

پوش ژنومی نشانه‌های انتخاب و ژن‌های کلیدی مرتبط با اختلال

ژنتیکی ناشنوایی در سه نژاد سگ مبتنی بر داده‌های ریز آرایه

Genomic scanning of selection signatures and key genes associated with the genetic deafness disorder in three dog breeds based on microarray data

فرنز غفاری^۱، الهه رستم‌زاده مهدابی^۱، مسعود اسدی فوزی^۲، علی اسمعیلی‌زاده^{۲*}

۱- به‌ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، دانش‌آموخته دکتری، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه

شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

۲- به‌ترتیب استاد، استاد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

Ghaffari F¹, Rostamzadeh Mahdabi E¹, Asadi Fozi M², Esmailizadeh A^{*2}

1- Graduated MSc Student, Graduated PhD Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

2- Professor, Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: aliesmaili@uk.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۵/۰۶ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۶/۲۹)

چکیده

عملکرد شنوایی برای سگ‌سانان به جهت ابزاری مهم ارتباطی حیوان با محیط اهمیت زیادی دارد و شناسایی ژنومیکس صفت شنوایی و اختلال ناشنوایی از افق‌های تحقیقاتی مهم در این زمینه می‌باشد. با این انگیزه تحقیقاتی، هدف پژوهش حاضر، شناسایی نواحی تحت انتخاب مربوط به ناشنوایی در اطلاعات موجود ژنوم سه نژاد سگ (استرلین کتل داگ، دالماتین و انگلیش ستر) می‌باشد. بدین‌منظور، از داده‌های ژنوتیپی حاصل از تراشه‌های ۲۲۰ هزارتایی نشانگرهای تک نوکلئوتیدی مربوط به مجموع ۵۰۳ سگ از این سه نژاد استفاده شد. جهت تجزیه و تحلیل داده‌های بیوانفورماتیکی، کنترل کیفیت و پیش پردازش داده‌های خام توسط نرم‌افزار plink انجام شد. برای فیلترینگ داده‌های ژنومی از معیارهای فراوانی نمونه‌های تعیین ژنوتیپ شده، نرخ تعیین ژنوتیپ نشانگرها در هر نمونه، تعادل هاردی-واینبرگ و فراوانی آلل نادر (MAF) استفاده شد، و در نهایت تعداد نشانگرهای باقی‌مانده بعد از انجام مراحل مختلف کنترل کیفیت، به مجموع ۶۲۰۲۶ نشانگر رسید. همچنین، جهت شناسایی نشانه‌های انتخاب از روش‌های مبتنی بر تمایز فراوانی آللی (F_{st}) و نواحی هموزیگوسیتی پیوسته (ROH) استفاده شد. در نهایت، ژن‌های واقع در نواحی تحت انتخاب با استفاده از وب سایت‌های بیوانفورماتیکی شناسایی شدند. به‌طور خلاصه نتایج نشان داد که ژن‌های مختلفی از جمله *CDH23*، *MITF*، *PAX3*، *KIT*، *SOX10*، *MYO15A*، *CD164* واقع بر کروموزوم‌های مختلفی در بروز اختلال ناشنوایی این سه نژاد سگ نقش دارند. نتایج این مطالعه در زمینه نشانه‌های انتخاب مرتبط با ناشنوایی می‌تواند منبع اطلاعات ارزشمندی در راستای شناسایی ژن‌های مرتبط با ناشنوایی در این سه نژاد فراهم کند.

واژه‌های کلیدی

سگ‌های استرلین کتل داگ

دالماتین

انگلیش ستر

مناطق ژنگانی

ناشنوایی

نشانه انتخاب

مقدمه

از لحاظ وقایع شناسی تاریخی، سگ (*Canis familiaris*) نخستین حیوانی است که به‌دست انسان اهلی شد. سگ‌ها از گوناگون‌ترین جانوران زمین هستند که میراث چند هزار سال مداخله‌ی انسان در روند تلاقی‌گری و پرورش این گونه محسوب می‌شوند. مطالعات ژنتیکی نشان داده‌اند که سگ دارای جد مشترک با گرگ خاکستری (*Canis lupus*) است (Vila et al. 1997). سگ‌ها نقش‌های گوناگونی در جوامع انسانی بر عهده گرفته‌اند و انسان‌ها از آن‌ها برای شکار، گله‌داری، حمل بار مخصوصاً در مناطق قطبی و سردسیر، محافظت، کمک به پلیس و نیروهای مسلح، همراهی و مصاحبت و کمک به اشخاص دچار ناتوانی جسمی استفاده کرده‌اند (Vila et al. 1997). به‌طور کلی، هرکدام از نژادهای سگ می‌توانند فوایدی برای صاحبان خود داشته باشند، سگ‌های نژاد استرلین کتل داگ^۱ در نقش کمکی به دامداران استفاده می‌شدند. آن‌ها در شرایط آب و هوایی سخت مقاوم هستند (Ruvinsky et al. 2001). سگ‌های دالماتین^۲ آشکارچی خوبی هستند به‌طوری که می‌توان آن‌ها را به‌عنوان سگ نگهبان تربیت کرد (Holliday et al. 1997). نژاد انگلیش ستر^۳ سگی مهربان، خونگرم و نجیب است که به‌عنوان سگ‌های ورزشی شناخته می‌شوند (Bamberger et al. 1991).

