

فرا تحلیل پویش کل ژنوم برای شناسایی شبکه‌های ژنی مرتبط با رشد در گاوهای گوشتی

Genome-wide association meta-analysis for identifying gene networks associated with growth in beef cattle

احسان معظمی^۱، علی اسمعیلی زاده^{۱*}، محمدرضا محمدآبادی^۱، ایمان معظمی^۱

۱- به ترتیب دانشجوی دکتری، استاد، دانشجو دکتری، بخش علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه
شهید باهنر، کرمان، ایران

Moazami E¹, Esmailizadeh A^{*1}, Mohammadabadi M¹, Moazami I¹

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

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

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۹/۲۱ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۵/۳۰)

چکیده

صفت رشد در گاوهای گوشتی یکی از مهم‌ترین شاخص‌های اقتصادی در صنعت دامپروری است که تحت کنترل شبکه‌ای پیچیده از ژن‌ها قرار دارد. هدف این مطالعه، شناسایی نواحی ژنومی کلیدی و شبکه‌های ژنی مرتبط با رشد در گاوهای گوشتی با استفاده از رویکرد فرا تحلیل داده‌های پویش کل ژنوم بود. در این پژوهش، داده‌های ژنومی از ۶ مطالعه منتشر شده بین سال‌های ۲۰۱۰ تا ۲۰۲۵ استخراج و با استفاده از روش آماری استوفر تحلیل ترکیبی انجام شد. نژادهای مورد بررسی شامل Charolais، Hereford، Angus، Simmental و سایر نژادهای گوشتی از کشورهای چین، روسیه، ایالات متحده، کانادا و برزیل بودند. نتایج فرا تحلیل نشان داد که کروموزوم‌های ۲، ۴، ۱۱، ۲۱، ۲۴ و ۲۷ دارای بالاترین سیگنال‌های معنی‌دار هستند، به‌طوری‌که بیشترین مقدار $-\log_{10}(p)$ در کروموزوم ۲۴ با مقدار ۲۷/۶۲ ثبت شد. تحلیل شبکه تعاملی پروتئین‌ها در پایگاه STRING منجر به شناسایی ۴ خوشه عملکردی اصلی شامل: متابولیسم و انرژی، تنظیم سلولی و سیگنال‌دهی، تنظیم رونویسی، و سیستم عصبی-عضلانی شد. ژن‌های محوری کلیدی شامل *DPP6*، *GALNTL6*، *ABCG5* و *SLC27A6*، *ALDH7A1*، *KCNIP4* و *ABCG5* شناسایی شدند که نقش تنظیمی مهمی در کنترل رشد عضلانی و متابولیسم دارند. شبکه ژنی شناسایی شده از الگوی بدون مقیاس تبعیت می‌کند و دارای تراکم متوسط و ضریب خوشه‌بندی بالا است که نشان‌دهنده سازماندهی ماژولار و کارآمدی انتقال سیگنال است. این فرا تحلیل توانست قدرت آماری را نسبت به مطالعات منفرد افزایش دهد و نواحی ژنومی جدیدی را که قبلاً شناسایی نشده بودند، آشکار کند. یافته‌های این مطالعه می‌تواند در برنامه‌های اصلاح نژاد مبتنی بر ژنومیک و انتخاب کمکی برای بهبود صفت رشد در گاوهای گوشتی مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی

پویش کل ژنوم (GWAS)
رشد
شبکه‌های ژنی
فرا تحلیل
گاو گوشتی

مقدمه

از آغاز حیات بشری، مسائل مربوط به تغذیه و خوراک همواره از دغدغه‌های اساسی انسان بوده است (Eghtedari et al. 2024). موضوع خوراک و تأمین مواد غذایی از جمله دغدغه‌های بنیادینی است که ذهن بشر را درگیر خود کرده و با اینکه انسان در دوران معاصر توانسته در بخش‌های گوناگون زندگی دستاوردهای قابل توجهی کسب کند، هنوز هم مبحث تأمین غذا و تغذیه از منظر اقتصادی و اجتماعی در اولویت‌های اصلی جوامع بشری قرار دارد (Eghtedari et al. 2025). صنعت دامپروری در ساختار اقتصادی هر کشوری جزو مهم‌ترین بخش‌های اقتصادی به حساب می‌آید و از اهمیت خاصی برخوردار است. دامداری فعالیتی بسیار پرسود بوده و ابزاری برای رونق اقتصادی کشورها محسوب می‌شود. اکثریت مردم جهان به فعالیت‌های دامپروری مشغول هستند و از فرآورده‌های آن بهره‌مند می‌شوند. ضمن اینکه، صنعت گاوداری نیز جایگاه مهمی دارد (Eghtedari et al. 2024). رشد یکی از مهم‌ترین صفات اقتصادی در گاوهای گوشتی است که تأثیر مستقیمی بر بهره‌وری و سودآوری صنعت دامپروری دارد (Berry et al. 2021). این صفت پیچیده تحت تأثیر عوامل متعدد ژنتیکی و محیطی قرار دارد و درک معماری ژنتیکی آن برای بهبود کارایی برنامه‌های اصلاح نژاد ضروری است (Hay & Roberts 2018). در دهه‌های اخیر، پیشرفت‌های چشمگیر در فناوری‌های ژنومیک، به‌ویژه مطالعات پویش کل ژنوم (Genome-Wide Association Studies; GWAS)، فرصت‌های بی‌سابقه‌ای را برای شناسایی مکان‌های ژنی و ژن‌های مرتبط با صفات کمی فراهم کرده است (Visscher et al. 2017).

مطالعات GWAS با استفاده از نشانگرهای تک نوکلئوتیدی پلی‌مورفسم (Single Nucleotide Polymorphisms; SNPs)، امکان بررسی همزمان میلیون‌ها موقعیت ژنومی را فراهم می‌کنند و به شناسایی ارتباط بین واریانت‌های ژنتیکی و فنوتیپ‌های مورد نظر کمک می‌کنند (Bush & Moore 2012). در گاوهای گوشتی، مطالعات متعددی با استفاده از این رویکرد، ژن‌ها و مسیرهای بیولوژیکی مرتبط با صفات رشد را شناسایی کرده‌اند (Bolormaa et al. 2014; Purfield et al. 2015). با وجود موفقیت‌های قابل توجه مطالعات GWAS، یافته‌های این پژوهش‌ها اغلب با

چالش‌هایی همچون اندازه نمونه محدود، ناهمگونی جمعیت‌ها، و تفاوت در روش‌های آماری مواجه هستند که منجر به ناسازگاری در نتایج می‌شود (Ioannidis et al. 2001). همچنین، بسیاری از واریانت‌های ژنتیکی با اثرات کوچک ممکن است در مطالعات منفرد شناسایی نشوند (Manolio et al. 2009). فراتحلیل (Meta-analysis) به‌عنوان یک روش آماری قدرتمند، با ترکیب و تحلیل یکپارچه داده‌های متعدد مطالعات مستقل، توان آماری را افزایش داده و امکان شناسایی دقیق‌تر نواحی ژنومی و ژن‌های مرتبط را فراهم می‌آورد (Evangelou & Ioannidis 2013). شناسایی ژن‌های کاندید تنها گام اول در درک معماری ژنتیکی صفات پیچیده است. برای فهم عمیق‌تر مکانیسم‌های بیولوژیکی، تحلیل شبکه‌های تعاملی ژن‌ها (Gene Networks) و مسیرهای مولکولی ضروری است (Barabási et al. 2011). رویکردهای بیوانفورماتیک و زیست‌شناسی سیستمی امکان شناسایی ژن‌های محوری (Hub Genes)، ماژول‌های عملکردی، و مسیرهای متابولیکی کلیدی را فراهم می‌کنند که نقش مهمی در تنظیم فرآیندهای رشد ایفا می‌کنند (Reverter & Chan 2008; Fang et al. 2018). هدف از این مطالعه، انجام فراتحلیل جامع بر روی مطالعات GWAS منتشر شده در زمینه صفات رشد گاوهای گوشتی است تا با افزایش قدرت آماری، ژن‌ها و نواحی ژنومی مهم را با دقت بالاتری شناسایی کرده و از طریق تحلیل‌های زیست‌شناسی سیستمی، شبکه‌های ژنی و مسیرهای بیولوژیکی مرتبط با رشد را مشخص کنیم.

