ژنتیک نوین
دوره دوازدهم، شماره ٤، زمستان ١٣٩٦
صفحه ٥٩٥ - ٥٨٧

بررسی کارایی روش آماری BayesCπ برای پویش ژنومی پاسخ ایمنی سلولی در مرغ

A study of the efficiency of the BayesCπ statistical method for Genome Wide Association study of cellular immune response in chicken

هستی معتمد[1]، علی‌رضا احسانی*[2]، رسول واعظ ترشیزی[2]

۱- کارشناسی ارشد، اصلاح دام و طیور، دانشگاه تربیت مدرس

۲- به‌ترتیب استادیار، دانشیار، گروه علوم دامی، دانشگاه تربیت مدرس

Motamed H[1], Ehsani AR*[2], Vaez Torshizi R[2]

1- MSc Student, Animal Breeding, of Tarbiat Modares University
2- Assistant Professor, Associate Professor, of Tarbiat Modares University

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: alireza.ehsani@modares.ac.ir

(تاریخ دریافت: ٩٦/٥/١٦ - تاریخ پذیرش: ٩٦/١٢/١٣)

چکیده

به‌کارگیری روش آماری برای آنالیز داده‌های ژنومی می‌تواند به یافتن روابط واقعی بین ژنتیک و فنوتیپ کمک کند. در سال‌های اخیر روش‌های آماری مختلفی برای درک این روابط به‌کار گرفته شده‌اند و نتایج به‌دست آمده نشان‌دهنده این واقعیت است که در شرایط متفاوت و صفات مختلف روش‌های متفاوتی کارایی بهتری دارند. از جمله این روش‌ها می‌توان به روش‌های مبتنی بر حداکثر درستنمایی، روش حداقل مربعات و یا روش‌های غیر پارامتری مانند روش‌های بیزی اشاره نمود. برخلاف روش‌های پارامتری، در روش‌های بیزی اثر متغیرهای ژنتیکی می‌توانند در بیش از یک توزیع آماری مورد آنالیز قرار گیرند. با توجه به اینکه توارث صفات کمی در نتیجه تاثیر متفاوت متغیرهای ژنتیکی با اثر متفاوت بوده و توزیع‌های آماری این روش می‌توانند متفاوت از همدیگر باشند لذا به‌نظر می‌رسد روش‌های بیزی بتوانند درک صحیح‌تری از نواحی ژنومی مؤثر بر صفات کمی و میزان اثر آن‌ها ارائه نمایند. به‌همین جهت در پژوهش حاضر، فنوتیپ ایمنی سلولی با استفاده از تزریق دی نیتروکلرو بنزن و ژنوتیپ پرندگان با تراکم ٦٠ هزارتاییSNP شرکت ایلومینا در ١٩٨ پرنده نسل F2 حاصل از تلاقی دوطرفه سویه آرین و مرغ بومی ارومیه با استفاده از روش بیزی BayesCπ مورد مطالعه قرار گرفت. در این روش، با توجه به ماهیت صفت (وراثت‌پذیری پایین) و مشاهده نمودار همگرایی مولفه‌های واریانس و مقادیر π با استفاده از آزمون و خطا، مقدار π برابر با ۰/۱۹۹۹ و تعداد دور زنجیره ۱۰۰۰۰۰ انتخاب شد تا بتوان همگرایی و پراکندگی اثر نشانگری را به‌درستی نشان داد. تعداد ۲۸ نشانگر معنی‌دار به‌دست آمده بر روی کروموزوم‌های ۱، ۲، ۳، ٤، ٨، ١٣، ١٤، ١٩، ٢٠، ٢١ و ٢٢ قرار داشتند که این تعداد با توجه به وراثت‌پذیری پایین صفت می‌تواند قابل توجیه باشد. SNPهای مشخص شده داخل یا نزدیک به ۲۵ ژن قرار گرفته بودند و از این میان ژن‌های SULF2، MKNKI، LRRTM4، NCK2، CAMK1D، RBFOX1 و DUSP14 ، عملکردهای مهمی را در ایجاد پاسخ ایمنی از طریق سنتز سلول‌های T، تشکیل سیناپس ایمیونولوژیکی، دخالت در تشکیل نوتروفیل‌ها و ایجاد پاسخ به استرس‌های محیطی بر عهده داشتند. با توجه به نقش کلیدی ژن‌های ذکر شده در ایجاد پاسخ ایمنی سلولی، می‌توان کارایی روش BayesCπ برای پویش ژنومی در این صفت و صفاتی مشابه را مورد تایید قرار داد.

واژه‌های کلیدی

چندشکلی تک نوکلئوتیدی
روش بیزین
ژنوم
صفت ایمنی سلولی
مرغ بومی- سویه آرین

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.4.10.6]

مقدمه

در سالیان اخیر مطالعات پویش ژنوم[1] (GWAS) و انتخاب ژنومی به‌طور گسترده در برنامه‌های اصلاحی دام و طیور به‌کار گرفته شده‌اند. هدف نهایی از مطالعات GWAS، که به‌منظور شناسایی وابستگی بین یک نشانگر ژنتیکی و یک صفت یا بیماری با استفاده از نشانگرهای فراوان در سطح ژنوم است، پیدا کردن چند شکلی‌های سببی می‌باشد که بر فنوتیپ یک صفت اثر می‌گذارند (Risch and Merikangas 1996). از سوی دیگر مدل‌های آماری می‌توانند اثر تعیین کننده‌ای بر یافتن نواحی ژنومی مؤثر داشته باشند تا جایی‌که در صفات کمی متفاوت مدل‌های متفاوتی کارایی بهتری دارند. مدل‌های آماری مورد استفاده در آنالیزهای پویش ژنومی را می‌توان به دو دسته کلی تقسیم نمود. یکی از آن‌ها روش‌های آماری کلاسیک و دیگری مدل‌های مبتنی بر تئوری بیزی است، که در سال‌های اخیر مورد توجه بیش‌تری قرار گرفته است. ازجمله روش‌های مبتنی بر مدل‌های کلاسیک می‌توان به آنالیزهای رگرسیونی تک متغیره مبتنی بر روش حداکثر درستنمایی (Maximum Likelihood) و یا روش حداقل مربعات خطا (Least Squares) اشاره نمود. مطابق با یافته‌های Peters et al.(2012) در آنالیزهای مبتنی بر روش‌های کلاسیک مهم‌ترین مشکل، بالا بودن نرخ false positive و over estimation از اثر SNPها و QTLها می‌باشد.