عملکرد شنوایی برای حیوانات و به خصوص سگ مهم است، زیرا، یکی از راه‌های ارتباطی حیوان با محیط است. کاهش قابلیت یا از دست دادن این عملکرد می‌تواند تأثیر خفیف یا شدیدی روی سلامت حیوان داشته باشد. حیوانات ناشنوا می‌توانند زنده بمانند، اما، ناشنوایی یا کم شنوایی باعث کاهش عملکرد سگ‌های کارگر می‌شود، مانع برقراری ارتباط حیوان با افراد می‌شود و همچنین، می‌تواند سلامت حیوان را در برابر وسایل نقلیه و حیوانات شکارچی به‌خطر بیندازد (Strain 2011). ناشنوایی، می‌تواند ارثی باشد یا در طول زندگی به دلایل مختلف ایجاد شود. ناشنوایی ارثی در سگ‌ها معمولاً به‌صورت مادرزادی و همراه با رنگدانه‌های سفید رخ می‌دهد. این نوع ناشنوایی به‌عنوان ناشنوایی مرتبط با

رنگ سفید (deafness associated with white coat) شناخته می‌شود. سگ‌هایی که دارای رنگدانه‌های سفید در پوست و موهای خود هستند، به‌دلیل وجود تغییرات ژنتیکی در سیستم‌های شنوایی خود ممکن است به ناشنوایی مبتلا شوند. این نوع ناشنوایی، می‌تواند به‌طور متفاوتی در سگ‌ها ظاهر شود، از جمله ناشنوایی کامل (هر دو اندام گوش) یا کم شنوایی (درگیری یک اندام گوش) (Strain 2015; Strain 2012). ناشنوایی ارثی مرتبط با رنگدانه در بسیاری از گونه‌های دیگر مشاهده می‌شود که بیشتر در گربه‌های سفید چشم آبی تشخیص داده می‌شود (Strain 2015; Strain 1997).

از لحاظ علم ژنتیک و تکامل، وقتی انتخاب بصورت مداوم (تحت فشار نیروهای طبیعی یا مصنوعی) به نفع یک صفت (های) خاص در جمعیت صورت می‌گیرد، در پاسخ به چنین فشارهای شدید انتخابی، ژنوم متحمل تغییراتی در جایگاه (های) ژنی کنترل‌کننده این صفت (ها) می‌شود و الگوهای خاصی شکل می‌گیرد که تحت عنوان "نشانه‌های انتخاب" شناخته می‌شود (Qanbari et al. 2014). به دنبال پیشرفت‌های قابل توجه در فناوری‌های اسکن ژنوم از مانند آرایه‌های SNP با چگالی بالا و توالی‌یابی کل ژنوم روش‌های آماری با توانایی‌های متفاوت برای شناسایی این ردپاهای انتخاب توسعه یافته‌اند (Shendure et al. 2008; Wong 2013). یکی از این روش‌ها بررسی جزایر ROH در کل ژنوم می‌باشد. هدف این شناسایی نواحی ژنومی است که در آن تنوع محلی نسبت به میانگین کل ژنوم (به‌عنوان مثال، تنوع نوکلئوتیدی یا هتروزیگوسیتی) کاهش یافته است. این ایده در آماره‌ای تحت عنوان "توالی‌های هموزیگوسیتی" (ROH^4) به کارگرفته شده است. توالی‌های نوکلئوتیدی هموزیگوس نواحی متوالی از ژنوم هستند که در آن همه جایگاه‌ها به‌صورت هموزیگوس می‌باشند. یک ناحیه ROH هنگامی بوجود می‌آید که در آن دو هاپلوتیپ، از والدینی که از نظر اجدادی یکسان هستند در یک فرد به ارث برسد. نواحی ROH به‌صورت یکنواخت در ژنوم توزیع نمی‌شوند (Stella et al. 2010)، آن‌ها در بعضی از نواحی ژنوم بیشتر دیده می‌شوند که جزایر ROH یا نقاط

¹ Australian Cattle Dog² Dalmatian³ English Setter⁴ Run of homozygosity

مواد و روش‌ها

در تحقیق حاضر، داده‌های ژنوتیپی مرتبط به سه نژاد سگ، استرلین کتل داگ (۱۲۰)، انگلیش ستر (۷۹)، دالماتین (۳۰۴) از پایگاه اینترنتی سایت بیوانفورماتیکی داندلود شدند

(<https://datadryad.org/stash/dataset/doi:10.5061/dryad.sf7msemi-custom-220k>). نمونه‌های DNA با استفاده از 0cg2n CanineHD array (ایلوینا) تعیین ژنوتیپ شده بودند. همچنین، کنترل کیفیت و پیش پردازش اولیه داده‌های خام با استفاده از نرم‌افزار Plink انجام شد (Purcell 2007). برای فیلتر داده‌های ژنومی از معیارهای ۰/۰۵ mind (میزان ژنوتیپ‌های گمشده به ازای هرفرد)، ۰/۰۵ geno (میزان تعیین ژنوتیپ در هر جایگاه)، ۰/۰۱ MAF (فراوانی آلل نادر) و ۰/۰۰۱ HWE (انحراف از تعادل هاردی وینبرگ) استفاده شد. علاوه بر این SNP‌های واقع بر کروموزوم‌های جنسی و جایگاه‌های با موقعیت کروموزومی نامشخص از مجموعه داده‌ها کنار گذاشته شدند. بعد از اعمال معیارهای کنترل کیفیت، ۸ فرد به دلیل نرخ ژنوتیپ گمشده بالاتر از ۵ درصد حذف شدند.

یکی از روش‌های مورد استفاده برای شناسایی نشانه‌های انتخاب درون جمعیتی روش ROH (توالی‌های نوکلئوتیدی متوالی هموزیگوسیتی) می‌باشد. از نرم‌افزار PLINK و پارامتر-homozyg-group برای دستیابی به نواحی ROH همپوشان (مخازن^۲) در ژنوم استفاده شد. نواحی ROH اجماع^۳ که حداقل در ۴۰ درصد افراد هر نژاد همپوشانی داشتند و در ناحیه یکسانی از ژنوم ظاهر شدند، به عنوان نواحی کاندید انتخاب در نظر گرفته شدند.