مواد و روش‌ها

گردآوری و گزینش داده‌ها

در تحقیق حاضر، جهت کشف نواحی ژنومی تأثیرگذار بر صفت رشد در گاوهای گوشتی، رویکرد متاآنالیزی با استفاده از داده‌های ژنومی برگرفته از پژوهش‌های پیشین مورد استفاده قرار گرفت. در آغاز، جستجوی فراگیری در بانک‌های اطلاعاتی علمی معتبر شامل Google Scholar، PubMed، Scopus، Web of Science کاربرد واژگان کلیدی مرتبط نظیر ("meat quality"، "growth"، "GWAS"، "beef cattle") صورت پذیرفت. ۹ مطالعه از صفت رشد یافت شد و ملاک‌های پذیرش در مطالعه شامل مقالات بنیادین

value بود. در نهایت ۶ مطالعه برای این صفت مورد بررسی قرار گرفت، همچنین لیست کشورهایی که در مورد این نژادها تحقیقات انجام داده‌اند، در جدول ۱ آورده شده است.

منتشر شده در محدوده زمانی ۲۰۱۰ تا ۲۰۲۵؛ تأکید بر نژادهای متنوع گاوهای گوشتی؛ ارائه ارتباط میان چندشکلی‌های تک‌نوکلئوتیدی (SNP) و ویژگی‌های اقتصادی مرتبط با رشد، و ارائه اطلاعات دقیق مانند اندازه نمونه، جایگاه ژنومی و مقادیر p-

جدول ۱- خلاصه کشورها و نژادهای مورد بررسی در مطالعه مرتبط با صفت رشد در گاوهای گوشتی

کشور	نژاد	منبع
China	Huaxi (Simmental + Charolais + Sanhe + Mongolian)	Liu et al. (2025)
Russia	Hereford	Kolpakov et al. (2025)
United States	Hereford	Seabury et al. (2017)
United States	SimAngus (Simmental + Angus)	Seabury et al. (2017)
United States	Angus	Seabury et al. (2017)
Canada	multi-breed (Angus, Charolais, Hereford, Simmental, Limousine, ...)	Akanno et al. (2018)
Canada	multi-breed (Angus, Charolais, Piedmontese, Simmental, Limousine, ...)	Abo-Ismael et al. (2014)
Brazil	Canchim (Charolais + Zebu)	Buzanskas et al. (2014)

داده‌های استاندارد شده براساس شماره کروموزوم و به دنبال آن براساس موقعیت ژنومی مرتب‌سازی شدند. برای شناسایی نواحی ژنومی که دارای تراکم بالایی از SNPهای معنی‌دار بودند، محدوده‌های ژنومی بر پایه نزدیکی فیزیکی SNPها و همسانی در مقادیر معنی‌داری تعریف شدند. SNPهایی که فاصله آن‌ها کمتر از ۵۰۰۰ کیلوباز بود، در یک محدوده واحد دسته‌بندی شدند. برای هر محدوده، موقعیت شروع و پایان محدوده ژنومی، تعداد SNPهای واقع در محدوده، میانگین سطح معنی‌داری برای SNPهای درون محدوده ثبت شد.

ادغام آماری یافته‌ها و فرا تحلیل

به‌منظور افزایش قدرت آماری تحلیل، سطوح معنی‌داری هر محدوده ژنومی با استفاده از دو روش متاآنالیزی فیشر (Fisher's method) و استوفر (Stouffer's method) در محیط نرم‌افزار R (نسخه ۴.۳.۱) ادغام شدند (Hong & Park 2012). روش فیشر: مسیرهای عملکردی که حاوی ژن‌های معنی‌دار بودند با استفاده از رابطه زیر تحلیل شدند.

$$p_value = 1 - \sum_{i=1}^{k-1} \frac{\binom{s}{i} - \binom{N-s}{m-i}}{\binom{N}{m}} \quad \text{رابطه (۱)}$$

در این رابطه، k نشان‌دهنده تعداد ژن‌های معنی‌دار در دسته عملکردی، S برابر با مجموع ژن‌های معنی‌دار مرتبط با صفت، N معرف کل ژن‌های تحلیل شده در این پژوهش و m بیانگر تعداد کل ژن‌های موجود در مسیر عملکردی است. تحلیل غنی‌سازی

فرآیند استخراج و یکپارچه‌سازی داده‌ها

پس از تکمیل مرحله غربالگری و انتخاب مطالعات مرتبط، داده‌های اصلی از مقالات منتخب جمع‌آوری شدند. این داده‌ها شامل مشخصات صفت مورد بررسی، شناسه‌های SNP، موقعیت کروموزومی، جایگاه دقیق بر روی ژنوم، تعداد نمونه‌های آماری، ژن‌های پیشنهادی و سطوح معنی‌داری آماری بودند. ثبت منظم این اطلاعات در قالب جدول استاندارد با بهره‌گیری از نرم‌افزار Microsoft Excel صورت گرفت. در مواردی که داده‌های کمی به‌صورت مستقیم در متن ارائه نشده و تنها در قالب نمودار موجود بود، از ابزار WebPlotDigitizer نسخه (۴/۶) برای بازیابی دقیق مقادیر عددی استفاده شد.

جهت اطمینان از قابلیت مقایسه‌پذیری و دقت تحلیل‌های بعدی، داده‌های جمع‌آوری شده تحت فرآیند یکپارچه‌سازی قرار گرفتند. در این مرحله، موقعیت‌های ژنومی به نسخه مرجع UMD3.1 گاو تبدیل شدند، نامگذاری صفات به‌صورت یکنواخت استانداردسازی شد تا از تناقضات احتمالی پیشگیری شود، و در مواردی که سطح معنی‌داری به‌صورت $-\log_{10}(p\text{-value})$ گزارش شده بود، مقادیر اصلی p-value بازمحاسبه شدند. داده‌هایی که فاقد اطلاعات کامل بودند یا امکان استانداردسازی آن‌ها وجود نداشت (نظیر موقعیت ژنومی نامشخص یا حجم نمونه گزارش نشده) از مجموعه داده حذف شدند تا یکپارچگی و کیفیت داده‌های ورودی تضمین شود.

سامان‌دهی و گروه‌بندی داده‌های ژنومی

متاآنالیز را در افزایش حساسیت و شناسایی مناطق ژنومی جدید نشان داد.

ارزیابی پایداری نتایج

جهت بررسی استحکام یافته‌ها، تحلیل حساسیت با تغییر آستانه‌های معنی‌داری ۹ و $-\log_{10}(p\text{-value}) = 7$ و پارامترهای تعیین محدوده‌ها انجام گرفت. به‌منظور کاهش تأثیرات احتمالی عدم تعادل پیوستگی (LD) linkage disequilibrium و تفکیک دقیق‌تر مکان‌های QTL، SNP‌هایی که فاصله آن‌ها کمتر از ۵۰۰۰ کیلوباز بود و الگوی مشابهی از معنی‌داری را نشان می‌دادند، در محدوده‌های ژنومی یکسان دسته‌بندی شدند. این طبقه‌بندی تا حد قابل توجهی از تأثیر تجمع SNP‌های همبسته جلوگیری کرده و استنتاج‌های فراتحلیل را دقیق‌تر نمود. اگرچه حذف کامل SNP‌های با پیوستگی بالا به دلیل پیچیدگی‌های ساختاری ژنوم و محدودیت‌های داده‌های موجود میسر نبود، اما این رویکرد به‌عنوان یک اقدام مهم در کنترل اثر LD محسوب می‌شود. مطالعات آتی با بهره‌گیری از داده‌های توالی‌یابی کامل ژنوم و روش‌های پیشرفته‌تر کنترل LD می‌توانند به پیشرفت بیشتر در این حوزه منجر شوند. علاوه بر این، درصد افزایش قدرت آماری و میانگین افزایش مقدار $-\log_{10}(p\text{-value})$ نسبت به مطالعات منفرد محاسبه شد تا تأثیر فراتحلیل بر بهبود دقت نتایج ارزیابی شود.

نتایج و بحث

اهمیت صفت رشد و تحلیل شبکه هم‌بیانی ژن‌ها

صفت رشد در گاوهای گوشتی، به‌عنوان یکی از مهم‌ترین شاخص‌های اقتصادی در صنعت دامپروری، تحت کنترل شبکه‌ای پیچیده از ژن‌ها و مسیرهای بیولوژیکی قرار دارد (Seabury et al., 2017). این صفت که شامل وزن بدن، افزایش وزن روزانه و کارایی تبدیل خوراک است، نقش کلیدی در تعیین سودآوری تولید گوشت ایفا می‌کند. برای درک عمیق‌تر مکانیسم‌های مولکولی کنترل‌کننده رشد، تحلیل شبکه هم‌بیانی ژن‌ها (Gene Coexpression Network) به‌کار گرفته شد. این رویکرد سیستمی، برخلاف بررسی ژن‌های منفرد، امکان شناسایی تعاملات پیچیده ژنتیکی و ژن‌های محوری (Hub Genes) مرتبط با رشد را فراهم می‌کند (Widmann

مجموعه ژنی با کمک بسته goseq در R اجرا شد (Young et al., 2010).

