بختیاری (چپ) و زل (راست). در شکل های بالا، نمودار آللی که فراوانی بیشتری دارد با رنگ تیره‌تر نمایش داده شده است.

Figure 2: Allelic frequencies of SNPs showing signature of selection and the EHH at varying distances from the core selected alleles in Lori-Bakhtiari (Left) versus Zel (right). The curve of alleles with higher frequency has been showed in a darker color.

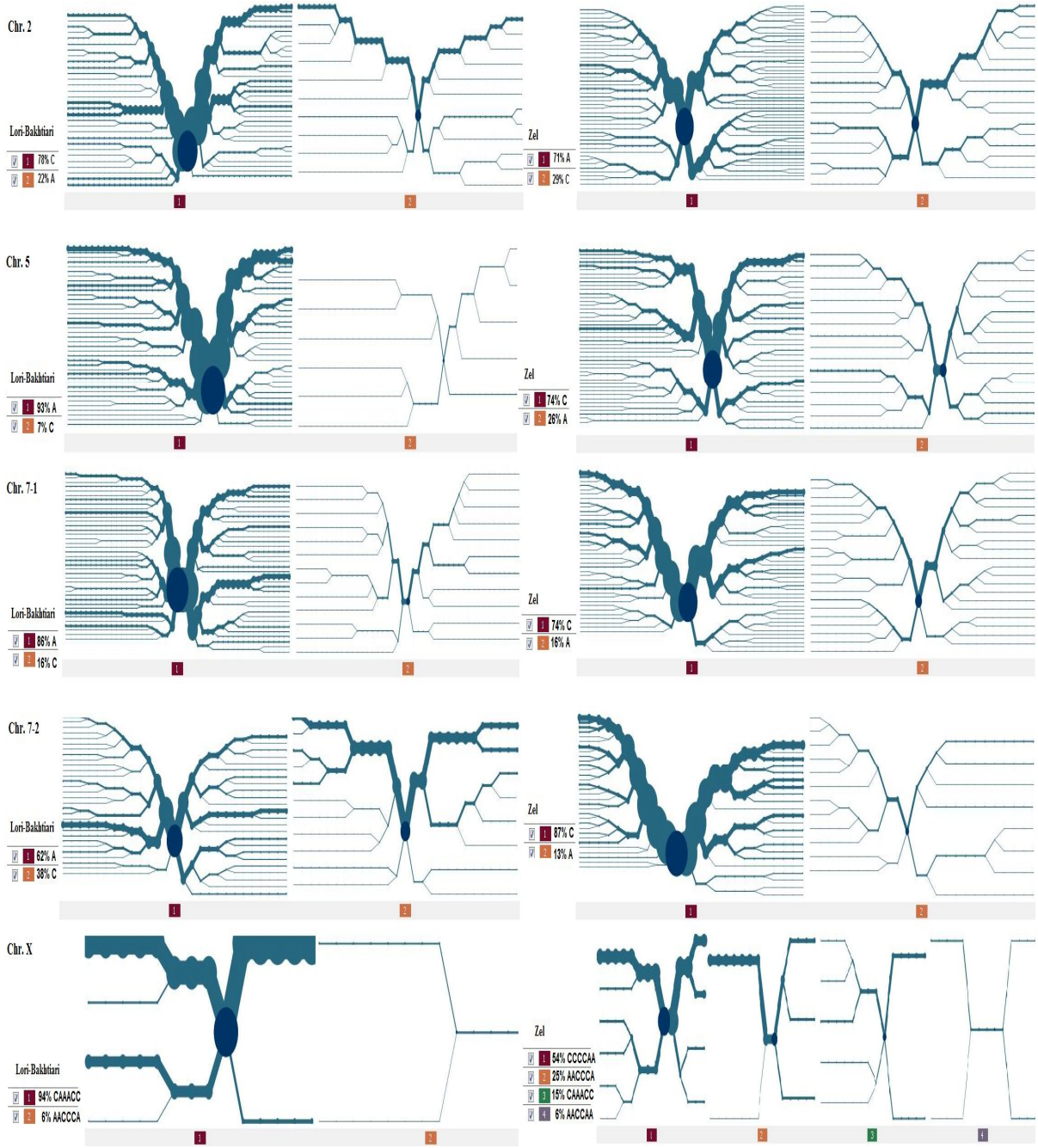
در کروموزوم X بررسی‌ها نشان داد که آلل-های مجاور در یک فاصله طولانی در نژاد لری بختیاری فیکس شده بودند به همین خاطر آلل‌هایی که در 99/9 صدک بالایی بودند به عنوان هسته مرکزی در آنالیز EHH در نظر گرفته شدند که نتایج نشان دادند که آلل CAAACC در این موقعیت ژنومی نه تنها دارای فراوانی 94% بوده بلکه LD آن با جایگاه‌های اطراف نیز بالا می باشد در حالی که همین آلل در نژاد زل دارای فراوانی 15% و LD پایینی می باشد که بیانگر انتخاب در این موقعیت ژنومی در نژاد لری بختیاری می باشد. از طرفی در جایگاه‌های موردنظر آلل‌های متناظر آنچه بحث شد در نژاد دیگر دارای فراوانی بالا بوده و EHH نسبتاً مشابه آلل‌های با فراوانی پایین دارند که این مشاهده نمایانگر تفرق ژنتیکی در این مناطق کروموزومی در این دو نژاد است. برای بررسی بیشتر این فرضیه گراف های شاخه‌بندی هاپلوتیپی در این جایگاه‌ها در دو نژاد ترسیم گردید. شکل 3 شکستن LD با افزایش فاصله از آلل‌های انتخابی به عنوان هسته مرکزی را نشان می‌دهد. قطر هر شاخه بیانگر تعداد نمونه‌هایی است که دارای هاپلوتیپ‌های مشابهی هستند. نتایج حاصل به خوبی تفرق جمعیتی در این مناطق ژنومی در نژادهای ایرانی را نشان می‌دهد و بیانگر این است که انتخاب در این مناطق ژنومی منجر به تمایز این دو نژاد در صفات منحصر به فرد آنها شده است.