برای بررسی نشانه‌های انتخاب بین جمعیت‌های شنوا با ناشنوا و کم شنوا از آماره مرتبط با پدیده همخوانی F_{st} استفاده شد که مبتنی بر تمایز ژنومی است (Barreiro et al. 2008). مقادیر عددی F_{st} میزان تمایز بین جمعیت‌ها را در هر جایگاه خاص در محدوده‌ی بین صفر (بدون تمایز) تا یک (تفاوت تثبیت شده بین جمعیت‌ها) نشان می‌دهد. به طوری که، مقادیر نزدیک به صفر نشان‌دهنده تمایز ژنتیکی پایین و در مقادیر F_{st} برابر با صفر، تمایز ژنتیکی وجود ندارد و بسیاری از جایگاه‌ها به طور مشترک در دو جمعیت

داغ^۱ ROH نامیده می‌شوند. این جزایر، می‌توانند نشانه‌ای از کشیده شدن تحت الگوی نظامند مرتبط با نشانه‌های انتخابی و نواحی از ژنوم باشند که تحت انتخاب بوده‌اند. توزیع، فراوانی و طول ROH معمولاً، با عوامل مختلفی از جمله اصلاح نژاد انتخابی، انتخاب طبیعی یا مصنوعی، میزان نوترکیبی و تاریخچه جمعیتی مرتبط است (Bosse et al. 2012). آماره دیگری که نشانه‌های انتخاب بین جمعیت‌ها را جستجو می‌کند شاخص مرتبط با همخوانی F_{st} نام دارد. اگر انتخاب طبیعی یا مصنوعی به نفع یک آلل نسبت به سایر آلل‌ها در یک جایگاه خاص در برخی جمعیت‌ها عمل کند، شاخص F_{st} در آن جایگاه بزرگتر از جایگاه‌هایی خواهد بود که در آن تفاوت‌های میان جمعیت‌ها صرفاً، نتیجه نیروی رانش ژنتیکی است. هنگامی که، انتخاب و اگر بر روی یک یا چند جایگاه ژنتیکی اعمال می‌شود عمل می‌شود، نشانگرهایی که در ژن‌ها یا در موقعیت‌های نزدیک قرار دارند، مقادیر F_{st} بالایی را نشان می‌دهند. این جایگاه‌ها را ممکن است به عنوان نشانه‌های نواحی ژنومی که تحت تأثیر انتخاب قرار گرفته‌اند در نظر گرفت (Gianola et al. 2010). همچنین، شاخص F_{st} ارتباط مستقیمی با واریانس فراوانی آللی بین جمعیت‌ها و رابطه معکوس با میزان شباهت میان افراد درون جمعیت‌ها دارد. اگر مقادیر عددی معیار F_{st} کوچک باشد، در واقع، بدین معنی است که فراوانی آللی بین جمعیت‌ها مشابه هستند و اگر مقادیر عددی F_{st} بزرگ باشد بدین معنی است که فراوانی‌های آللی بین جمعیت‌ها متفاوت هستند (Akey et al. 2002).

با این انگیزه تحقیقاتی و بیان مسئله، مطالعه حاضر به منظور شناسایی نشانه‌های انتخاب مرتبط با ناشنوایی در سه نژاد سگ استرلین کتل داگ، دالماتین و انگلیش ستر از داده‌های ژنوتیپی توالی‌یابی شده و دو روش آماری درون جمعیتی (ROH) و شاخص بین جمعیتی (F_{st}) استفاده شد.

^۱ POOL^۲ Consensus^۱ Hotspots

قرار گرفت (شکل ۱). پس از انجام مراحل کنترل کیفیت داده‌ها، در نهایت ۶۲۰۲۶ نشانگر و ۴۹۵ فرد برای تجزیه و تحلیل‌های بعدی مورد استفاده قرار گرفتند.

مشخصات سگ‌های نژاد استرالین کتل داگ، دالماتین و انگلیش ستر بعد از انجام مرحله کنترل کیفیت در جدول ۱ آورده شده‌است.

شناسایی نشانه‌های انتخاب با استفاده از آزمون ROH

برای محاسبه ROH، ابتدا سگ‌های ناشناخته نژادهای استرالین کتل داگ، دالماتین، انگلیش ستر بوسیله نرم‌افزار PLINK مورد آنالیز قرار گرفتند. مختصات ژنومی نواحی ROH که حداقل در ۴۰ درصد افراد هر نژاد همپوشان بودند به‌عنوان ورودی سایت VEP Ensemble استفاده شدند. تعدادی از ژن‌های کاندید انتخاب در هر آنالیز به‌دست آمد.

در نژاد استرالین کتل داگ در مجموع ۱۰ ژن مرتبط با ناشنوایی شناسایی شد که بر روی کروموزوم‌های شماره ۳۴، ۳۵، ۳۰، ۱۳، ۱۵، ۱۰ و ۲۰ قرار گرفته بودند (DMLX2، GRHL2، MYH9، TMIE، SLC17A8، PTPRQ، FAM65B، CCDC50، DCDC2، TRIOBP).

تثبیت شده‌اند. از طرف دیگر، مقادیر نزدیک به یک نشان‌دهنده تفاوت تثبیت‌شده بین جمعیت‌ها می‌باشد. انتخاب منفی و متعادل تمایل به کاهش F_{st} دارد و انتخاب مثبت تمایل به افزایش F_{st} دارد (Wright 1951). در مطالعه حاضر مقادیر F_{st} با استفاده از نرم‌افزار vcftools محاسبه شد. سپس، با استفاده از فرمول زیر مقادیر میانگین F_{st} به ZF_{st} یا F_{st} استاندارد شده تبدیل شدند.

$$ZF_{st} = (F_{st} - \mu F_{st}) / \sigma F_{st}$$

تنها ۱٪ بالایی توزیع تجربی میانگین مقادیر ZF_{st} ، به‌عنوان نواحی کاندید تحت انتخاب تعریف شدند. جهت نمایش گرافیکی نتایج حاصل از آزمون F_{st} نمودار منهن برای مقایسات انجام شده در سه جمعیت سگ توسط نرم‌افزار R4.0.4 رسم شد. در نهایت ژن‌های موجود در نواحی فرضی تحت انتخاب با استفاده از پایگاه داده

Ensemble (<http://www.ensembl.org/info/docs/tools/vep/index.html>)

شناسایی شدند.