روش استوفر: در این روش، سطوح معنی‌داری ژن‌های هر مسیر عملکردی به نمرات استاندارد Z تبدیل و سپس Z کلی مسیر از طریق معادله زیر محاسبه گردید:

$$Z_{combined} = \frac{\sum_{i=1}^k w_i Z_i}{\sqrt{\sum_{i=1}^k w_i^2}} \quad \text{رابطه ۲}$$

در این رابطه، Z_i معکوس تبدیل نرمال سطح معنی‌داری ژن w_i وزن اختصاص‌یافته به هر ژن (که معمولاً برابر ۱ در نظر گرفته می‌شود)، و k نشان‌دهنده تعداد ژن‌های موجود در مسیر عملکردی است. سطح معنی‌داری نهایی هر مسیر بر اساس مقدار Z ترکیبی و با استفاده از توزیع نرمال استاندارد به دست آمد:

$$p_{pathway} = 1 - \Phi Z_{combined} \quad \text{رابطه ۳}$$

که در آن Φ تابع توزیع تجمعی نرمال استاندارد نشان می‌دهد (Whitlock, 2005). نتایج این فرآیند شامل سطح معنی‌داری ترکیبی و مقدار $-\log_{10}(p\text{-value})$ برای هر روش بود. این رویکرد امکان کشف اثرات ژنتیکی جزئی را که در مطالعات جداگانه قابل شناسایی نبودند، فراهم ساخت.

بررسی ژن‌های کاندید و شبکه‌های تعاملی

ژن‌های کاندید واقع در محدوده‌های ژنومی با سطح معنی‌داری بالا شناسایی و فهرست‌بندی شدند. این ژن‌ها با استفاده از پایگاه داده STRING (نسخه ۱۲/۰) و با تمرکز بر گونه *Bos taurus* تحلیل شدند. در این تحلیل، تعاملات ژنی با حداقل امتیاز تعامل متوسط (medium confidence) بررسی شدند (Szkarczyk et al., 2025). این رویکرد به فهم عمیق‌تر شبکه‌های ژنی دخیل در فرآیند رشد کمک نمود.

نمایش بصری نتایج

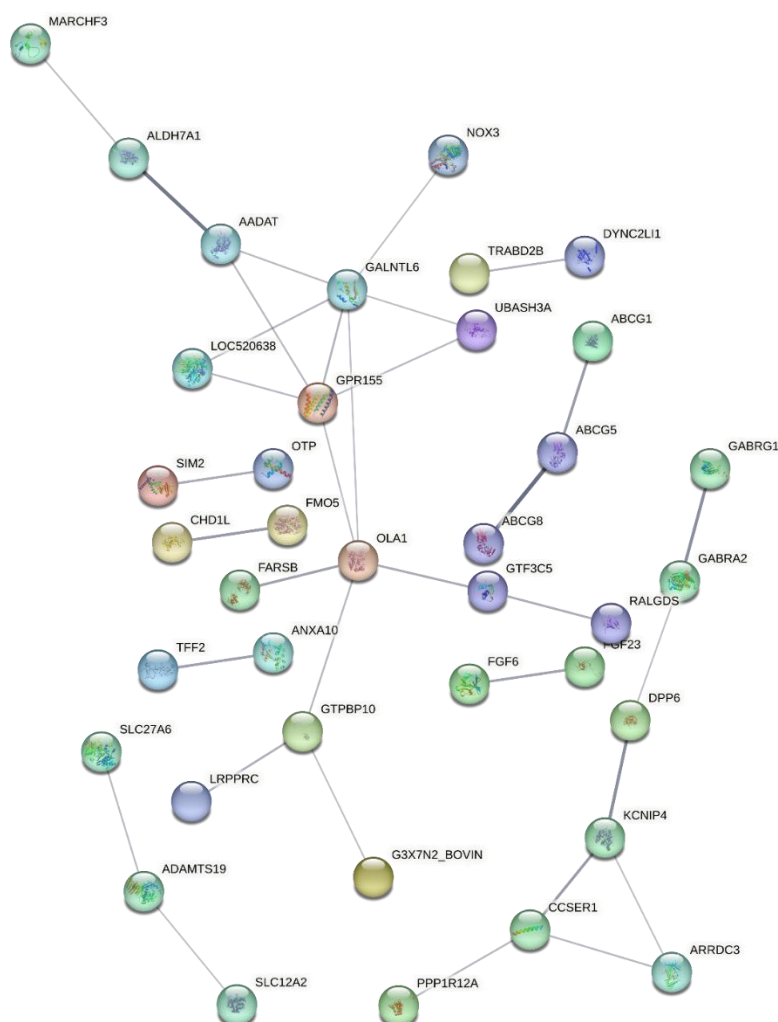
برای بصری‌سازی توزیع مناطق ژنومی معنی‌دار، نمودارهای منهن با استفاده از نرم‌افزار R (نسخه ۴.۳.۰) و بسته ggplot2 ترسیم شدند. این نمودارها مقادیر $-\log_{10}(p\text{-value})$ برای p-value‌های اصلی و ترکیبی به روش استوفر را در محور عمودی و جایگاه‌های ژنومی را در محور افقی نمایش دادند. خط آستانه معنی‌داری در مقدار $-\log_{10}(p\text{-value}) = 8$ تنظیم شد. مقایسه این نمودارها تأثیر

با متابولیسم و رشد سلولی عمل می‌کند (Bennett et al. 2012). ژن *DPP6* نیز به‌عنوان یکی دیگر از ژن‌های محوری شناسایی شد که در تنظیم کانال‌های پتاسیم وابسته به ولتاژ و سیگنال‌دهی عصبی - عضلانی نقش دارد و می‌تواند بر رشد عضلانی تأثیر بگذارد (Nadal et al. 2003). علاوه بر این، ژن *KCNIP4* که در خوشه سیگنال‌دهی سلولی قرار دارد، با ژن‌هایی نظیر *ARRDC3* و *CCSER1* تعامل دارد و در تنظیم کانال‌های یونی و انتقال سیگنال دخیل است (Rhodes et al. 2004). ژن *ABCG5* نیز در خوشه متابولیسم لیپید شناسایی شد که در انتقال استرول و متابولیسم کلسترول نقش کلیدی ایفا می‌کند و می‌تواند بر رشد و کارایی خوراک تأثیر بگذارد (Berge et al. 2000).

(et al. 2019). با استفاده از پایگاه داده STRING ([https://string-](https://string-db.org/cgi/input?sessionId=bSgHqoN1vHWp&input_page_active_form=multiple_id)db.org/cgi/input?sessionId=bSgHqoN1vHWp&input_page_active_form=multiple_id)، شبکه برهم‌کنش پروتئین‌های مرتبط با رشد رسم شد (شکل ۱).