از طرف دیگر این روش‌ها براساس تئوری توزیع نرمال از آثار متغیرهای ژنتیکی استوار می‌باشند، که ممکن است تئوری صحیحی برای تفسیر اثر متغیرهای ژنتیکی در همه صفات کمی نباشد. زیرا فرض بر این است که در توزیع نرمال همه‌ی متغیرهای ژنتیکی از یک توزیع نرمال پیروی می‌کنند که آشکارا با یافته‌های دانشمندان در مورد اثرات جایگاه‌های ژنتیکی موثر بر صفات کمی مباینت دارد. بنابراین یک جایگزین مناسب برای حل این مشکلات، می‌تواند استفاده از روش‌های بیزین در آنالیزهای پویش ژنومی باشد که در آن می‌توان به دلخواه توزیع‌های متفاوتی برای دسته‌های مختلف از متغیرهای ژنتیکی در نظر گرفت.

Hayes and Goddard (2001) نشان دادند که استفاده از روش‌های بیزین دقت انتخاب ژنومی را بالا برده است، زیرا با استفاده از این مدل‌ها نشانگرهای بیشتری می‌توانند به‌طور همزمان آنالیز شوند، و در واقع نرخ over estimation و false positive کاهش پیدا کند. از سوی دیگر آماره‌ی مورد استفاده برای بررسی اثر نشانگرها در مدل‌های تک نشانگری، p-value می‌باشد که در طی پژوهش‌های انجام شده همواره تفاوت‌هایی بین نتایج حاصل از آنالیزهای بیزین و کلاسیک وجود داشته است، به‌گونه‌ای که آماره p-value فقط درصدی از اطلاعات را برای تصمیم‌گیری فراهم می‌کند و مشاهده شده‌است حتی در صورت رد فرض صفر، این فرض ممکن است تا ۲۰ درصد درست باشد (Lin and Yin 2015). استنباط بیزی بر اساس یک رابطه‌ی احتمال شرطی شکل می‌گیرد، که مشروط بر مشاهدات است.

مطالعه Sahana et al. (2010) نشان داد که نتایج QTL mapping با روش بیزی، صحت و قدرت بالاتری در یافتن جایگاه QTLها در مقایسه با مدل رگرسیون تک نشانگری، مدل‌های مبتنی بر هاپلوتیپ یا مدل‌های میکس دارد. همچنین در مطالعه‌ای که با استفاده از داده‌های شبیه‌سازی شده از جمعیت گاو شیری انجام شد، دو روش Bayes C و Bayes Cπ مورد مطالعه قرار گرفتند که در نهایت روش Bayes Cπ کارایی بهتری برای یافتن اثر SNPها و همگرایی آنالیز نسبت به روش BayesC داشت (Van den Berg et al. 2013). در پژوهشی که به‌منظور مقایسه‌ی روش‌های بیزی و کلاسیک برای یافتن نشانگرهای تک نشانگری درگیرنده‌ی لپتین در خوک انجام شد، مشخص شد که روش بیزی نسبت به روش کلاسیک قوی‌تر عمل کرده است (Varona 2010). مطالعات نشان می‌دهند که در بسیاری از موارد نتایج حاصل از آنالیزهای کلاسیک و بیزین باهم متفاوت هستند (Johnson 2013; Varona 2010).از طرف دیگر در آنالیزهای بیزی زمان محاسبات و آنالیز داده‌ها مناسب‌تر بوده (Hayes and Goddard 2001) و تجزیه و تحلیل داده‌ها دارای چارچوب طبیعی‌تر و منطقی‌تری است (Sham and Purcell 2014). همچنین در این آنالیزها عدم تعادل پیوستگی بین SNP و جایگاه صفات کمی به‌طور دقیق‌تری نشان داده شده و به‌طور کلی این روش نسبت به روش‌های رگرسیونی و حداقل مربعات در یافتن جایگاه‌های موثر صفات کمی بهتر عمل می‌کند (Habier et al. 2011). علاوه بر این در روش‌های بیزی Over estimation کاهش‌یافته و مقادیر اثر

[1] Genome wide association study

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.4.10.6]

نشانگرها به‌صورت صحیح‌تری برآورد می‌شود (Costa et al. 2015) از این رو دقت GEBV[1]های برآورد شده در روش‌های بیزین بالاتر است (Gianola et al. 2009). از سوی دیگر مطالعات نشان داده است که روش‌های بیزین در صفات با وراثت پذیری پایین ممکن است کارایی بهتری داشته باشند (Baneh 2015). بنابراین از آنجا که صفات مرتبط با ایمنی عموما دارای وراثت‌پذیری پایینی هستند.