نتایج

در این پژوهش، تعداد ۲۰۱۰۲۰ نشانگر از ژنوم ۵۰۳ سگ از نژادهای دالماتین، استرالین کتل داگ و انگلیش ستر مورد بررسی



Dalmatian



Australian Cattle Dog



English Setter

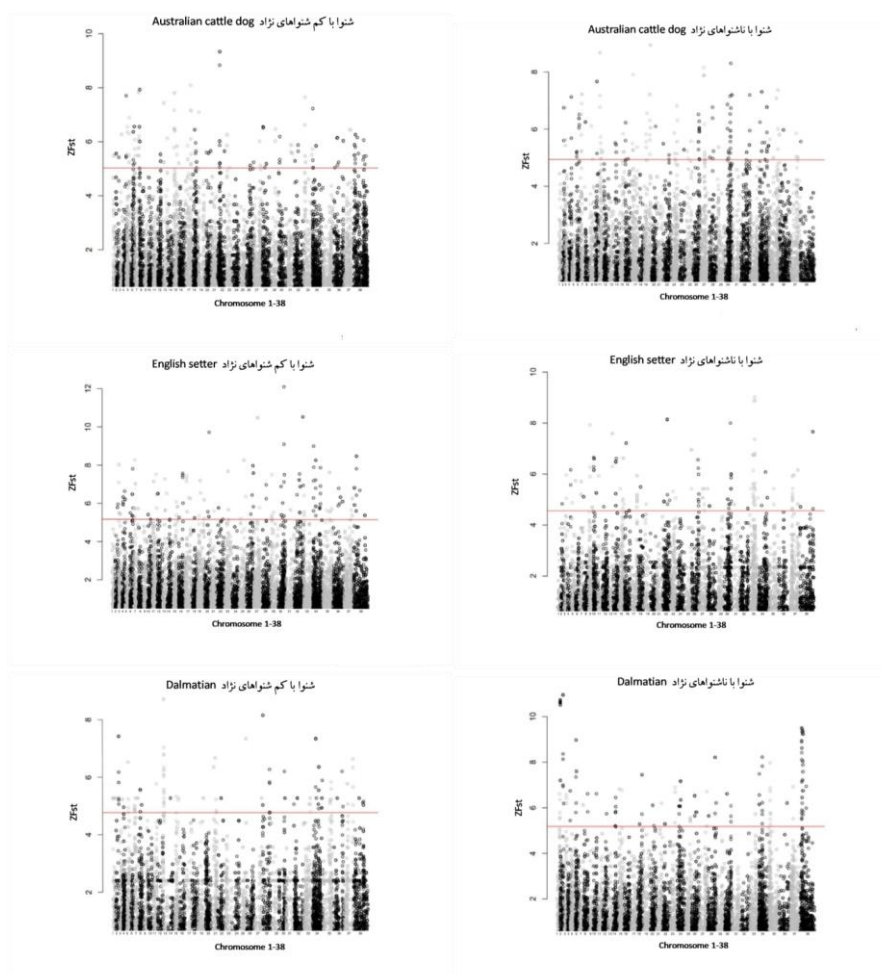
شکل ۱- تصاویری از سگ‌های دالماتین، استرالین کتل داگ و انگلیش ستر

جدول ۱- مشخصات سگ‌های نژاد استرالین، دالماتین و انگلیش ستر بعد از کنترل کیفیت

نژاد	تعداد			SNPهای حذف شده			SNPهای باقی مانده
	کل	شنوا	ناشنوا	یک طرفه شنوا	--geno	--maf	--hwe
Australian cattle dog	۱۱۷	۵۸	۱۷	۴۲	۱۴۹	۶۳۸۳	۲۱۵
Dalmatian	۲۹۹	۱۳۳	۹۰	۷۶	۶۶	۶۰۵۵	۷۱۰
English setter	۷۹	۳۹	۱۱	۲۹	۱۹۲	۱۶۸۵۵	۱۳۳۵

در بررسی توزیع جزایر ROH سراسر ژنوم سگ، ژن‌های MYH9، PTPRQ، SLC17A8، TRIOBP که به ترتیب روی کروموزوم‌های ۱۰، ۱۵، ۱۵، ۱۰ قرار گرفته‌اند در نژاد دالماتین و استرالین کتل داگ به‌طور مشترک شناسایی شدند. در نژاد دالماتین و انگلیش ستر ژن‌های BDP1 و MARVELD2 که روی کروموزوم شماره ۲ قرار گرفته‌اند به‌طور مشترک شناسایی شدند. لازم به ذکر است که بین نژاد استرالین کتل داگ و انگلیش ستر هیچ ژن مشترکی شناسایی نشد.

در نژاد دالماتین در مجموع ۲۵ ژن مرتبط با ناشنوایی شناسایی شد که بر روی کروموزوم‌های شماره ۱۷، ۱۳، ۱۸، ۲۱، ۲، ۱۰، ۲۰، ۱۴، ۱۵، ۴، ۹، ۳۱ و ۲۴ واقع بودند (ELMOD3، EPS8L2، MYO7A، MYH9، VELD2، MAR، LRTOMT، GRXCR1، EDN3، KIT، BDP1، DFNA5، PTPRQ، PDE1C، OTOG، SLC26A5، TRIOBP، WBP2، PAX3، WFS1، SOX10، CABP2، CDH23، SLC17A8، SLC26A4). در نژاد انگلیش ستر ۱۰ ژن مرتبط با ناشنوایی شناسایی شد که روی کروموزوم‌های ۲، ۱۲، ۱۸، ۶، ۳۸، ۱۳، ۳۱ و ۲۰ مکان‌یابی شدند (LMX1A، GPSM2، EPSBL2، CD164، BDP1، SOX10، PAX3، KIT، POU4F3، MARVELD2).



شکل ۲- نمودار منتهن توزیع مقادیر ZFst سراسر ژنوم گروه‌های شنوا با ناشنوا و کم شنوای سه نژاد سگ Australian cattle dog، English setters و Dalmatian

بحث

انتخاب می‌تواند مجموعه‌ای از نشانه‌ها از جمله کاهش تنوع موضعی، طیف فراوانی‌های آلی و یک الگوی خاصی از عدم تعادل پیوستگی، در نواحی ژنومی تحت تأثیر آن باقی گذارد. این نشانه‌ها به‌طور مؤثر می‌توانند در اسکن ژنوم برای شناسایی ژن‌های تحت انتخاب استفاده شوند، بر این اساس، آماره‌های متعددی برای شناسایی نشانه‌های انتخاب معرفی شده‌اند. به‌طور کلی این روش‌ها، ردپای انتخاب را در داخل و بین جمعیت‌ها جستجو می‌کنند (Qanbari et al. 2014).