ژن‌های محوری کلیدی

تحلیل شبکه هم‌بینایی منجر به شناسایی چندین ژن محوری کلیدی با نقش تنظیمی برجسته در کنترل رشد شد. ژن *GALNTL6* به‌عنوان یکی از ژن‌های محوری اصلی شبکه شناسایی شد که با تعداد زیادی از ژن‌ها، از جمله *GPR155*، *OLA1* و *AADAT*، تعامل مستقیم دارد. این ژن که در فرآیندهای گلیکوزیلاسیون پروتئین‌ها نقش دارد، به‌عنوان تنظیم‌کننده مرکزی در چندین مسیر بیولوژیکی مرتبط



شکل ۱- تحلیل ارتباطات پروتئینی و شبکه تعامل ژنی مرتبط با صفت رشد در گوشت گاو

خوشه‌های عملکردی ژن‌ها

تحلیل شبکه ژنی نشان داد که ژن‌های مرتبط با رشد در چهار خوشه عملکردی اصلی سازمان‌یافته‌اند که هر کدام مسئولیت‌های متمایزی در تنظیم این صفت دارند. خوشه متابولیسم و انرژی شامل ژن‌هایی مانند *ALDH7A1*, *SLC27A6* و *ABCG5* است که مستقیماً در فرآیندهای متابولیسم اسیدهای چرب، انتقال مواد مغذی و تولید انرژی دخیل هستند. این ژن‌ها نقش کلیدی در تأمین انرژی مورد نیاز برای رشد سریع بافت عضلانی و توسعه اسکلتی دارند (Liu et al. 2019). خوشه تنظیم سلولی و سیگنال‌دهی شامل ژن‌های *KCNIP4*, *DPP6*, *PPP1R12A* و *GALNTL6* است که در سیگنال‌دهی درون‌سلولی، تنظیم کانال‌های یونی و هماهنگی فعالیت‌های سلولی نقش دارند. این ژن‌ها برای تنظیم انقباض عضلانی، تمایز سلول‌های عضلانی و پاسخ به محرک‌های رشد ضروری هستند (Takimoto et al. 2002). خوشه تنظیم رونویسی و بیان ژن شامل ژن‌هایی نظیر *UBASH3A*, *TRABD2B* و *NOX3* است که در تنظیم بیان ژن، پردازش پروتئین‌ها و فرآیندهای پس از ترجمه دخیل‌اند. این خوشه کنترل‌کننده بیان ژن‌های هدف است که در مسیرهای رشد و توسعه نقش دارند (Carpten et al. 2007). خوشه سیستم عصبی-عضلانی و متابولیسم نوروترنسمیترها شامل ژن‌های *GABRG1*, *GABRA2* و *FGF6* است که در تنظیم سیناپس‌های عصبی-عضلانی، تعادل نوروترنسمیترها و سیگنال‌دهی رشد عضلانی نقش دارند. به‌ویژه، *FGF6* به‌عنوان یک فاکتور رشد فیروپلاستی، در تنظیم میوزن و ترمیم عضلات نقش مهمی دارد (deLapeyriere et al. 1993).

توپولوژی شبکه

ساختار شبکه ژنی از الگوی بدون مقیاس (Scale-Free) تبعیت می‌کند که مشخصه شبکه‌های بیولوژیکی پیچیده است. در این ساختار، تعداد محدودی از ژن‌ها مانند *DPP6*, *GALNTL6* و *KCNIP4* دارای اتصالات متعدد هستند و به‌عنوان ژن‌های محوری عمل می‌کنند، در حالی که اکثر ژن‌ها اتصالات کمتری دارند. این الگو، سازمان‌دهی سلسله‌مراتبی شبکه را نشان می‌دهد که در آن سیگنال‌ها از ژن‌های محوری به ژن‌های هدف از طریق آبشارهای تنظیمی منتقل می‌شوند. این ساختار، پایداری و انعطاف‌پذیری

شبکه را در پاسخ به تغییرات محیطی و فیزیولوژیکی تضمین می‌کند (Barabási & Oltvai 2004).

مفاهیم بیولوژیکی برای رشد

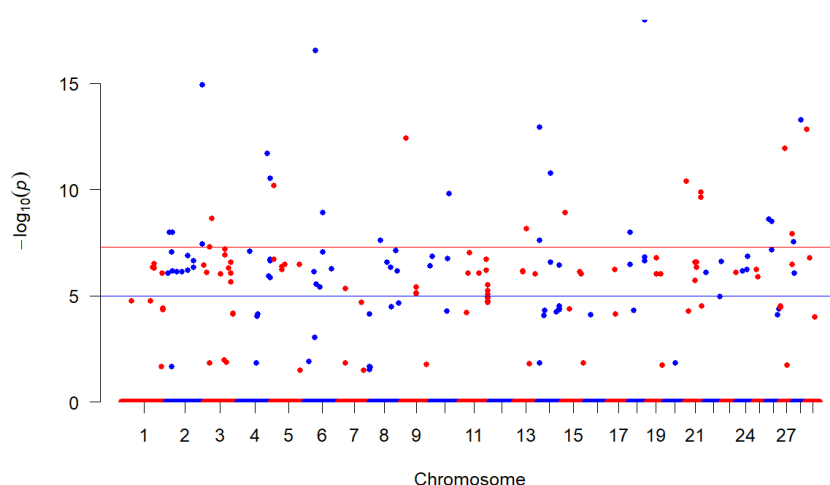
شبکه ژنی شناسایی شده، مکانیسم‌های مولکولی پیچیده‌ای را آشکار کرد که رشد در گاوهای گوشتی را تنظیم می‌کنند. مسیرهای سیگنال‌دهی رشد، که توسط این شبکه کنترل می‌شوند، توسعه و تمایز سلول‌های عضلانی را هدایت کرده و به افزایش توده عضلانی منجر می‌شوند. تنظیم متابولیک، که توسط ژن‌هایی مانند *ALDH7A1* و *SLC27A6* کنترل می‌شود، تعادل بین متابولیسم انرژی و رشد بافت را حفظ می‌کند که برای افزایش وزن مناسب ضروری است (Liu et al. 2019). همچنین، هماهنگی بین رشد عضلانی و توسعه اسکلتی توسط این شبکه تضمین می‌شود و به بهبود کارایی تبدیل خوراک کمک می‌کند (Seabury et al. 2017). خصوصیات آماری شبکه ژنی مورد مطالعه، ویژگی‌های ساختاری مهمی را نشان می‌دهد که عملکرد بیولوژیکی بهینه را تضمین می‌کند. تراکم متوسط شبکه، نشان‌دهنده تعاملات انتخابی و هدفمند بین ژن‌ها است که از تداخل غیرضروری جلوگیری می‌کند (Albert & Barabási 2002). این ویژگی با ضریب خوشه‌بندی بالای شبکه تقویت می‌شود که وجود ماژول‌های عملکردی مشخص را تأیید کرده و تنظیم مستقل فرآیندهای بیولوژیکی را ممکن می‌سازد (Ravasz et al. 2002). علاوه بر این، کوتاه بودن میانگین طول مسیرهای بین ژن‌ها، انتقال سریع و کارآمد سیگنال‌ها را در شبکه تضمین می‌کند که برای پاسخ‌دهی به موقع به تغییرات فیزیولوژیکی ضروری است (Watts & Strogatz 1998). بنابراین، این پارامترهای آماری در مجموع نشان‌دهنده ساختار شبکه‌ای هستند که قابلیت تنظیم دقیق و کارآمد فرآیندهای مرتبط با رشد را دارد.

تحلیل نمودارهای منهن

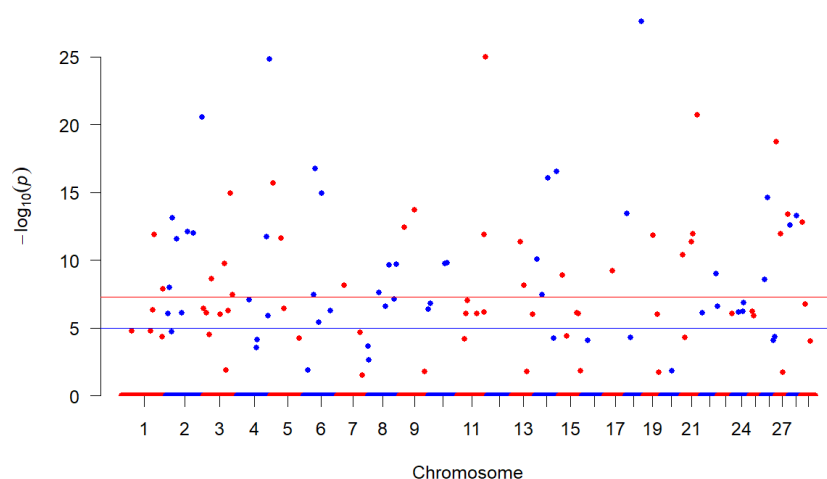
نمودارهای منهن (Manhattan Plots) به‌عنوان ابزاری کلیدی در پویش کل ژنوم (GWAS) برای نمایش نتایج آماری ژنوتایپینگ استفاده شدند. این نمودارها مقادیر $-\log_{10}(p)$ را در برابر موقعیت‌های کروموزومی نشان می‌دهند، به‌طوری که نقاط بالاتر،