در پژوهش حاضر، پویش ژنومی در صفت پاسخ ایمنی سلولی به دی نیتروکلرو بنزن (DNCB) به‌عنوان محرکی برای فعالیت ایمنی سلولی، با استفاده از روش BayesCπ مورد مطالعه قرار گرفت. اجزای سیستم ایمنی سلولی[2] که شامل نوتروفیل‌ها و سلول‌های T سیتوتوکسیک[3] می‌باشند، باعث تخریب آنتی ژن‌های خارجی، حذف کل سلول آسیب‌دیده و در نتیجه کمک به حیوانات برای ایجاد مقاومت در برابر آنتی‌ژن‌های خارجی و سرطان می‌شود (Raeesi et al. 2017) بنابراین اهمیت این سلول‌ها در حفظ ایمنی همواره حائز اهمیت می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در تحقیق حاضر از یک جمعیت F2 حاصل از تلاقی ضربدری لاین گوشتی پرتولید آرین و توده بومی ایرانی که مشهور به مرغ بومی آذربایجان است استفاده شد. والدین این جوجه‌ها در بهمن ماه سال ۱۳۹۰ به دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس انتقال داده شدند و به صورت ضربدری تلاقی داده شدند (Maghsodi 2014). از این تلاقی‌ها جمعیت F1 و از آمیزش F1ها جمعیت جوجه‌های F2 متشکل از تعداد ۷ خانواده ناتنی و ۳٤ خانواده تنی در جمعیت F2 مورد مطالعه قرار گرفت. جهت بررسی عملکرد سیستم ایمنی سلولی، ضخامت سطح مقطع قسمت بدون پر زیر بال راست به مساحت ۷ سانتی‌متر مربع در سن ۱۰ هفتگی پیش و پس از مالش محلول ۰/۱ میلی‌لیتر دی‌نیتروکلروبنزن[4] (DNCB) به‌عنوان شاخص ایمنی سلولی استفاده شد. میانگین تفاوت اندازه ضخامت پوست با استفاده از کولیس الکترونیکی در سه تکرار پیش از تیمار پرندگان و ٢٤ ساعت پس از تیمار مورد استفاده قرار گرفت (Verma et al. 2004).

تعداد ۱۹۸ نمونه خون از نسل F_2 با همکاری دانشگاه آرهوس دانمارک به‌وسیله‌ی پانل تجاری Illumina 60k SNP chip تعیین ژنوتیپ شدند که تعداد ۵۵۳۲۹ SNP برای جمعیت مورد مطالعه ژنوتایپ شد. کنترل کیفیت داده‌ها در نرم‌افزار PLINK نسخه‌ی ۱/۹ انجام شد. نمونه‌های با نرخ ژنوتیپی (call rate) کمتر از ۹۰ درصد، SNPهای با MAF[5] کمتر از پنج درصد و geno بیش‌تر از ۱۰ درصد و هم‌چنین بخشی از SNPهایی که فراوانی آن‌ها در تعادل هاردی–وینبرگ نبود از تجزیه و تحلیل حذف شدند. پس از ویرایش‌های مربوطه در نهایت تعداد ٤٤۲۲۸ SNP برای آنالیزهای GWAS استفاده شد.

بر اساس قانون بیز احتمال یافتن متغیرهای موثر بر یک صفت به کمک پیش برآوردها و تولید هزاران توزیع پشت سرهم سلسله‌ای از پارامترهای مربوطه محاسبه می‌شود. در صورتی‌که پیش برآوردها از توزیع‌های آماری با احتمال وقوع متفاوت پارامترها در فضای نمونه انتخاب شوند احتمال یافتن پارامترها خارج از فضای نمونه کمتر شده و اصطلاحا به آن پیش برآورد غنی از اطلاعات گفته می‌شود و برآورد نهایی عموما متکی به پیش برآوردها بوده و نقش داده‌ها در برآوردها کمتر می‌شود. اما در صورتی‌که پیش برآوردهای انتخاب شده از توزیع‌های آماری با فضای نمونه‌ی باز و احتمال وقوع هر پارامتر به‌طور مساوی باشند به این پیش برآوردها اصطلاحا پیش برآورد فاقد اطلاعات گفته می‌شود و در نتیجه برآورد نهایی بیش‌تر متکی به داده‌های موجود بوده و می‌تواند اطلاعات بیشتری از داده‌های موجود در اختیار قرار دهد.

معادله‌ی بیزی به‌صورت زیر محاسبه می‌شود.

$$P(y \mid \theta)=\frac{p(\theta)p(\theta \mid y)}{p(y)}$$

در معادله فوق $P(y|\theta)$ معرف توزیع پسین از داده ها (y) مشروط به آماره (θ) می‌باشد. P(θ) معرف پیش برآورد آماره θ، $p(\theta \mid y)$ بیانگر توزیع آماری آماره θ (likelihood) مشروط به داده‌های موجود و $p(y)$ توزیع آماری داده‌ها می‌باشد. آنالیزهای آماری برای روش بیزی با استفاده از Bayes Cπ انجام شد (Gianola et

[1] Genomic estimated breeding values
[2] Cell-mediated immunity
[3] Cytotoxic T-cells
[4] Dy-initro chloro benzene
[5] Minor allele frequency

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.4.10.6]

al. 2009) در این روش نشانگرها به دو دسته مجزا شامل دسته‌ی π که فاقد هرگونه اثر بر روی صفت مورد نظر هستند و دسته‌ی π–۱ که دارای اثر معنی دار بر روی صفت مورد نظر هستند تقسیم می‌شوند. واریانس پیش برآورد (*priori*) گروه اخیر از یک توزیع کای اسکوئر معکوس وزنی با درجه‌ی آزادی (v) و پارامتر وزنی (s^2) پیروی می‌کنند و اثرات SNPها از یک توزیع t استیودنت تک متغیره است (Costa et al. 2015). در این مطالعه مقدار درجه‌ی آزادی ٤/٢ و تعیین میزان s^2_g بر اساس واریانس ژنتیکی افزایشی (Habier et al. 2011) به‌دست آمد و هم‌چنین طول زنجیره MCMC برابر با ۱۰۰۰۰۰ و مقدار π–۱ برابر با ۰/۰۰۰۵ تعیین شد. ارزش‌های اولیه برای واریانس ژنتیکی و واریانس باقی مانده با استفاده از یک مدل آماری خطی مختلط در نرم‌افزار DMU به‌صورت زیر محاسبه شد:

$$y = Xb + Zu + e$$

در این مدل، y، b، u و e به‌ترتیب بردارهای مربوط به فنوتیپ، اثر ثابت همچون جنس و دوره جوجه‌کشی، اثر پلی‌ژنیک و مقادیر باقی‌مانده می‌باشد. X و Z به‌ترتیب ماتریس طرح ربط دهنده‌ی اثر ثابت و آثار پلی ژنیک به فنوتیپ‌های مشاهده شده می‌باشد. با استفاده از فرمول Vg/(π2Σ pi qi) مقادیر واریانس ژنتیکی برای SNPهای موثر بر صفت محاسبه شد.