در مطالعه حاضر، از دو آزمون ROH (درون جمعیتی) و Fst (بین جمعیتی) برای شناسایی نشانه‌های انتخاب استفاده شد. آنالیز ROH قسمت‌های متوالی از ژنوم را که در حالت دیپلوئید هموزیگوت هستند و در میان درصد بالایی از جمعیت موجود هستند را بررسی می‌کند. طول و فراوانی ROH در ژنوم می‌تواند اطلاعات ارزشمندی را در مورد تاریخچه جمعیت، همخوانی ژنومی و نشانه‌های انتخاب ارائه دهد (Ceballos et al. 2018; Mastrangelo et al. 2017; Fleming et al. 2016). در سگ (*Canis familiaris*)، مطالعات ROH منجر به شناسایی نواحی ژنومی دخیل در صفاتی مانند رنگ و بافت پوشش بدنی و اندازه بدن شده است (Qanbari et al. 2014).

آماره Fst یکی از آماره‌های محبوبی که بطور وسیعی در مطالعات بررسی نشانه‌های انتخاب در سگ به کار برده شده است (Friedrich et al. 2020; Hsu et al. 2023; Hsu et al. 2023) استفاده از روش‌های مختلف در تشخیص نشانه‌های انتخاب، صحت نتایج را افزایش می‌دهد (Ma et al. 2015).

شناسایی نشانه‌های انتخاب می‌تواند اطلاعات ارزشمندی را درباره مکانیسم انتخاب طبیعی/مصنوعی ارائه دهد و ژن‌های مرتبط با عملکردهای بیولوژیکی و فنوتیپ‌ها را آشکار کند (Bigham et al. 2010). از آنجایی‌که، سگ‌های ناشنوا در معرض خطرات ناشناخته مانند وسایل نقلیه موتوری یا شکارچیان قرار می‌گیرد و اغلب تعداد زیادی از توله سگ‌های ناشنوا زمین گیر می‌شوند، شناسایی ژن‌های مسئول ناشنوایی و در نتیجه حیوانات مبتلا به اشکال ناشنوایی - هم به‌صورت ناشنوای یک طرفه و هم دو طرفه - و حذف آن‌ها از مخزن بالقوه تولید مثل

شماره‌های ۳۳، ۱۷، ۳۱، ۶ و ۱۷ قرار گرفته بودند به‌صورت مشترک شناسایی شدند و در مقایسه بین شنوا و ناشنواهای هر یک نژادهای استرلین کتل‌داگ و انگلیش ستر ژن‌های TECTA، TCF21، MPZL2 و EYA4 که به‌ترتیب روی کروموزوم‌های شماره‌های ۱، ۵، ۱۰ و ۵ قرار گرفته بودند به‌طور مشترک شناسایی شدند. در مقایسه بین شنواها و ناشنواهای نژاد دالماتین و انگلیش ستر ژن‌های CD164، BDP1، DFNA5، CLDN9، CDH23، MYO1F، MYO1C، MRVELD2، LMX1، ESPR1 و MYO6 که به‌ترتیب روی کروموزوم‌های شماره‌های ۲۰، ۹، ۲، ۳۸، ۲۹، ۴، ۶، ۱۴، ۲، ۱۲ و ۱۲ قرار گرفته بودند به‌طور مشترک شناسایی شدند.

هیچ‌کدام از ژن‌ها بین نژاد استرلین کتل‌داگ و انگلیش ستر مشترک نبودند.

ژن‌های ناشنوایی کاندید تحت انتخاب مشترک بین شنوا و کم شنوای سه نژاد

در مقایسه بین شنوا و کم شنوای نژاد استرلین کتل‌داگ و دالماتین ژن‌های LRTOMT و MPZL2 که به‌ترتیب روی کروموزوم‌های شماره‌های ۵ و ۲۱ قرار داشتند مشترک شناسایی شدند.

در مقایسه بین شنوا و کم شنوای نژاد استرلین کتل‌داگ و انگلیش ستر ژن‌های CDC50 و CRYM که به‌ترتیب روی کروموزوم‌های شماره‌های ۳۴ و ۶ قرار داشتند مشترک شناسایی شدند. در مقایسه بین شنوا و کم شنوای نژاد دالماتین و انگلیش ستر ژن‌های DFNA5، BSND، CD164، CDC2، DIAPH1، DMXL2، MYO15A، MYO1C، MYO6، OTOF، STRC، SLC17A8، FAM65B، POU4F3، PDE1C، OTOG و TMIE که به‌ترتیب روی کروموزوم‌های شماره‌های ۱۷، ۱۲، ۹، ۵، ۳۰، ۲، ۳۵، ۱۲، ۵، ۱۴، ۲۰، ۳۰، ۱۵، ۳۵، ۲، ۱۴ و ۲۱ قرار داشتند مشترک شناسایی شدند. ژن‌های EYA4، TCF21، DFNB59 و ELMOD3 که به‌ترتیب روی کروموزوم‌های ۱۷، ۳۶، ۱۰، ۱۱ قرار گرفته‌اند در هر سه نژاد مشترک بودند.

et al. 2011). بر اساس تحقیقات انجام شده، جهش در GRXCR1 باعث شروع ناشنوایی مادرزادی می‌شود، پیشرفت بیماری سبب اختلال در عملکرد دهلیزی گوش و در نتیجه ناشنوایی می‌شود (Odeh et al. 2010).