نشان‌دهنده ارتباطات آماری قوی‌تر هستند. خط آستانه معنی‌داری در سطح $p < 10^{-8}$ تعریف شد (شکل ۲). در شکل ۲، الگوی توزیع مشخصی از سیگنال‌های معنی‌دار مشاهده شد. بیشترین سیگنال‌های معنی‌دار در کروموزوم‌های ۲، ۴، ۱۴، ۲۷ و ۲۸ با مقادیر $-\log_{10}(p)$ در محدوده ۱۰ تا ۱۵ قرار داشتند. کروموزوم ۱۸ نیز پیک قابل توجهی با مقدار تقریبی $-\log_{10}(p) = ۱۸$ نشان داد. اکثر کروموزوم‌ها دارای نقاط پراکنده‌ای بودند و بیشترین تجمع داده‌ها بین خط آستانه پیشنهادی (خط آبی) و خط آستانه

معنی‌داری (خط قرمز) قرار داشتند، در حالی که کروموزوم‌های ۳، ۸، ۱۰ و ۲۱ سیگنال‌های متوسطی در محدوده $-\log_{10}(p) = ۶-۱۰$ نشان دادند. تحلیل ترکیبی (فرا تحلیل) در شکل ۳ تفاوت‌های چشمگیری را نسبت به شکل ۲ نشان داد. در این تحلیل، پیک‌های قوی‌تری مشاهده شد که بالاترین آن‌ها در کروموزوم ۲۴ با مقدار $-\log_{10}(p) = ۲۷/۶۲$ ثبت شد. کروموزوم‌های ۲، ۴، ۱۱، ۲۱ و ۲۷ نیز پیک‌های معنی‌داری در محدوده $-\log_{10}(p) = ۲۰-۲۵$ ارائه دادند.



شکل ۲- منتهن پلات نتایج $-\log_{10}(p)$ های گزارش شده از مطالعات قبلی



شکل ۳- نمودار منتهن نتایج تحلیل ترکیبی فرا تحلیل

جدول ۲ خلاصه‌ای از موقعیت‌های ژنومی معنی‌دار مرتبط با رشد را ارائه می‌دهد که از طریق تحلیل آماری روش استوفر (Stouffer's Method) شناسایی شدند.

این تحلیل منجر به شناسایی تعداد بیشتری از نواحی ژنومی معنی‌دار شد و با کاهش نویز، دقت تشخیص جایگاه‌های کنترل‌کننده صفات (QTL) واقعی را افزایش داد. موقعیت‌های ژنومی کلیدی

جدول ۲- خلاصه موقعیت‌های ژنومی مهم به دست آمده، مرتبط با صفت رشد گوشت گاو				
ژن کاندید	لوگاریتم‌های ترکیب شده به روش استوفر	پایان (کیلو باز)	شروع (کیلو باز)	کروموزم
EIF2A	۱۱/۸۶	۱۱۷۵۹۱	۱۱۷۵۹۰	۱
MYO3B	۱۳/۱۰	۲۶۰۹۱	۲۵۸۶۸	۲
KCNJ3	۱۱/۵۷	۴۱۳۷۰	۴۰۶۱۳	۲
GYPC	۱۲/۰۸	۷۸۹۶۰	۷۸۹۶۰	۲
SPAG16	۱۲/۰۰	۱۰۲۰۵۸	۱۰۲۰۵۵	۲
UBR4	۲۰/۵۷	۱۳۳۵۵۵	۱۳۳۵۵۴	۲
LOC107132296(ncRNA)	۸/۶۴	۳۰۳۷۵	۳۰۳۷۴	۳
LRRIQ3, IL23R	۹/۷۵	۷۸۱۲۵	۷۵۵۲۳	۳
AGBL4, TRABD2B	۱۴/۹۴	۹۸۵۵۰	۹۸۲۲۲	۳
OR10AC1, TCAF2	۱۱/۷۱	۱۰۶۹۵۱	۱۰۶۹۵۰	۴
DPP6, PTPRN2	۲۴/۸۱	۱۱۸۹۶۸	۱۱۷۳۹۹	۴
PPP1R12A	۱۵/۶۶	۱۱۷۴۰	۹۳۵۳	۵
LOC132345276(ncRNA)	۱۱/۶۴	۳۹۰۷۰	۳۹۰۶۷	۵
KCNIP4	۱۶/۷۳	۴۱۹۷۹	۳۸۸۰۷	۶
GABRG1, GABRA2	۱۴/۹۲	۶۴۷۳۰	۶۴۷۲۸	۶
SLC12A2, ADAMTS19, SLC27A6, MARCH3, LMNB1, PHAX, ALDH7A1, GRAMD3, MIR2458, FRMD3, TUT7	۸/۱۴	۲۸۵۲۳	۲۶۰۰۰	۷
KIAA1958, PAPP	۹/۷۰	۱۰۵۱۹۶	۱۰۱۹۳۲	۸
ELOVL4, LOC132346203(ncRNA)	۱۲/۴۲	۱۹۶۶۱	۱۹۶۵۹	۹
MANEA	۱۳/۷۳	۵۵۱۰۴	۵۵۰۷۵	۹
SPPL2A, USP8	۹/۷۶	۶۲۹۱۷	۵۹۷۳۱	۱۰
KTNI	۹/۸۲	۶۸۱۳۶	۶۸۱۳۴	۱۰
GARNL3, COQ4	۱۱/۹۱	۹۸۹۲۹	۹۸۱۰۴	۱۱
GTF3C5, RALGDS	۲۴/۹۹	۱۰۳۱۷۵	۱۰۳۰۹۶	۱۱
PTER	۱۱/۳۴	۳۰۹۳۵	۳۰۹۳۳	۱۳
LOC112449300(ncRNA)	۸/۱۵	۴۴۵۰۸	۴۴۵۰۷	۱۳
LOC112449571(ncRNA), KHDRBS3	۱۰/۱۰	۷۰۰۰	۶۰۳۴	۱۴
LOC132342147(ncRNA), EXT1	۱۶/۰۳	۴۶۵۲۰	۴۶۱۰۴	۱۴
WWP1, ATP6V0D2, CA13, LRRCC1, PSKH2, CA1, RBIS, CA2, CA3, E2F5	۱۶/۵۱	۷۸۲۲۶	۷۶۴۷۲	۱۴
LOC100300167(ncRNA)	۸/۹۲	۱۳۳۴۵	۱۳۳۴۲	۱۵
SCLT1, JADE1	۹/۲۰	۲۹۰۵۸	۲۶۰۳۲	۱۷
MAF, LOC101902700(ncRNA)	۱۳/۴۳	۶۵۸۴	۶۴۸۱	۱۸
BOSTAUV1R417	۲۷/۶۲	۵۸۱۴۰	۵۸۱۳۶	۱۸
SPECC1	۱۱/۸۵	۳۳۶۹۰	۳۳۶۸۲	۱۹
ADAMTS17, LYSMD4	۱۰/۳۸	۶۷۷۸	۶۷۷۴	۲۱

۲۱	۳۶۱۸۶	۳۶۱۹۰	۱۱/۳۳	<i>bta - mir - 2888 - 1</i>
۲۱	۴۲۶۶۷	۴۲۶۷۰	۱۱/۹۳	<i>LOC112443355(snRNA), AKAP6</i>
۲۱	۵۷۰۷۰	۶۰۰۶۵	۲۰/۷۱	<i>SLC24A4, CLMN, DICER1</i>
۲۲	۵۴۶۲۴	۵۴۶۲۹	۹/۰۲	<i>LARS2, LOC101907967, TMEM158, LOC101908013 CDCP1, LOC614114, LOC101908094 LOC101901958 ZDHHC3, EXOSC7, LOC100847326, CLEC3B LOC783803, LOC112444553(ncRNA)</i>
۲۶	۱۱۸۱۹	۱۱۸۲۵	۸/۶۰	<i>ABCC2, CHUK</i>
۲۶	۲۰۸۱۱	۲۱۱۲۹	۱۴/۶۱	<i>LOC101904868, LOC101904869, LOC101904870 LOC101904871, LOC101904872</i>
۲۷	۲۶۱۵	۲۶۲۳	۱۸/۷۵	<i>FAT1</i>
۲۷	۱۶۶۰۱	۱۶۶۰۵	۱۱/۹۳	<i>LOC132344080(ncRNA)</i>
۲۷	۴۳۰۱۸	۴۳۱۷۴	۱۳/۳۶	<i>EGLN1, KCNK1</i>
۲۸	۴۲۴۱	۶۵۶۸	۱۲/۵۸	<i>ADK</i>
۲۸	۳۰۵۱۴	۳۰۵۱۸	۱۳/۲۶	<i>Not near gene</i>
۲۹	۴۴۶۶	۴۴۶۸	۱۲/۸۲	