مدل آماری مورد استفاده در آنالیز بیزین برای یافتن جایگاه‌های موثر بر صفات مورد مطالعه (معادله ۲) تنظیم شد:

$$y = Xb + Zu + Wg + e$$

که در این مدل، y، b، u، g و e به‌ترتیب بردارهای مربوط به فنوتیپ، اثر ثابت هم‌چون جنس و دوره جوجه کشی، اثرات پلی ژنیک، آثار SNPها و مقادیر باقی‌مانده می‌باشد. X ، Z و W به‌ترتیب ماتریس‌های طرح ربط دهنده‌ی اثرات عوامل، آثار پلی‌ژنیک و آثار SNPها به فنوتیپ‌های مشاهده شده می‌باشد.

عناصر داخل ماتریس W شامل عددهای ۰، ۱ و ۲ می‌باشد که نشاندهنده‌ی تعداد الل‌های جهش‌یافته در هر جایگاه از نشانگرهاست. مقدار فاکتور بیز که در واقع مبنای بررسی اثر نشانگرها می‌باشد با استفاده از فرمول زیر محاسبه می‌شود:

$$BF=\frac{\frac{P}{1-P}}{\frac{\pi}{1-\pi}}$$

BF مخفف کلمه Bayes Factor، P فراوانی احتمال پیشین از SNPهای فاقد اثر و π احتمال پسین SNPهایی فاقد اثر می‌باشد. p–۱ و π -1 به‌ترتیب احتمال پیشین و پسین SNPهای دارای اثر می‌باشد.

سه دامنه برای بیز فاکتور و بررسی معنی‌داری تعیین شده‌است (Kass and Raftery 1995) که شامل:

۱) بیز فاکتور بین ۳ تا ۲۰: ارتباط ضعیف با صفت دارد.

۲) بیز فاکتور بین ۲۰ تا ۱۵۰: ارتباط قوی با صفت دارد.

۳) بیز فاکتور بزرگتر از ۱۵۰: ارتباط قطعی با صفت دارد.

در این پژوهش مبنای ارزشیابی بیز فاکتور بین ۲۰ و ۱۵۰ و بزرگ‌تر از ۱۵۰ در نظر گرفته شده‌است.

بعد از انجام آنالیز نشانگرهایی که اثر معنی‌دار بر فنوتیپ مربوطه داشتند برای آنالیز بیوانفورماتیکی استفاده شدند. با استفاده از پایگاه داده NCBI[1] و جستجو در ژنوم مرغ، ژن‌هایی که ۵۰۰۰۰۰ جفت‌باز پیرامون هر SNP معنی‌دار بر روی کروموزم مربوطه قرار گرفته بودند شناسایی شدند (Wolfsberg 2010). فهرست این ژن‌ها به پایگاه داده Uniprot[2] (www.uniprot.org) منتقل شدند و بعد از ثبت فهرست ژن‌ها، مسیرهای بیوشیمیایی که از لحاظ آماری معنی‌دار بودند شناسایی شدند و به آن‌ها پرداخته شد.

نتایج و بحث

فیلترهای کنترل کیفیت داده باعث حذف ۲۵٦ نشانگر به‌علت تصحیح خطای ژنوتیپ، ۱۸۹٦ نشانگر به‌علت تعادل هاردی واینبرگ و ۸٦٤۹ نشانگر به‌علت MAF شد و در نهایت ٤٤۲۲۸ نشانگر SNP وارد آنالیز شد. بیش‌تر از ۹۰ درصد نشانگرها برای نمونه‌های موردنظر ژنوتیپ شده بودند و هیچ‌کدام از آنالیز حذف نشدند. مقادیر اولیه واریانس ژنتیکی و باقی‌مانده محاسبه شده با استفاده از نرم‌افزار DMU به‌ترتیب ۰/۰۱۱۵٤۰۹و ۰/٤۵۸٦۵۷٤ به‌دست آمد. واریانس محاسبه شده برای SNPهای دارای اثر، با استفاده از واریانس ژنتیکی ۰/۰۰۱۳۳۱ محاسبه شد. وراثت‌پذیری محاسبه شده برابر ۰/۰۲ بود. با توجه به اینکه در این نرم‌افزار، وراثت‌پذیری محاسبه شده با استفاده از ساختار شجره انجام شد و

[1] National center for biotechnology information (NCBI)
[2] Universal protein resource (UniProt)

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.4.10.6]