در این تحقیق یرای بررسی QTLهای احتمالی شناسایی شده در مناطق ژنومی مورد نظر در گوسفند، این مناطق با مناطق ژنومی متناظر خود در روی ژنوم گاو مقایسه شدند، زیرا تحقیقات انجام شده در گاو در طی سالیان اخیر بسیار جامع‌تر از گوسفند بوده است. بررسی QTLهای گزارش شده در مناطق اورتولوگوس در گاوهای شیری و گوشتی نشان داد که تقریباً تمامی جایگاه‌های مدنظر با QTL های گزارش شده برای صفات مهم اقتصادی از جمله صفات مرتبط با چربی و لاشه و صفات عملکردی همپوشانی دارند (جدول 1). عدم مشاهده QTL در جایگاه ژنومی کروموزوم X عمدتاً به این دلیل است که در مکان‌یابی QTL در تحقیقات مختلف، کروموزوم‌های جنسی کمتر مورد بررسی قرار گرفته شده‌اند. با توجه به این که یکی از اصلی‌ترین تفاوت‌های این دو نژاد ذخیره چربی در دنبه است، انتظار می رود که تعدادی از سیگنال-های مشاهده شده در این تحقیق مربوط به این صفت باشند. یک راه برای شناسایی این مناطق ژنومی طراحی آزمایشات مستقل با استفاده از تعداد زیادی نژاد دیگر است. گروه‌بندی نژادهای خارجی به صورت دنبه‌دار و بدون دنبه و بررسی سیگنال-های انتخاب مشترک که با استفاده از نژادهای موجود در پروژه Sheep HapMap امکانپذیر است، می تواند یک راه‌حل امیدوار کننده برای شناسایی این ژن‌ها فراهم کند. در نهایت این تحقیق، که جزء

اولین کاوش‌های ژنومیک در سطح ژنوم گوسفند محسوب می‌شود می تواند منبع اطلاعاتی با ارزشی در جهت شناسایی مناطق ژنومی کاندیدا برای بسیاری از صفات مهم اقتصادی، از جمله ذخیره چربی در دنبه که یکی از مسائل چالش برانگیز در بسیاری از کشورهای پرورش دهنده این نژادها محسوب می شود فراهم آورد.

سپاسگذاری

نویسندگان مقاله از همکاری صمیمانه مرکز اصلاح نژاد کشور، به دلیل در اختیار گذاشتن حیوانات تحت پوشش و رکوردهای جمع‌آوری شده و مرکز AgResearch نیوزلند، به خاطر کمک های ارزنده‌شان جهت ژنوتایپ و آنالیز داده‌ها کمال تشکر را دارند. این تحقیق با حمایت های مالی مرکز اصلاح نژاد و مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور، قطب علمی بهبود لاشه دانشگاه تهران، موسسه مبارک اندیش و مرکز تحقیقاتی AgResearch نیوزلند انجام شد که بدینوسیله از این مراکز صمیمانه قدردانی می شود.



شکل 3- فراوانی آللی SNPهای نشان دهنده سیگنال انتخاب و گراف‌های شاخه‌بندی هاپلوتیپی در اطراف آنها در نژاد های لری-بختیاری (چپ) و زل (راست).