نتایج تحلیل ترکیبی نشان داد که ۴۷ منطقه ژنومی معنی‌دار در ۲۳ کروموزوم مختلف، با مقادیر $-\log_{10}(p\text{-value})$ ترکیبی (روش استوفر) در محدوده ۸/۱۴ تا ۲۷/۶۲ شناسایی شدند. برجسته‌ترین یافته، خوشه‌ای از ژن‌ها در کروموزوم ۴ شامل *DPP6* و *PTPRN2* با جزء بالاترین سطح معنی‌داری $-\log_{10}(p\text{-value}) = ۲۴/۸۱$ بود. این ژن‌ها در تنظیم سیگنال‌دهی عصبی-عضلانی و توسعه عضلانی نقش کلیدی دارند (Lin et al. 2018). همچنین، کروموزوم ۲ با حضور ژن *UBR4* ($-\log_{10}(p\text{-value}) = ۲۰/۵۷$) در تنظیم چرخه سلولی و یوبیکوئیتیناسیون پروتئین‌ها نقش دارد، سیگنال قوی نشان داد (Tasaki et al. 2005). فراتحلیل در مقایسه با مطالعات منفرد، مزایای قابل‌توجهی در شناسایی نواحی ژنومی مرتبط با صفت رشد گاوهای گوشتی ارائه می‌دهد. این روش با افزایش حجم نمونه مؤثر از طریق ادغام داده‌های مطالعات مختلف، قدرت آماری را به‌طور چشمگیری بهبود بخشیده است. ترکیب داده‌ها همچنین به کاهش خطاهای تصادفی و اثرات ناهمگونی بین مطالعات کمک کرده و امکان شناسایی نواحی ژنومی را فراهم آورده که در مطالعات منفرد به دلیل محدودیت‌های آماری معنی‌دار نبودند (Bolormaa et al. 2014; Saatchi et al. 2014). این رویکرد، با تقویت سیگنال‌های ژنتیکی و کاهش نویز، دقت تشخیص جایگاه‌های کنترل‌کننده صفات (QTL) مرتبط با رشد را افزایش داده است. علاوه بر این، کروموزوم‌های ۶، ۹ و ۱۰ نیز سیگنال‌های معنی‌داری با ژن‌هایی مانند *KCNIP4*، *GABRG1*، *GABRA2*، *ELOVL4* و *MANEA* نشان دادند که در متابولیسم اسیدهای چرب،

سیگنال‌دهی عصبی و گلیکوزیلاسیون پروتئین‌ها نقش دارند (Agbaga et al. 2008; Zhang et al. 2004). کروموزوم ۷ با مقدار $-\log_{10}(p\text{-value}) = ۸/۱۴$ و حضور خوشه‌ای از ژن‌ها شامل *LMNB1*، *MARCH3*، *SLC27A6*، *ADAMTS19*، *SLC12A2*، *ALDH7A1* و *GRAMD3*، نشان‌دهنده تنوع ژنتیکی نواحی دخیل در رشد است و بر پیچیدگی پلی‌ژنیک این صفت تأکید می‌کند. این ژن‌ها در فرآیندهای متابولیسم اسیدهای چرب، انتقال یون‌ها، تنظیم ساختار هسته سلولی و متابولیسم اسیدهای آمینه نقش دارند (Brocker et al. 2010; Forrest et al. 2000).

تفاوت‌های مشاهده‌شده بین نمودارهای منهن تحلیل منفرد (شکل ۲) و تحلیل ترکیبی (شکل ۳) نشان‌دهنده تأثیر قابل‌توجه فراتحلیل در تقویت سیگنال‌ها و کاهش نویز است. به‌ویژه، پیک‌های قوی‌تر در کروموزوم‌های ۲، ۴، ۵، ۶، ۱۴، ۱۸ و ۲۷ در تحلیل ترکیبی، نشان‌دهنده شناسایی نواحی جدید و تأیید نواحی شناخته‌شده با دقت بالاتر است. تحلیل شبکه هم‌بیانی ژن‌ها، که در بخش نتایج شرح داده شد، درک عمیق‌تری از تعاملات ژنتیکی مرتبط با رشد ارائه داد. شناسایی ژن‌های محوری مانند *GALNTL6*، *DPP6* و *KCNIP4* و سازمان‌دهی آن‌ها در خوشه‌های عملکردی (متابولیسم و انرژی، تنظیم سلولی، کنترل رونویسی و سیستم عصبی-عضلانی) نشان‌دهنده شبکه‌ای پیچیده و سلسله‌مراتبی است که فرآیندهای میوژنز، تنظیم متابولیک و هماهنگی عصبی-عضلانی را هدایت می‌کند (Picard et al. 2002; Buckingham 2006). به‌ویژه، ژن *SLC27A6* در خوشه متابولیسم، با نقش کلیدی در انتقال اسیدهای

WGCNA (Analysis) بر اساس داده‌های بیان ژن، و بررسی تفصیلی هم‌پوشانی SNP ها و QTL ها می‌تواند درک عمیق‌تری از مکانیسم‌های ژنتیکی کنترل‌کننده رشد ارائه دهند. همچنین، اعتبارسنجی تجربی ژن‌های کاندید در جمعیت‌های مختلف و شرایط محیطی متنوع برای تأیید کاربرد عملی آن‌ها در برنامه‌های اصلاح نژادی ضروری است.

محدودیت‌ها

در این مطالعه چالش‌های مهمی در فرا تحلیل‌های ژنومی وجود داشت. یکی از مهم‌ترین این چالش‌ها، سوگیری انتشار (publication bias) بود که به دلیل انتشار بیشتر نتایج مثبت نسبت به منفی رخ می‌داد و می‌تواند تخمین‌های ترکیبی را تحت تأثیر قرار دهد. برای کاهش این سوگیری، ما سعی کردیم مطالعات با طیف گسترده‌ای از نتایج را وارد تحلیل کنیم، اما امکان حذف کامل این اثر وجود نداشت (Rosenberg 2005). همچنین، ناهمگونی بین مطالعات ناشی از تفاوت‌های نژادی، شرایط محیطی، روش‌های آماری و پلتفرم‌های ژنوتایپینگ، چالش دیگری بود که با استفاده از روش استوفر سعی در کنترل آن شد، اما نمی‌توان آن را به‌طور کامل حذف کرد (Evangelou & Ioannidis 2013). محدودیت دیگر این مطالعه، عدم دسترسی به داده‌های خام بیان ژن در بافت‌های مختلف بود که تحلیل WGCNA بر اساس آن‌ها امکان‌پذیر می‌شد. به همین دلیل، شبکه هم‌بیانی ژن‌ها بر اساس اطلاعات موجود در پایگاه داده STRING ساخته شد که اگرچه اطلاعات ارزشمندی ارائه می‌دهد، اما نمی‌تواند جایگزین کامل تحلیل داده‌های بیان ژن اختصاصی برای این جمعیت باشد (Langfelder & Horvath 2008). علاوه بر این، تفاوت‌های نژادی بین جمعیت‌های مورد مطالعه ممکن است منجر به شناسایی ژن‌هایی شود که در برخی نژادها اثر بیشتری دارند، در حالی که در نژادهای دیگر اهمیت کمتری داشته باشند (Hayes et al. 2009). تأثیرات محیطی نیز می‌تواند بر بیان ژن‌ها و در نتیجه بر ارتباط ژنوتیپ-فنوتیپ تأثیر بگذارد. عواملی مانند تغذیه، شرایط اقلیمی، مدیریت دام و سلامت دام می‌توانند تعاملات ژن-محیط را ایجاد کنند که در این مطالعه به‌طور کامل کنترل نشده است (Nkrumah et al. 2007). همچنین، عدم دسترسی به اطلاعات دقیق در مورد هم‌پوشانی SNP ها و QTL های شناسایی شده در مطالعات قبلی، محدودیت دیگری بود که

چرب بلند زنجیر، ارتباط مستقیمی با متابولیسم انرژی و رشد دارد. این یافته با مطالعات قبلی که نقش ژن‌های متابولیک را در رشد و کارایی خوراک تأیید کرده‌اند (Liu et al. 2019; Widmann et al. 2019)، همخوانی دارد. به‌طور کلی، یافته‌های این مطالعه امکان توسعه نشانگرهای مولکولی برای انتخاب ژنومی هدفمند را فراهم می‌آورند که می‌تواند صفات رشد را بهبود بخشد و رقابت‌پذیری صنعت دامپروری را در بازارهای جهانی افزایش دهد. مطالعات آینده با استفاده از داده‌های توالی‌یابی کل ژنوم و تحلیل‌های چند-اومیکس می‌توانند این نتایج را تکمیل کنند.