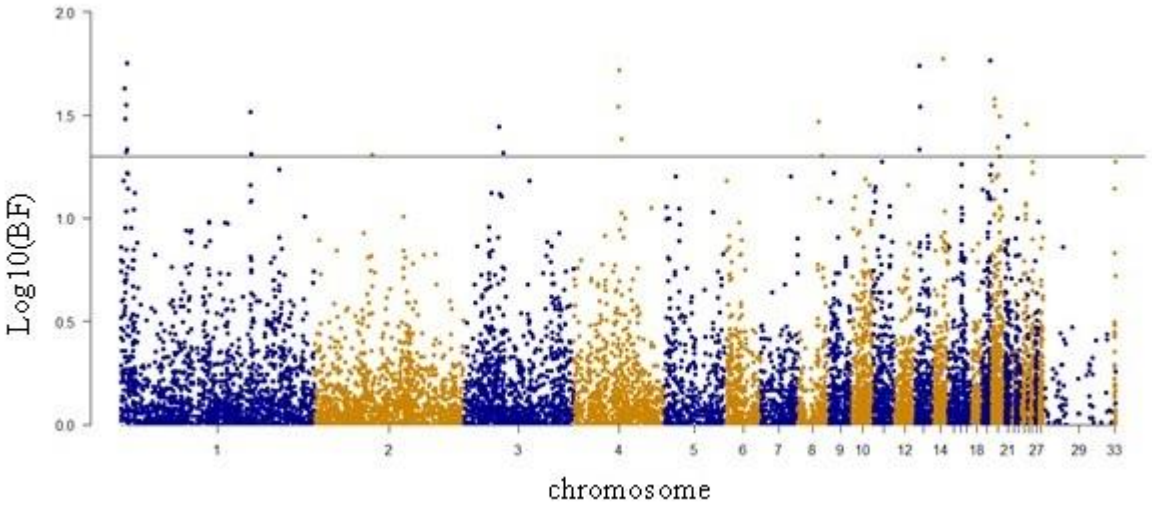
به‌دلیل اینکه در شجره‌ی جمعیت مورد استفاده فنوتیپ‌ها فقط برای نسل F2 ثبت شده بود و به عبارتی شجره دارای عمق کافی نبود لذا علت اصلی پایین بودن برآورد واریانس ژنتیکی و در نهایت وراثت‌پذیری محاسبه شده را می‌توان به این امر مرتبط دانست. با قرار دادن پیش برآوردهای به‌دست آمده از آنالیز داده‌ها به‌وسیله نرم‌افزار DMU در آنالیز رگرسیونی بیزی BayesCπ نقاط ژنومی مؤثر بر روی صفت مورد نظر شناسایی شد. در سطح بیز فاکتور بالاتر از ۲۰، تعداد ۲۸ SNP به‌دست آمد (شکل ۱) در مطالعه‌ی پویش ژنومی که برای پاسخ ایمنی ذاتی و اکتسابی بر روی مرغان تخم‌گذار انجام شد ۵۹ نشانگر معنی‌دار مشخص شد که تقریبا با مناطق مشخص شده در پژوهش حاضر همخوانی قابل توجهی را نشان داد. مناطقی که همپوشانی را نشان دادند شامل کروموزوم‌های ۳، ٤، ۷، ۱۳، ۱۹، ۲۱، ۲۲، ۲٤و ۲٦ بودند (Biscarini et al. 2010). به‌گونه‌ای که اسنیپ‌های قابل توجه بر روی کروموزوم شماره‌ی٤ در فاصله‌ی ۵۳/٤ Mb–۲/۷ قرار گرفته و نشانگرهای مشخص شده برروی کروموزوم ٤ در این پژوهش هم هرچند در دامنه‌ی فاصله‌ای کمتری قرار دارد (Mb ۸۱/۵–٤۷) ولی با این وجود SNPهای قابل توجهی در این مناطق برای این کروموزوم به‌دست آورده شده‌است.

جدول ۱- اسامی نشانگر SNPها و نزدیک‌ترین ژن‌ها به آن‌ها برای شاخص ایمنی سلولی

SNP ID	Chromosome	Position	BF	Nearest gene	distance	Function
Gga_rs13940125	1	135642332	20.54	*NCK2*	193397^{D}	Direct effect on
Gga_rs14715931	1	6644324	56.34	*CAMK1D*	28067^{D}	immune
Gga_rs15190100	1	6085128	20.93	*CAMK1D*	304108^{U}	response
Gga_rs314887051	1	6443169	21.59	*CAMK1D*	inside	
Gga_rs14650175	8	22057133	29.43	*MKNK1*	165159^{D}	
Gga_rs312320267	19	8549169	57.98	*DUSP14*	inside	
Gga_rs15173871	20	6293769	22.05	*SULF2*	44538^{U}	
Gga_rs315982277	22	3994230	22.77	*LRRTM4*	inside	
Gga_rs16690735	1	3972881	42.74	*SFMBT2*	inside	Indirect effect
Gga_rs14790910	1	5712839	35.50	*MIR1626*	65653^{U}	on immune
Gga_rs317722455	1	4957770	30.41	*GOLGB1*	inside	response
Gga_rs14189267	2	59976935	20.29	*ID4*	43357^{D}	
Gga_rs13723786	3	36068925	27.81	*OPN3*	127227^{D}	
Gga_rs80598487	3	38873725	20.62	*KCNK1*	33436^{D}	
Gga_rs16400395	4	46791780	52.43	*MIR1804*	69858^{D}	
Gga_rs314689872	4	46602965	34.64	*FGF5*	161641^{U}	
Gga_rs16405303	4	49847226	24.17	*ERI1*	3037^{D}	
Gga_rs14653191	8	24881496	20.03	*CPT2*	163040^{D}	
Gga_rs15012011	14	11096818	59.38	*RBFOX1*	inside	
Gga_rs14270598	20	2973501	34.90	*PTPRT*	inside	
Gga_rs312910067	20	3202775	37.78	*PTPRT*	inside	
Gga_rs16169293	20	8207933	31.13	*ADRM1*	185676^{D}	
Gga_rs318064141	21	3241843	24.91	*SLC2A5*	inside	
Gga_rs15224353	24	5255843	28.64	*ZPR1*	152008^{D}	
Gga_rs10725395	1	134720474	32.60	*LOC101750912*	90424^{U}	Unknown
Gga_rs14053468	13	5188463	21.46	*LOC101750661*	230069^{D}	function
Gga_rs317718030	13	5838653	34.67	*LOC107054490*	inside	
Gga_rs314739725	13	5310319	54.96	*LOC107054491*	inside	

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.4.10.6]



شکل ۱- نمودار منهتن برای پاسخ صفت ایمنی سلولی به تزریق دی نیتروکلرو بنزن با روش Bayes Cπ، محور y مقادیر log10(BF) و محور x نشان‌دهنده‌ی توزیع SNPها در سطح ژنوم است که با شماره کروموزم‌ها مشخص شده‌است. آستانه معنی‌داری در سطح BF برابر با ۲۰ قرار داده شده‌است.