Figure 3: Allelic frequencies of SNPs showing signature of selection and their haplotype bifurcation diagrams at varying distances from the core selected alleles in Lori-Bakhtiari (Left) versus Zel (right).

جدول 1- QTLهای گزارش شده در ناحیه اورتولوکوس گاوی در مناطق ژنومی نشان دهنده تفرق جمعیتی بین نژادهای زل و لری-بختیاری.

Table 1: Bovine published QTLs in regions showing evidence of selection in Zel vs Lori-Bakhtiari data set.

QTLهای شناسایی شده Reported QTLs		موقعیت ژنومی در گاو Location on Bovine genome	موقعیت ژنومی در گوسفند Location on Ovine genome
Body length (birth)	طول بدن (تولد)	Chr8:45,226,663-45,415,081	OAR2:73,628,609-73,861,345
Body weight (birth)	وزن بدن (تولد)		
Carcass weight	وزن لاشه		
Fat Depth	ضخامت چربی		
Milking speed	سرعت شیردهی		
Body weight (mature)	وزن بدن (بلوغ)		
Fat Depth	عمق چربی		
Fat thickness	ضخامت چربی	Chr7:44,936,435-45,113,988	OAR5:47,146,900-47,332,222
Ovulation Rate	نرخ تخمک اندازی		
Body weight (birth)	وزن بدن (تولد)	Chr10:29,363,930-29,441,529	OAR7:30,510,065-30,587,784
Calving ease	آسان زایی (مادری)		
Carcass weight	وزن لاشه		
Milk fat yield	چربی شیر		
Hot Carcass Weight	وزن لاشه گرم		
Body depth	عمق بدن	Chr10:45,312,778-45,581,699	OAR7:46,639,859-46,910,155
Calving ease	آسان زایی (مادری)		
Milk fat yield	چربی شیر		
Hot Carcass Weight	وزن لاشه گرم		
Nonreturn rate of 90 d	نرخ عدم بازگشت در 90 روزگی		
		ChrX:51,751,347-52,712,765	OARX:59,192,476-60,151,772

منابع

Akey JM, Zhang G, Zhang K, Jin L, Shriver MD (2002). Interrogating a high density SNP map for signatures of natural selection. Genome Research 12:1805-14.

Akey JM (2009). Constructing genomic maps of positive selection in humans: Where do we go from here. Genome Research 19:711-722.

Barendse W, Harrison BE, Bunch RJ, Thomas MB, Turner LB (2009). Genome wide signatures of positive selection: The comparison of independent samples and the identification of regions associated to traits. BMC Genomics 10:178.

Bersaglieri T, Sabeti PC, Patterson N, Vanderploeg T, Schaffner SF, Drake JA, Rhodes M, Reich DE, Hirschhorn JN (2004). Genetic signatures of strong recent positive selection at the Lactase gene. American Journal of Human Genetics 74:1111–1120.

Carlson CS, Thomas DJ, Eberle MA, Swanson JE, Livingston RJ, Rieder MJ Nickerson1 DA (2005). Genomic regions exhibiting positive selection identified from dense genotype data. Genome Research 15:1553–1565

Dalrymple BP, Kirkness EF, Nefedov M, McWilliam S, Ratnakumar A, Barris W, Zhao S, Shetty J, Maddox JF, O'Grady M, et al. (2007). Using comparative genomics to reorder the human genome sequence into a virtual sheep genome. Genome Biology 8:R152.

Gu J, Orr N, Park SD, Katz LM, Sulimova G, MacHugh DE, Hill EW (2009). A genome scan for positive selection in thoroughbred horses. PLoS ONE 4:e5767.

Hayes BJ, Chamberlain AJ, Maceachern S, Savin K, McPartlan H, MacLeod I, Sethuraman L, Goddard ME (2009). A genome map of divergent artificial selection between Bos taurus dairy cattle and Bos taurus beef cattle. Animal Genetics 40:176-184.

Hayes BJ, Chamberlain AJ, Maceachern S, Savin K, McPartlan H, MacLeod I, Sethuraman L, Goddard ME (2009). A genome map of divergent artificial selection between Bos taurus dairy cattle and Bos taurus beef cattle. Animal Genetics 40:176-184.

Hayes BJ, Lien S, Nilsen H, Olsen HG, Berg P, MacEachern S, Potter S, Meuwissen THE (2008). The origin of selection signatures on bovine chromosome six. Animal Genetics 39:105-111.