نتیجه‌گیری کلی

این مطالعه با استفاده از رویکرد فرا تحلیل پویش کل ژنوم، شبکه‌های ژنی پیچیده مرتبط با صفت رشد در گاوهای گوشتی را شناسایی کرد. نتایج نشان داد که ۴۳ منطقه ژنومی معنی‌دار در ۲۳ کروموزوم مختلف، با مقادیر $-\log_{10}(p\text{-value})$ ترکیبی در محدوده ۸/۱۴ تا ۲۷/۶۲، با صفت رشد مرتبط هستند. کروموزوم ۱۸ با ژن *BOSTAUV1R417* بالاترین سطح معنی‌داری را دارا بود و کروموزوم ۴ با حضور ژن *DPP6* و کروموزوم ۲ با ژن *UBR4* جزء بالاترین سطح معنی‌داری را بودند. تحلیل شبکه هم‌بیانی ژن‌ها منجر به شناسایی ژن‌های محوری کلیدی مانند *DPP6*، *GALNTL6*، *ABCG5* و *KCNIP4* شد که در خوشه‌های عملکردی متابولیسم و انرژی، تنظیم سلولی، کنترل رونویسی و سیستم عصبی-عضلانی سازمان‌یافته‌اند. فرا تحلیل، با افزایش قدرت آماری و کاهش ناهمگونی بین مطالعات، دقت شناسایی QTL های مرتبط با رشد را به‌طور چشمگیری بهبود بخشید. ژن‌های شناسایی شده در این مطالعه، نقش‌های کلیدی در مسیرهای بیولوژیکی متابولیسم انرژی، سیگنال‌دهی سلولی، میوزن و تنظیم عصبی-عضلانی دارند و می‌توانند به‌عنوان نشانگرهای مولکولی در برنامه‌های اصلاح نژادی هدفمند مورد استفاده قرار گیرند. استفاده از این نشانگرها می‌تواند به بهبود صفات رشد، افزایش کارایی تبدیل خوراک و در نتیجه افزایش سودآوری صنعت گوشت گاو منجر شود. با این حال، محدودیت‌هایی نظیر ناهمگونی بین مطالعات، تفاوت‌های نژادی، تأثیرات محیطی و محدودیت داده‌های بیان ژن در این مطالعه وجود داشت. مطالعات آینده با استفاده از داده‌های توالی‌یابی کل ژنوم، تحلیل‌های (Weighted Gene Coexpression Network)

می‌توانست به تفسیر بهتر نتایج کمک کند. در نهایت، استفاده از داده‌های آرایه SNP با تراکم متوسط در بسیاری از مطالعات منفرد، ممکن است منجر به از دست رفتن برخی واریانت‌های نادر با اثرات قابل توجه شده باشد. لازم به ذکر است که نتایج پژوهش حاضر می‌تواند به درک بهتر مبانی ژنتیکی و مولکولی رشد در گاوهای گوشتی کمک کرده و زمینه‌ای برای طراحی برنامه‌های اصلاح نژاد مبتنی بر ژنوم و انتخاب ژنومی دقیق‌تر فراهم آورد (Hayes et al. 2016; Meuwissen et al. 2013).

مطالعات آینده با استفاده از داده‌های توالی‌یابی کل ژنوم می‌توانند این محدودیت را برطرف کنند و دقت شناسایی واریانت‌های را افزایش دهند (Hayes & Daetwyler 2019). با این وجود، یافته‌های این مطالعه پایه محکمی برای مطالعات آینده و کاربردهای عملی در اصلاح نژادی گاوهای گوشتی فراهم می‌آورد.

منابع

Agbaga MP, Brush RS, Mandal MN, Henry K, Elliott MH, Anderson RE (2008) Role of Stargardt-3 macular dystrophy protein (ELOVL4) in the biosynthesis of very long chain fatty acids. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105:12843-12848.

Abo-Ismael MK, Voort GV, Squires JJ, Swanson, K. C., Mandell, I. B., Liao, X., Stothard, P., Moore, S., Plastow, G., & Miller, S. P. (2014). Single nucleotide polymorphisms for feed efficiency and performance in crossbred beef cattle. *BMC Genomic Data* 15(1).

Akanno, E. C., Chen, L., Abo-Ismael, M. K., Crowley, J. J., Wang, Z., Li, C., Basarab, J. A., MacNeil, M. D., & Plastow, G. S. (2018). Genome-wide association scan for heterotic quantitative trait loci in multi-breed and crossbred beef cattle. *Genetics Selection Evolution* 50(1).

Albert R, Barabási AL (2002) Statistical mechanics of complex networks. *Reviews of Modern Physics* 74:47-97.

Barabási AL, Oltvai ZN (2004) Network biology: Understanding the cell's functional organization. *Nature Reviews Genetics* 5:101-113.

Barabási AL, Gulbahce N, Loscalzo J (2011) Network medicine: A network-based approach to human disease. *Nature Reviews Genetics* 12:56-68.

Bennett EP, Mandel U, Clausen H, Gerken TA, Fritz TA, Tabak LA (2012) Control of mucin-type O-glycosylation: A classification of the polypeptide GalNAc-transferase gene family. *Glycobiology* 22:736-756.

Berge KE, Tian H, Graf GA, Yu L, Grishin NV, Schultz J, Kwitrovich P, Shan B, Barnes R, Hobbs HH (2000) Accumulation of dietary cholesterol in sitosterolemia caused by mutations in adjacent ABC transporters. *Science* 290:1771-1775.

Berry DP, Wall E, Pryce JE (2021) Genetics and genomics of reproductive performance in dairy and beef cattle. *Animal* 8:s105-s121.

Bhuiyan MSA, Lim D, Park M, Lee S, Kim Y, Gondro C, Park B, Lee SH (2018) Functional partitioning of genomic variance and genome-wide association study for carcass traits in Korean Hanwoo cattle using imputed sequence level SNP data. *Frontiers in Genetics* 9:217.

Bolormaa S, Pryce JE, Reverter A, Zhang Y, Barendse W, Kemper K, Tier B, Savin K, Hayes BJ, Goddard ME (2014)

A multi-trait, meta-analysis for detecting pleiotropic polymorphisms for stature, fatness and reproduction in beef cattle. *PLOS Genetics* 10:e1004198.

Brocker C, Lassen N, Estey T, Pappa A, Cantore M, Orlova VV, Chavakis T, Kavanagh KL, Oppermann U, Vasiliou V (2010) Aldehyde dehydrogenase 7A1 (ALDH7A1) is a novel enzyme involved in cellular defense against hyperosmotic stress. *Journal of Biological Chemistry* 285:18452-18463.

Buckingham M (2006) Myogenic progenitor cells and skeletal myogenesis in vertebrates. *Current Opinion in Genetics & Development* 16:525-532.

Bush WS, Moore JH (2012) Chapter 11: Genome-wide association studies. *PLOS Computational Biology* 8:e1002822.

Buzanskas, M. E., Grossi, D. A., Ventura, R. V., Schenkel, F. S., Sargolzaei, M., Meirelles, S. L. C., Mokry, F. B., Higa, R. H., Mudadu, M. A., Da Silva, M. V. G. B., Niciura, S. C. M., Júnior, R. a. T., Alencar, M. M., Regitano, L. C. A., & Munari, D. P. (2014). Genome-Wide association for growth traits in canchim beef cattle. *PLoS ONE* 9(4), e94802.

Carpten JD, Faber AL, Horn C, Donoho GP, Briggs SL, Robbins CM, Hostetter G, Boguslawski S, Moses TY, Savage S, Uhlik M, Lin A, Du J, Qian YW, Zeckner DJ, Tucker-Kellogg G, Touchman J, Patel K, Mousses S, Trent JM (2007) A transforming mutation in the pleckstrin homology domain of AKT1 in cancer. *Nature* 448:439-444.

deLapeyriere O, Ollendorff V, Planche J, Ott MO, Pizette S, Coulier F, Birnbaum D (1993) Expression of the Fgf6 gene is restricted to developing skeletal muscle in the mouse embryo. *Development* 118:601-611.

Eghtedari M, Khezri A, Kazemi-Bonchenari M, Yazdanyar M, Mohammadabadi M, Esmaeili Mahani S, Ghaffari MH (2024) Effects of corn grain processing and phosphorus content in calf starters on intake, growth performance, nutrient digestibility, blood metabolites, and urinary purine derivatives. *Journal of Dairy Science* 107:9334-9346.