در آنالیز F_{st} ژن‌های *MITF*, *TECTA*, *PAX3*, *EDN3*, *MPZL2* و *ELMOD3* به‌طور مشترک در هر سه نژاد شناسایی شدند. ژن *MPZL2* در حلزون گوش موش‌های در حال رشد و بالغ بیان می‌شود و محصول پروتئینی به‌طور خاص در سلول‌های مویی داخلی و خارجی شنوایی قرار دارد. در نتیجه *MPZL2* برای فیزیولوژی شنوایی و یا حفظ سلول‌های مو نقش دارد و اختلال در آن منجر به کم‌شنوایی غیرسندروم می‌شود. از آنجا که ناشنوایی در افراد مبتلا متوسط است، ممکن است برخی از عملکردهای *MPZL2* توسط پروتئین‌های دیگر جبران شود (Guttinger et al. 1998). ارزیابی فیزیکی در بیماران مبتلا به نقص در غشای بافتی گوش به‌دلیل جهش در ژن *TECTA*، کاهش شنوایی حسی عصبی را نشان داد (Leijendeckers et al. 2009). در مطالعه‌ای با استفاده از ریزآرایه SNP باچگالی بالا نشان داده شد که جهش در ژن *EDN3* واقع بر کروموزوم ۲۲ گاو، عامل ناشنوایی مادرزادی است (Zhang et al. 2014). ژن *PAX3* (ژن جعبه جفت ۳) یک ژن جعبه جفتی^۳ است که قبلاً به‌عنوان *splotch* شناخته می‌شد و با رشد چشم، گوش و صورت مرتبط است. ژن *PAX3* در مهاجرت و تمایز ملانوسیت به‌عنوان جزء جدایی‌ناپذیر گوش داخلی نقش بازی می‌کند این ژن به‌عنوان ژن کاندید مرتبط با ناشنوایی معرفی شده است (Brenig et al. 2003). علاوه بر این جهش در ژن *PAX3* مسئول ناشنوایی در چندین شکل از سندرم واردنبورگ انسانی است (Strain 2015). شایع‌ترین نوع ناشنوایی در سگ‌ها، ارثی و مادرزادی همراه با رنگدانه‌های سفید می‌باشد (Strain 2015). بیشترین منبع ژنتیکی مرتبط با رنگدانه‌های سفید در سگ‌ها، *piebald* است (Little 1957). ارتباط قابل توجهی بین ناشنوایی و آلل‌های *piebald* مغلوب برای دالماتین، انگلیش ستر نشان داده شده است (Strain 2004). مبنای ژنتیکی منبع *piebald*، ژن *MITF* واقع در کروموزوم ۲۰ سگ می‌باشد (Schmutz et al. 2009; ۲۰ سگ می‌باشد).

برای کاهش تعداد حیوانات ناشنوا در آینده مهم است. در این مطالعه ژن‌های کاندید انتخاب مرتبط با ناشنوایی در هریک از نژادهای استرالین کتل داگ، دالماتین و انگلیش ستر شناسایی شد. ژن‌های مهمی مرتبط با ناشنوایی به‌طور مشترک در چند نژاد و توسط دو آماره *ROH* و *F_{st}* شناسایی شدند از جمله می‌توان ژن‌های *CD164*, *CDH23*, *SOX10*, *GRXCR1*, *BDP1* و *MARVELD2* نام برد که به‌صورت مشترک در هر دو گروه شنوا و کم‌شنوا نژادهای انگلیش ستر و دالماتین شناسایی شد. ژن *CD164* در سلول‌های مو و سایر نقاطی که برای شنوایی مهم هستند یافت می‌شود. بر اساس تحقیقات انجام شده در یک خانواده دانمارکی جهش در ژن *CD164* سبب اختلال شنوایی ارثی غالب می‌شود، در موش نیز این اختلال دیده می‌شود (Zannettino et al. 1998). جهش در ژن *CDH23* سبب سندروم آشر می‌شود، سندروم آشر گروهی از بیماری‌های ژنتیکی است و علائم مختلفی همانند نابینایی و ناشنوایی را ایجاد می‌کند، جهش در این ژن سبب ناشنوایی عمیق مادرزادی می‌شود (Yan et al. 2010). ژن *CDH23* ژن مرتبط با الگوهای ناشنوایی یا رنگدانه‌های سفید در سگ، گربه، اسب، گاو، خوک، گوسفند و... شناخته شده است (Strain 2015). در مطالعه‌ای بر روی سگ‌های ناشنوا مهمترین ژن مرتبط با ناشنوایی ژن *SOX10* شناسایی شد که عامل ایجاد سندروم واردنبورگ^۲ در سگ می‌باشد (Kluth et al. 2013). مطالعات انجام شده بر روی خوک نشان داد که جهش در ژن *SOX10* ممکن است منجر به تغییر شکل گوش داخلی شود (Zhou et al. 2016). در گوش داخلی انسان، بخش‌های مایع حاوی ترکیبات یونی مختلف هستند، اختلال در ژن *MARVELD2* که عامل کدکننده در این ترکیبات یونی است سبب کاهش شنوایی غیر سندرومی می‌شود، ژن *MARVELD2* باعث ناشنوایی دو طرفه، متوسط تا عمیق می‌شود (Morton et al. 2006). ژن دیگری که در این گروه شناسایی شد ژن *BDP1* می‌باشد. بیان این ژن در بافت‌های مختلف از جمله سلول‌های اندوتلیال عروق خونی و عروق استریا گزارش شده است. از این رو اختلال در عملکرد ژن بر سیستم شنوایی تاثیر می‌گذارد (Zhu

¹ Asher² Waardenburg¹ Paired box gene

حسی عصبی می‌شود. بررسی کامل الگوی بیان پروتئین در گوش داخلی موش نشان می‌دهد که می‌توان بین توزیع Ymer و انواع مختلف سلول در اندامکورتی^۱ همبستگی ایجاد کرد (Hallworth et al. 2000).

دو ژن PTPRQ و MYO7A در آنالیز ROH و F_{st} به‌طور مشترک در نژادهای استرلین کتل داگ و دالماتین شناسایی شدند. ژن MYO7A در سلول‌های موی گوش داخلی وجود دارد جهش در این ژن باعث اختلال ناشنوایی حسی عصبی غیرسندرومیک می‌شود (Liu et al. 1997). مشخص شده‌است که جهش در ژن PTPRQ با کاهش شنوایی مغلوب متوسط تا عمیق و اختلال عملکرد دهلیزی ارتباط دارد (Schraders et al. 2010).

ژن TRIOBP مسئول تشخیص صدا در مجرای حلزونی گوش داخلی است، جهش در این ژن باعث ناشنوایی می‌شود، موش‌های دارای کمبود TRIOBP دارای ناشنوایی مادرزادی هستند (Katsuno et al. 2019). این ژن در نژادهای نژاد دالماتین و استرلین کتل داگ در آنالیز ROH و کم شنوایی نژاد انگلیش ستر و دالماتین در آنالیز F_{st} شناسایی شد.