Dorshorst et al. (2011). در مطالعه بر روی یک جمعیت F2 از لگهورن، ۱۱ جایگاه موثر بر پاسخ آنتی‌بادی علیه SRBC که بر روی کروموزوم‌های ۱، ۲، ۳، ۵، ۷، ۱۱، ۱۶ و ۲۴ قرار داشتند را شناسایی کردند. در این پژوهش نشانگرهای SNP قابل توجهی را برای پاسخ آنتی‌بادی بر روی کروموزوم شماره‌ی یک در فاصله‌ی ۱۳۶/۴–۴۸/۱ Mb به‌دست آوردند. همپوشانی نتایج حاصل از این مطالعه و پژوهش حاضر برای کروموزوم یک که در فاصله‌ی ۱۳۵/۷–۳ Mb نشانگرهای قابل توجهی را نشان داد و هم‌چنین همپوشانی در دیگر جایگاه‌های معرفی شده (کروموزوم ۲، ۷ و۲۴) می‌تواند بر وجود یک QTL در منطقه‌ی ۱۳۶/۴–۳ Mb بر کروموزوم یک و هم‌چنین نقش دیگر کروموزوم‌ها در کنترل صفات ایمنی را نشان بدهد. اسامی نشانگرهای SNP معنی‌دار در روش بیزین همراه با نزدیک‌ترین ژن‌های آن‌ها در جدول ۱ گزارش شده‌است.

همان‌طورکه قبلا گفته شد اهمیت اجزای سیستم ایمنی سلولی از جمله سلول‌های T در ایجاد پاسخ ایمنی مناسب با استفاده از هدایت سیگنال و درنتیجه مقاوم کردن سلول‌ها در برابر آنتی‌ژن‌های خارجی بسیار مهم می‌باشد. عملکرد ژن‌های *NCK2* و *LRRTM4* که به‌ترتیب بر روی کروموزوم ۱ و ۲۲ قرار دارند، تشکیل سیناپس ایمنولوژیکی، هدایت سیگنال و فعال‌سازی سلول‌های T می‌باشد (Siddiqui et al. 2013; Gil et al. 2002). نمایش اولیه از اتصال آنتی‌ژن خاص از سلول‌های T تشکیل ارتباط خاصی را به‌نام سیناپس ایمنولوژیکی می‌دهد، سیناپس ایمنی بر اساس یک الگوی خاصی از گیرنده‌های تفکیک شده با گیرنده‌های آنتی ژن سلول‌های T است که توسط مولکول‌های خانواده‌ی اینتگرین احاطه شده‌است (Monks et al. 1998). تشکیل سیناپس ایمنولوژیکی به سلول‌های T اجازه می‌دهد به‌صورت بالقوه لیگاندهای آنتی ژنیک را تشخیص دهند. نقشی که ژن‌های *NCK2* و *LRRTM4* در ایجاد ایمنی سلولی دارند بسیار مهم و قابل توجه است چراکه مهم‌ترین گام در ایجاد ایمنی اتصال سلول‌های T به آنتی‌ژن و به این طریق از بین بردن آن می‌باشد. ژن *CAMK1D* در ارتباط با سه SNP معنی‌دار بر روی کروموزوم یک قرار دارد که تفرق و تکامل نئوتروفیل‌ها را تنظیم می‌کند (Gaines et al. 2008). مهار این ژن در انسان باعث کاهش فاگوسیتوز، مهار تولید ROS[1]، اختلال در مهاجرت نئوتروفیل‌ها و پیوندهای بین مولکولی حاصل از اینتگرین بتا ۲ شده‌است (Verploegen et al. 2005). نئوتروفیل‌های فعال شده، سیتوکین‌ها و کموکین‌هایی را تولید می‌کنند که این سلول‌ها به نوبه‌ی خود پاسخ التهابی سایر سلول‌ها مثل ماکروفاژها و سایر نئوتروفیل‌ها را تنظیم می‌کنند.

[1] Reactive Oxygen Species (ROS)

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.4.10.6]

ژن‌های *MKNKI* و *SULF2* که به‌ترتیب بر روی کروموزوم‌های ۸ و ۲۰ قرار دارند به‌عنوان گیرنده‌های قوی برای فاکتورهای رشد متصل به هپارین و هم‌چنین سیتوکین‌ها می‌باشند و باعث رسیدن و دریافت سیگنال توسط سلول‌ها و هم‌چنین ایجاد پاسخ به استرس‌های محیطی می‌شود (Dai et al. 2005 ; Fukunaga and Hunter 1997). جهش در ژن *DUSP14* که بر روی کروموزوم ۱۹ قرار دارد، باعث کاهش ایمنی از طریق کاهش سنتز سلول‌های T و سیتوکینین، که سلول‌های اصلی درگیر در ایمنی هستند و همچنین غیر فعال شدن مولکول‌های سیگنالی در سلول می‌شود (Hijikata et al. 2016) از میان انواع مختلف سلول‌های T؛ سلول‌های T کشنده و سلول‌های T کمکی اهمیت بیشتری دارند. سلول‌های کشنده‌ی T، سلول‌های عفونی را از بین می‌برند و سلول‌های کمکی T، سایر سلول‌های ایمنی را فعال می‌کنند همچنین عملکرد ژن‌هایی که به صورت غیر مستقیم در کنترل صفات ایمنی دخالت دارند، بسیار مهم و قابل توجه می‌باشد. ژن *SFMBT* که بر روی کروموزوم ۱ قرار دارد، میکرو آر ان ای *miR-466a-3p* را کد می‌کند و ارتباط نزدیکی با اغلب miRNA ها که در پاسخ به محرک‌های محیطی بیان می‌شوند دارد. این ژن ترجمه miRNAهایی را سبب می‌شود که در ایجاد پاسخ هایپرتونیک در مقابل استرس سلولی فعال می‌شوند و باعث حفظ و ایمنی سلول می‌شوند (Luo et al. 2014) miRNAها قطعات ۲۴–۲۰ نوکلئوتیدی از مناطق غیر کدشونده‌ی RNA هستند.