Helms C (1990). Salting out Procedure for Human DNA extraction. Retrieved April 20, 2010, from http://humgen.wustl.edu/hdk_lab_manual/dna/dna2.html

Kijas JW, Townley D, Dalrymple BP, Heaton MP, Maddox JF, McGrath A, Wilson P, Ingersoll RG, McCulloch R, McWilliam S, Tang D, McEwan J, et al. (2009). A genome wide survey of SNP variation reveals the genetic structure of sheep breeds. PLoS ONE 4:e4668.

Kimura M (1983). The neutral theory of molecular evolution. Cambridge University Press, New York.

MacEachern S, Hayes B, McEwan J, Goddard M (2009). An examination of positive selection and changing effective population size in Angus and Holstein cattle populations (Bos taurus) using a high density SNP genotyping platform and the contribution of ancient polymorphism to genomic diversity in Domestic cattle. BMC Genomics 10:181.

Qanbari S, Gianola D, Hayes B, Schenkel F, Miller S, Moore S, Thaller G, Simianer H (2011). Application of site and haplotype-frequency based approaches for detecting selection signatures in cattle. BMC Genomics 12:318.

Sabeti PC, Schaffner SF, Fry B, Lohmueller J, Varilly P, Shamovsky O, Palma A, Mikkelsen TS, Altshuler D, Lande ES (2006). Positive natural selection in the human lineage. Science 3129:1614-1620.

Sabeti, PC, Reich DE, Higgins JM, Levine HZP, Richter DJ, Schaffner SF, Gabriel SB, Platko JV, Patterson NJ, McDonald GJ, et al. (2002). Detecting recent positive selection in the human genome from Haplotype structure. Nature 419:832-837.

Stella A, Ajmone-Marsan P, Lazzari B, Boettcher P (2010). Identification of selection signatures in cattle breeds selected for dairy production. Genetics 185:1451-1461.

Stephens JC, Reich DE, Goldstein DB, Shin HD, Smith MW, Carrington M, Winkler C, Huttley GA, Allikmets R, Schriml L, et al. (1998). Dating the origin of the CCR5-D32 AIDS-resistance allele by the coalescence of haplotypes. American Journal of Human Genetetics 62:1507-1515.

Teo YY, Fry AE, Clark TG, Tai ES, Seielstad M (2007). On the usage of HWE for identifying genotyping errors. Annals of Human Genetics 71:701-703.

Weir BS, Cockerham CC (1984). Estimating F-statistics for the analysis of population structure. Evolution 38:1358-1370.

Whole-genome scan of population differentiation in Zel and Lori-Bakhtiari sheep breeds

Moradi M.H.[*1], Nejati-Javaremi A.[2], Moradi-Shahrbabak M.[3], Dodds K.G.[4], McEwan J.C.[4]

[1]Ph.D. student, Department of Animal Science, University of Tehran, Karaj, Iran.
[2]Associate Professor, Department of Animal Science, University of Tehran, Karaj, Iran.
[3]Professor, Department of Animal Science, University of Tehran, Karaj, Iran.
[4]Senior scientists, Centre for Reproduction and Genomics, AgResearch, Invermay, New Zealand.

Abstract

Selection for increasing of frequency in new mutations that are advantageous only in a subset of populations leaves some signatures in the genome. Detecting these genomic regions is one of the most important areas of research in animal genetics since locations of selection signatures are often correlated with QTLs affecting economically important traits. In this paper, a whole genome scan using ~54000 SNP markers was performed in two main Iranian sheep breeds, namely Zel and Lori-Baktiari, with the aim of identifying divergently selected regions of the genome. Study of population differentiation across the genome using Weir and Cockerham's F_{ST} test revealed some regions showing evidence of selection. In this paper, five regions which were in the 99.99 percentile of the genome distribution of F_{ST} scores were selected for further analysis. These regions were located in chromosomes 2, 5, 7 (two areas) and X. To evaluate the selection sweep, due to linkage disequilibrium, associated with these signatures we employed the Extended Haplotype Homozygosity (EHH) test. The results of this test as well as a study of haplotype bifurcation diagrams in these breeds also confirmed large allele differentiation in these regions. Finally, study of reported QTL regions in the orthologous areas of the cattle genome showed that they overlapped with the reported cattle QTLs, representing economically important traits such as carcass yield and reproductive traits. In conclusion, the results from this study provide one of the first attempts to develop a genome-wide map of selection footprints in the sheep genome and may facilitate the identification of genes affecting traits which are divergent in these two Iranian sheep breeds.

Key words: *Whole-genome scan, Population differentiation, Signatures of selection*.

[*] Corresponding Author: Moradi M.H. Tel: 09183659133 Email: Moradi.hosein@gmail.com