نتیجه‌گیری کلی

در این مطالعه، از دو روش آماری درون و بین جمعیتی استفاده شد تا نشانه‌های انتخاب مرتبط با ناشنوایی در سه نژاد سگ دالماتین، انگلیش ستر و استرلین کتل داگ بررسی شود. نتایج نشان داد که ژن‌های مختلفی در کروموزوم‌های مختلف بر ناشنوایی سگ تاثیر دارند. علاوه بر این، ژن‌های مشترک بیشتری بین نژادهای دالماتین و انگلیش ستر شناسایی شد. در آنالیز F_{st} در هر سه نژاد، دو ژن SOX10 و MITF مشاهده شدند. این ژن‌ها فعال کننده جایگاه ژنی piebald هستند، بنابراین احتمالاً، ناشنوایی مادرزادی در هر سه نژاد سگ مورد مطالعه وجود دارد.

¹ corti

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* 12:1805-1814.
Bamberger M, Houpt KA (2006) Signalment factors, comorbidity, and trends in behavior diagnoses in dogs:

Karlsson et al. 2007). ژن MITF برای توسعه و بقای ملانوسیت‌ها ضروری است. گزارش شده است که جهش‌های MITF در انسان و موش، ملانوسیت‌ها را به میزان متفاوتی تحت تاثیر قرار می‌دهند و سبب اختلال در عملکرد شنوایی می‌شود (Steingrímsson et al. 2004). تحقیقات انجام شده بر روی خوک‌های سفید نشان داد که جهش در ژن MITF سبب ناشنوایی در این نژادها می‌شود، دلیل ناشنوایی از دست دادن تدریجی سلول‌های داخلی و خارجی مو، کمبود ملانوسیت در عروق استریا نشان شده‌است (Lai et al. 2007). ژن مهم دیگری که در هر سه نژاد به‌طور مشترک شناسایی شد ژن KIT می‌باشد. KIT در مهاجرت سلول‌های تاج عصبی و تمایز ملانوبلاست‌ها نقش دارد. به نظر می‌رسد که یک تعامل متقابل بین MITF و KIT وجود دارد، زیرا MITF برای بیان KIT در ملانوبلاست‌ها ضروری است و سیگنالینگ KIT فعالیت و ثبات MITF را در ملانوسیت‌ها تعدیل می‌کند. (Hou et al. 2000) جهش KIT در موش و سایر گونه‌ها می‌تواند ناشنوایی ایجاد کند (Geissler et al. 1981). ژن‌های MITF و KIT همچنین با ناشنوایی در سگ، گربه، اسب، گاو، خوک، گوسفند و... مرتبط هستند (Strain 2015). ژن ELMOD3 برای شنوایی در افراد مهم است جهش در این ژن باعث ناشنوایی عمیق می‌شود. نشان داده شده است که عملکرد این ژن برای نگهداری سلول موی گوش داخلی ضروری است (Johnson et al. 2012). لازم به ذکر است که ژن‌های ELMOD3، PAX3 و KIT همچنین در جزایر ROH نژاد دالماتین به‌عنوان ژن کاندید شناسایی شدند.

ژن CCDC50 از جمله ژن‌هایی بود که به‌صورت مشترک با استفاده از دو روش آماری در نژادهای استرلین کتل داگ و انگلیش شناسایی شد. ژن CCDC50 یک ژن کدکننده عامل سفریله شده تیروزین با واسطه شناخته شده به نام "Ymer" است، جهش در این ژن باعث ناشنوایی غیرسندرومیک، پیش رونده

1,644 cases (1991-2001). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 229:1591-1601.
Barreiro LB, Laval G, Quach H, Patin E, Quintana-Murci L (2008) Natural selection has driven population differentiation in modern humans. *Nature Genetics* 40:340-345.