ژن *OPN3* که بر روی کروموزوم ۳ نقشی را در پاسخ به محرک نوری در مغز به‌عهده داشته و همچنین در تشخیص محرک نور و تنظیم ریتم شبانه‌روزی دخالت دارد. اهمیت بیان ریتم شبانه‌روزی در واقع در اجزای ایمنی ذاتی است که باعث شروع التهاب می‌شود (Silver et al. 2012; Keller et al. 2009). پارامترهای کلیدی در سیستم ایمنی در ریتم شبانه‌روزی شامل سلول‌های خونساز، هومون‌ها و سیتوکین‌ها هستند (Haus and Smolensky 1999). سیتوکین‌ها دسته‌ای از پروتیین‌های محلول در آب هستند که توسط ژن‌های سلول‌های دستگاه ایمنی بیان می‌شوند. این سلول‌ها پاسخ التهابی سایر سلول‌ها مثل ماکروفاژها، سلول‌های T و سایر نئوتروفیل‌ها را تنظیم می‌کنند. ژن *ERI1* که بر روی کروموزوم ٤ قرار دارد، دارای نقش تنظیم‌کنندگی در RNAi است. این دسته از RNAها جزیی از سیستم ایمنی ژنتیکی هستند و در مقابل سدهای نوکلوئیک ویروسی مقابله می‌کند (Thomas et al. 2014). ژن *CPT2* که روی کروموزوم ۸ قرار دارد در بتا اکسیداسیون اسیدهای چرب که بخشی از متابولیسم اسیدهای چرب است، دخالت دارد و همچنین پروتیین‌هایی که توسط این ژن کد می‌شوند تماما در بتا اکسیداسیون اسیدهای چرب و متابولیسم لیپید و هم‌چنین مسیر کارنیتین شاتل دخالت دارد. از طرف دیگر سنتز اسیدهای چرب در طی فرآیندهای التهابی باعث تولید سیتوکین‌ها و در نتیجه پاسخ ایمنی و التهاب می‌شود و اکسیداسیون این اسیدهای چرب در هنگام مواجهه مجدد عامل بیماری‌زا با سلول‌های T خاطره موجب سرکوب شدن پاسخ ایمنی و افزایش طول عمر سلول می‌شود (O'Neill et al. 2016). بیان ژن *RBFOX1* که روی کروموزوم ١٤ قرار دارد، باعث تنظیم قطعات جایگزین از اگزون‌های بافت‌های خاصی به‌هم می‌شود. نشان داده شده‌است که این ژن بیش‌تر در طول فرآیند اریتروپویزیس (تولید گلبول قرمز خون) فعالیت دارد (Ponthier et al. 2006). گویچه سرخ، گلبول قرمز یا اریتروسیت متداول‌ترین نوع یاخته‌های خونی است و در بدن مهره‌داران، نقش اصلی رساندن اکسیژن را، از شش‌ها یا آبشش‌ها به بافت‌ها، ایفا می‌کند. در پژوهشی مشخص شد که سطح گلبول‌های قرمز خون را ایمنوگلوبولین‌ها پوشش می‌دهند و دیده شده‌است که بعد از تزریق خون به بیمارانی که بیماری آنمی دارند سطح پلاکت در خون آن‌ها بالا رفته است (Salama et al. 1983).

نتیجه‌گیری

در این پژوهش ۲۸ نشانگر با استفاده از روش بیزین، که در سطح بیز فاکتور بین ۲۰و ۱۵۰ قرار داشتند، که این حالت نشان‌دهنده‌ی ارتباط قوی با صفت ایمنی است، معنی‌دار بودند. اگرچه وراثت‌پذیری پایین صفات ایمنی تاحدی روش Bayes Cπ را تحت تاثیر قرار داد، اما این روش حتی با این وجود پراکندگی اثرات نشانگر SNPها را به‌خوبی نشان داد در نتیجه می‌توان این روش را برای پویش ژنومی در صفات ایمنی و صفاتی مشابه (به لحاظ وراثت‌پذیری) مورد تایید قرار داد. تعداد نشانگرهای معنی‌دار مشخص شده ۱۱ جایگاه را برای کنترل صفت ایمنی معرفی می‌کنند. با توجه به نقش کلیدی ژن‌های ذکر شده در ایجاد

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.4.10.6]

پاسخ ایمنی سلولی، می توان کارایی روش BayesCπ برای پویش ژنومی صفاتی با وراثت‌پذیری پایین را نیز مورد تایید قرار داد.

تشکر و قدردانی

از آقای دکتر مسعودی، خانم دکتر امامقلی و آقایان کیانی، مقصودی، جوان‌روح، عمرانی، دیده‌بان، حیدری، رئیسی و محمودی در طراحی آزمایش و جمع‌آوری داده‌ها و و هم‌چنین از آقای مهندس علی‌اکبری به‌جهت همکاری در تجزیه و تحلیل داده‌ها و آقای اسدالهی، خانم عسگری، فرهوش، شریعتی تشکر می‌شود. از پروفسور یوست یونسن از دانشگاه آرهوس دانمارک به‌جهت همکاری در تعیین ژنوتیپ‌ها و از کنسرسوم کاب‌ونترس به‌جهت در اختیار قرار دادن چیپ تجاری قدردانی می‌شود.

منابع

Baneh H (2015) Comparison of accuracy of some Bayesian methods in different strategies of genomic evaluation of threshold traits. Dissertation, University of Sari Agricultural Sciences and Natural Resources. (In Farsi).

Biscarini F, Bovenhuis H, Van Arendonk J, Parmentier H, Jungerius A, Van Der Poel J (2010) Across-line SNP association study of innate and adaptive immune response in laying hens. Animal Genetics 41:26-38.

Dorshorst B, Siegel P, Ashwell C (2011). Genomic regions associated with antibody response to sheep red blood cells in the chicken. Animal Genetics 42:300-08

Costa RB, Camargo GM, Diaz ID, Irano N, Dias MM, Carvalheiro R, Boligon AA, Baldi F, Oliveira HN, Tonhati H (2015) Genome-wide association study of reproductive traits in Nellore heifers using Bayesian inference. Genetics Selection Evolution 47:1.

Dai Y, Yang Y, MacLeod V, Yue X, Rapraeger AC, Shriver Z, Venkataraman G, Sasisekharan R, Sanderson RD (2005) HSulf-1 and HSulf-2 are potent inhibitors of myeloma tumor growth in vivo. Journal of Biological Chemistry 280:40066-73.

Fukunaga R, Hunter T (1997) MNK1, a new MAP kinase-activated protein kinase, isolated by a novel expression screening method for identifying protein kinase substrates. The EMBO Journal 16:1921-33.

Gaines P, Lamoureux J, Marisetty A, Chi J Berliner N (2008) A cascade of Ca^{2+}/calmodulin-dependent protein kinases regulates the differentiation and functional activation of murine neutrophils. Experimental Hematology 36:832-44

Gianola D, de los Campos G, Hill WG, Manfredi E, Fernando R (2009) Additive genetic variability and the Bayesian alphabet. Genetics 183:347-63.

Gil D, Schamel WW, Montoya MA, Sánchez-Madrid F, Alarcón B (2002) Recruitment of Nck by CD3ϵ reveals a ligand-induced conformational change essential for T cell receptor signaling and synapse formation. Cell 109:901-12.

Habier D, Fernando RL, Kizilkaya K, Garrick DJ (2011) Extension of the Bayesian alphabet for genomic selection. BMC Bioinformatics 12:1.

Haus E, Smolensky MH (1999) Biologic rhythms in the immune system. Chronobiology International 16:581-622.

Hayes B, Goddard M (2001) Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. Genetics 157:1819-29.

Hijikata M, Matsushita I, Le Hang N, Thuong P, Tam D, Maeda S, Sakurada S, Cuong V, Lien L, Keicho N (2016) Influence of the polymorphism of the DUSP14 gene on the expression of immune-related genes and development of pulmonary tuberculosis. Genes and Immunity 17: 207-12.

Johnson VE (2013) Revised standards for statistical evidence. Proceedings of the National Academy of Sciences 110:19313-17.

Kass RE, Raftery AE (1995) Bayes factors. Journal of the American Statistical Association 90:773-95.

Keller M, Mazuch J, Abraham U, Eom GD, Herzog ED, Volk HD, Kramer A, Maier B (2009). A circadian clock in macrophages controls inflammatory immune responses. Proceedings of the National Academy of Sciences 106:21407-12

Lin R, Yin G (2015) Bayes factor and posterior probability: Complementary statistical evidence to p-value. contemporary clinical trials 44:33-35.

Luo Y, Liu Y, Liu M, Wei J, Zhang Y, Hou J, Huang W, Wang T, Li X, He Y (2014) Sfmbt2 10th intron-hosted miR-466 (a/e)-3p are important epigenetic regulators of Nfat5 signaling, osmoregulation and urine concentration in mice. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Regulatory Mechanisms 1839:97-106

Maghsoudi A (2014) Study of some immune characteristics of Iranian naïve and high productive fowls and their crosses. Dissertation, University of Taebiat Modares (In Farsi).

Monks CR, Freiberg BA, Kupfer H, Sciaky N, Kupfer A (1998). Three-dimensional segregation of supramolecular activation clusters in T cells. Nature 395: 82-86.

O'Neill LA, Kishton RJ, Rathmell J (2016) A guide to immunometabolism for immunologists. Nature Reviews Immunology 16:553-565

Peters S, Kizilkaya K, Garrick D, Fernando R, Reecy J, Weaber R, Silver G, Thomas M (2012) Bayesian genome-wide association analysis of growth and yearling

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.4.10.6]

ultrasound measures of carcass traits in Brangus heifers. Journal of Animal Science 90:3398-409.
Ponthier JL, Schluepen C, Chen W, Lersch RA, Gee SL, Hou VC, Lo AJ, Short SA, Chasis JA, Winkelmann JC (2006) Fox-2 splicing factor binds to a conserved intron motif to promote inclusion of protein 4.1 R alternative exon 16. Journal of Biological Chemistry 281:12468-74.
Raeesi V, Ehsani A, Torshizi R, Sargolzaei M, Masoudi A and Dideban R (2017) Genome-wide association study of cell-mediated immune response in chicken. Journal of Animal Breeding and Genetics doi: 10.1111. 405-411.
Risch N, Merikangas K (1996) The future of genetic studies of complex human diseases. Science 273:1516-17.
Sahana G, Guldbrandtsen B, Janss L, Lund MS (2010) Comparison of association mapping methods in a complex pedigreed population. Genetic Epidemiology 34:455-62.
Salama A, Mueller-Eckhardt C, Kiefel V (1983) Effect of intravenous immunoglobulin in immune thrombocytopenia: Competitive inhibition of reticuloendothelial system function by sequestration of autologous red blood cells. The Lancet 322:193-95.
Sham PC and Purcell SM (2014) Statistical power and significance testing in large-scale genetic studies. Nature Reviews Genetics 15:335-46.
Siddiqui TJ, Tari PK, Connor SA, Zhang P, Dobie FA, She K, Kawabe H, Wang YT, Brose N, Craig AM (2013) An LRRTM4-HSPG complex mediates excitatory synapse development on dentate gyrus granule cells. Neuron 79:680-95.
Silver AC, Arjona A, Walker WE, Fikrig E (2012) The circadian clock controls toll-like receptor 9-mediated innate and adaptive immunity. Immunity 36:251-61.
Thomas MF, Noelle D, Ansel KM (2014) Eri1: a conserved enzyme at the crossroads of multiple RNA-processing pathways. Trends in Genetics 30:298-307.
Van den Berg I, Fritz S, Boichard D (2013) QTL fine mapping with Bayes C (π): a simulation study. Genetics Selection Evolution 45:1.
Varona L (2010) Understanding the use of Bayes factor for testing candidate genes. Journal of Animal Breeding and Genetics 127:16-25.
Verma J, Johri T, Swain B, Ameena S (2004) Effect of graded levels of aflatoxin, ochratoxin and their combinations on the performance and immune response of broilers. British Poultry Science 45:512-18.
Verploegen S, Ulfman L, van Deutekom HW, van Aalst C, Honing H, Lammers J-WJ, Koenderman L, Coffer PJ (2005) Characterization of the role of CaMKI-like kinase (CKLiK) in human granulocyte function. Blood 106:1076-83.
Wolfsberg TG (2010) Using the NCBI map viewer to browse genomic sequence data. Current Protocols in Bioinformatics 1.5. 1-1.5. 25.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.4.10.6]