- Bigham A, Bauchet M, Pinto D, Mao X, Akey JM, Mei R, et al. (2010) Identifying signatures of natural selection in Tibetan and Andean populations using dense genome scan data. *PLoS Genetics* 6:e1001116.
- Bosse M, Megens H-J, Madsen O, Paudel Y, Frantz LA, Schook LB, et al. (2012) Regions of homozygosity in the porcine genome: consequence of demography and the recombination landscape. *PLoS Genetics* 8:e1003100.
- Brenig B, Pfeiffer I, Jaggy A, Kathmann I, Balzari M, Gaillard C, et al. (2003) Analysis of the 5' region of the canine PAX3 gene and exclusion as a candidate for Dalmatian deafness. *Animal Genetics* 34:47-50.
- Ceballos FC, Hazelhurst S, Ramsay M (2018) Assessing runs of Homozygosity: a comparison of SNP Array and whole genome sequence low coverage data. *BMC Genomics* 19:106.
- Fleming D, Koltjes J, Markey A, Schmidt C, Ashwell C, Rothschild M, et al. (2016) Genomic analysis of Ugandan and Rwandan chicken ecotypes using a 600 k genotyping array. *BMC Genomics* 17:407.
- Geissler EN, McFarland EC, Russell ES (1981) Analysis of pleiotropism at the dominant white-spotting (W) locus of the house mouse: a description of ten new W alleles. *Genetics* 97:337-361.
- Gianola D, Simianer H, Qanbari S (2010) A two-step method for detecting selection signatures using genetic markers. *Genetics Research* 92:141-155.
- Guttinger M, Sutti F, Panigada M, Porcellini S, Merati B, Mariani M, et al. (1998) Epithelial V-like antigen (EVA), a novel member of the immunoglobulin superfamily, expressed in embryonic epithelia with a potential role as homotypic adhesion molecule in thymus histogenesis. *The Journal of Cell Biology* 141:1061-1071.
- Hallworth R, McCoy M, Polan-Curtain J (2000) Tubulin expression in the developing and adult gerbil organ of Corti. *Hearing Research* 139:31-41.
- Holliday TA, Nelson HJ, Williams DC, Willits N (1992) Unilateral and bilateral brainstem auditory-evoked response abnormalities in 900 Dalmatian dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 6:166-174.
- Hou L, Panthier J-J, Arnheiter H (2000) Signaling and transcriptional regulation in the neural crest-derived melanocyte lineage: interactions between KIT and MITF. *Development* 127:5379-5389.
- Hsu W-T, Williamson P, Khatkar MS (2023) Analysis of dog breed diversity using a composite selection index. *Scientific Reports* 13:1674.
- Hsu W-T, Williamson P, Khatkar MS (2023) Identification of genomic signatures in Bullmastiff dogs using composite selection signals analysis of 23 purebred clades. *Animals* 13:1149.
- Johnson KR, Longo-Guess CM, Gagnon LH (2012) Mutations of the mouse ELMO domain containing 1 gene (Elmod1) link small GTPase signaling to actin cytoskeleton dynamics in hair cell stereocilia. *PloS One* 7:e36074.
- Karlsson EK, Baranowska I, Wade CM, Salmon Hillbertz NH, Zody MC, Anderson N, et al. (2007) Efficient mapping of mendelian traits in dogs through genome-wide association. *Nature Genetics* 39(11):1321-1328.
- Katsuno T, Belyantseva IA, Cartagena-Rivera AX, Ohta K, Crump SM, Petralia RS, et al. (2019) TRIOBP-5 sculpts stereocilia rootlets and stiffens supporting cells enabling hearing. *JCI Insight* 4.
- Kluth S, Distl O (2013) Congenital sensorineural deafness in Dalmatian dogs associated with quantitative trait loci. *PLoS One* 8:e80642.
- Lai F, Ren J, Ai H, Ding N, Ma J, Zeng D, et al. (2007) Chinese white Rongchang pig does not have the dominant white allele of KIT but has the dominant black allele of MC1R. *Journal of Heredity* 98:84-87.
- Leijendeckers JM, Pennings RJ, Snik AF, Bosman AJ, Cremers CW (2009) Audiometric characteristics of USH2a patients. *Audiology and Neurotology* 14:223-231.
- Little CC (1957) The inheritance of coat color in dogs. *The Inheritance of Coat Color in Dogs*.
- Liu XZ, Walsh J, Mburu P, Kendrick-Jones J, Cope MJ, Steel KP, et al. (1997) Mutations in the myosin VIIA gene cause non-syndromic recessive deafness. *Nature Genetics* 16:188-190.
- Ma Y, Ding X, Qanbari S, Weigend S, Zhang Q, Simianer H (2015) Properties of different selection signature statistics and a new strategy for combining them. *Heredity* 115:426-436.
- Mastrangelo S, Tolone M, Sardina MT, Sottile G, Sutera AM, Di Gerlando R, et al. (2017) Genome-wide scan for runs of homozygosity identifies potential candidate genes associated with local adaptation in Valle del Belice sheep. *Genetics Selection Evolution* 49:84.
- Morton CC, Nance WE (2006) Newborn hearing screening: a silent revolution. *New England Journal of Medicine* 354:2151-2164.
- Odeh H, Hunker KL, Belyantseva IA, Azaiez H, Avenarius MR, Zheng L, et al. (2010) Mutations in Grxcr1 are the basis for inner ear dysfunction in the pirouette mouse. *The American Journal of Human Genetics* 86:148-160.
- Qanbari S, Simianer H (2014) Mapping signatures of positive selection in the genome of livestock. *Livestock Science* 166:133-143.
- Ruvinsky A, Sampson J (2001) *The genetics of the dog*. Cabi Publishing.
- Schmutz SM, Berryere TG, Dreger DL (2009) MITF and white spotting in dogs: a population study. *Journal of Heredity* 100(suppl_1):S66-S74.
- Schraders M, Oostrik J, Huygen PL, Strom TM, van Wijk E, Kunst HP, et al. (2010) Mutations in PTPRQ are a cause of autosomal-recessive nonsyndromic hearing impairment DFNB84 and associated with vestibular dysfunction. *The American Journal of Human Genetics* 86:604-610.
- Shendure J, Ji H (2008) Next-generation DNA sequencing. *Nature Biotechnology* 26:1135-1145.
- Steingrímsson E, Copeland NG, Jenkins NA (2004) Melanocytes and the microphthalmia transcription factor network. *Annual Review of Genetics* 38:365-411.
- 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.

- Strain GM (2004) Deafness prevalence and pigmentation and gender associations in dog breeds at risk. *The Veterinary Journal* 167:23-32.
- Strain G (2010) White noise: pigment-associated deafness. *Veterinary Journal* 188:247-249.
- Strain G (2011) Physiology of the auditory system. In *Deafness in dogs and cats* (pp. 23-39).
- Strain GM (2012) Canine deafness. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice* 42:1209-1224.
- Strain GM (2015) The genetics of deafness in domestic animals. *Frontiers in Veterinary Science* 2:29.
- Vilà C, Savolainen P, Maldonado JE, Amorim IR, Rice JE, Honeycutt RL, et al. (1997) Multiple and ancient origins of the domestic dog. *Science* 276:1687-1689.
- Wong L (2013) Next-Generation Sequencing Analyses of the Whole Mitochondrial Genome. In *Next Generation Sequencing* (pp. 203-219). Springer.
- Wright S (1951) The genetical structure of populations. *Annals of Eugenics* 15:323-354.
- Yan D, Liu XZ (2010) Genetics and pathological mechanisms of Usher syndrome. *Journal of Human Genetics* 55:327-335.
- Zannettino AC, Bühring H-Jr, Niutta S, Watt SM, Benton MA, Simmons PJ (1998) The sialomucin CD164 (MGC-24v) is an adhesive glycoprotein expressed by human hematopoietic progenitors and bone marrow stromal cells that serves as a potent negative regulator of hematopoiesis. *Blood* 92:2613-2628.
- Zhang MQ, Xu X, Luo SJ (2014) The genetics of brown coat color and white spotting in domestic yaks (*Bos grunniens*). *Animal Genetics* 45:652-659.
- Zhou X, Wang L, Du Y, Xie F, Li L, Liu Y, et al. (2016) Efficient generation of gene-modified pigs harboring precise orthologous human mutation via CRISPR/Cas9-induced homology-directed repair in zygotes. *Human Mutation* 37:110-118.
- Zhu Y, Li L, Zhou L, Mei H, Jin K, Liu K, et al. (2011) A novel mutation leading to elongation of the deduced $\alpha 1$ (X) chain results in Metaphyseal Chondrodysplasia type Schmid. *Clinica Chimica Acta* 412:1266-1269.