Eghtedari M, Khezri A, Kazemi-Bonchenari M, Mohammadabadi M, Esmaeili Mahani S, Aschenbach JR (2025) Phosphorus has a crucial role in growth performance

- of calves fed starters with incorporated forage. *Animal Nutrition*. Advance online publication.
- Evangelou E, Ioannidis JP (2013) Meta-analysis methods for genome-wide association studies and beyond. *Nature Reviews Genetics* 14:379-389.
- Fang L, Sørensen P, Sahana G, Panitz F, Su G, Zhang S, Yu Y, Li B, Ma L, Liu G, Lund MS, Thomsen B (2018) MicroRNA-guided prioritization of genome-wide association signals reveals the importance of microRNA-target gene networks for complex traits in cattle. *Scientific Reports* 8:9345.
- Forrest D, Yuzaki M, Soares HD, Ng L, Luk DC, Sheng M, Stewart CL, Morgan JI, Connor JA, Curran T (2000) Targeted disruption of NMDA receptor 1 gene abolishes NMDA response and results in neonatal death. *Neuron* 5:325-338.
- Grassie ME, Moffat LD, Walsh MP, MacDonald JA (2011) The myosin phosphatase targeting protein (MYPT) family: A regulated mechanism for achieving substrate specificity of the catalytic subunit of protein phosphatase type 1δ. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 510:147-159.
- Hay EH, Roberts A (2018) Genome-wide association study for carcass traits in a composite beef cattle breed. *Livestock Science* 213:35-43.
- Hayes BJ, Daetwyler HD (2019) 1000 Bull Genomes Project to map simple and complex genetic traits in cattle: Applications and outcomes. *Annual Review of Animal Biosciences* 7:89-102.
- Hayes BJ, Bowman PJ, Chamberlain AJ, Goddard ME (2009) Invited review: Genomic selection in dairy cattle: Progress and challenges. *Journal of Dairy Science* 92:433-443.
- Hayes BJ, Lewin HA, Goddard ME (2013) The future of livestock breeding: Genomic selection for efficiency, reduced emissions intensity, and adaptation. *Trends in Genetics* 29:206-214.
- Hong, E. P., & Park, J. W. (2012). Sample size and statistical power calculation in genetic association studies. *Genomics & informatics* 10:117-122.
- Ioannidis JP, Ntzani EE, Trikalinos TA, Contopoulos-Ioannidis DG (2001) Replication validity of genetic association studies. *Nature Genetics* 29:306-309.
- Kolpakov, V., Bukareva, E., Kosyan, D., Alexey Ruchay, & Vitaly Ryazanov. (2025). Identification of Candidate Genes Associated with Meat Production of Aberdeen Angus Cattle. *Animals*, 15(2), 155-155.
- Langfelder P, Horvath S (2008) WGCNA: An R package for weighted correlation network analysis. *BMC Bioinformatics* 9:559.
- Lim D, Kim NK, Park HS, Lee SH, Cho YM, Oh SJ, Kim TH, Kim H (2014) Identification of candidate genes related to bovine marbling using protein-protein interaction networks. *International Journal of Biological Sciences* 10:1011-1025.
- Lin L, Yee SW, Kim RB, Giacomini KM (2018) SLC transporters as therapeutic targets: Emerging opportunities. *Nature Reviews Drug Discovery* 17:333-352.
- Liu, C.-L., Ren, T., Ruan, P.-C., Huang, Y.-F., Ceccobelli, S., Huang, D.-J., Zhang, L.-P., & Guang-Xin E. (2025). Genome-Wide Association Integrating a Transcriptomic Meta-Analysis Suggests That Genes Related to Fat Deposition and Muscle Development Are Closely Associated with Growth in Huaxi Cattle. *Veterinary Sciences* 12:109-109.
- Liu R, Sun Y, Zhao G, Wang F, Wu D, Zheng M, Chen J, Zhang L, Hu Y, Wen J (2019) Genome-wide association study identifies loci and candidate genes for body composition and meat quality traits in Beijing-You chickens. *PLOS ONE* 8:e61172.
- Manolio TA, Collins FS, Cox NJ, Goldstein DB, Hindorf LA, Hunter DJ, McCarthy MI, Ramos EM, Cardon LR, Chakravarti A, Cho JH, Guttmacher AE, Kong A, Kruglyak L, Mardis E, Rotimi CN, Slatkin M, Valle D, Whittemore AS, Visscher PM (2009) Finding the missing heritability of complex diseases. *Nature* 461:747-753.
- Meuwissen T, Hayes B, Goddard M (2016) Genomic selection: A paradigm shift in animal breeding. *Animal Frontiers* 6:6-14.
- Nadal MS, Ozaita A, Amarillo Y, Vega-Saenz de Miera E, Ma Y, Mo W, Goldberg EM, Misumi Y, Ikehara Y, Neubert TA, Rudy B (2003) The CD26-related dipeptidyl aminopeptidase-like protein DPPX is a critical component of neuronal A-type K⁺ channels. *Neuron* 37:449-461.
- Nkrumah JD, Sherman EL, Li C, Marques E, Crews DH, Bartusiak R, Murdoch B, Wang Z, Basarab JA, Moore SS (2007) Primary genome scan to identify putative quantitative trait loci for feedlot growth rate, feed intake, and feed efficiency of beef cattle. *Journal of Animal Science* 85:3170-3181.
- Picard B, Lefaucheur L, Berri C, Duclos MJ (2002) Muscle fibre ontogenesis in farm animal species. *Reproduction Nutrition Development* 42:415-431.
- Purfield DC, Bradley DG, Evans RD, Kearney FJ, Berry DP (2015) Genome-wide association study for calving performance using high-density genotypes in dairy and beef cattle. *Genetics, Selection, Evolution* 47:47.
- Ravasz E, Somera AL, Mongru DA, Oltvai ZN, Barabási AL (2002) Hierarchical organization of modularity in metabolic networks. *Science* 297:1551-1555.
- Reis LSLs, Albuquerque LG, Valente BD, Martins R, Ventura RV, Baldi F, Fortes MRS, Fonseca LFS (2024) Genome-wide association studies for growth traits in Nellore cattle. *Journal of Animal Breeding and Genetics* 138:393-406.
- Reverter A, Chan EK (2008) Combining partial correlation and an information theory approach to the reversed engineering of gene co-expression networks. *Bioinformatics* 24:2491-2497.
- Rhodes KJ, Carroll KI, Sung MA, Doliveira LC, Monaghan MM, Burke SL, Strassle BW, Buchwalder L, Menegola M, Cao J, An WF, Trimmer JS (2004) KChIPs and Kv4 α subunits as integral components of A-type potassium channels in mammalian brain. *Journal of Neuroscience* 24:7903-7915.
- Rosenberg MS (2005) The file-drawer problem revisited: A general weighted method for calculating fail-safe numbers in meta-analysis. *Evolution* 59:464-468.
- Saatchi M, Schnabel RD, Taylor JF, Garrick DJ (2014) Large-effect pleiotropic or closely linked QTL segregate

- within and across ten US cattle breeds. *BMC Genomics* 15:442.
- Salleh MS, Mazzone G, Lövendahl P, Kadarmideen HN (2018) Gene co-expression networks from RNA sequencing of dairy cattle identifies genes and pathways affecting feed efficiency. *BMC Bioinformatics* 19:513.
- Sasazaki S, Honda T, Fukushima M, Oyama K, Yonesaka R, Nishimaki R, Takeda M, Matsuzaki M, Saito K, Mannen H (2024) Fine mapping of quantitative trait loci for fatty acid composition in Japanese Black cattle. *Animal Science Journal* 90:809-819.
- Seabury CM, Oldeschulte DL, Saatchi M, Beever JE, Decker JE, Halley YA, Bhattarai EK, Molaei M, Freetly HC, Hansen SL, Yampara-Iquise H, Johnson KA, Kerley MS, Kim J, Loy DD, Marques E, Neibergs HL, Schnabel RD, Shike DW, Taylor JF (2017) Genome-wide association study for feed efficiency and growth traits in U.S. beef cattle. *BMC Genetics* 18:386.
- Szklarczyk D, Nastou K, Koutrouli M, Kirsch R, Mehryary F, Hachilif R, Hu D, Peluso ME, Huang Q, Fang T, Doncheva NT, Pyysalo S, Bork P, Jensen LJ, von Mering C (2025) The STRING database in 2025: protein networks with directionality of regulation. *Nucleic Acids Research* 53:D730-D737.
- Takimoto E, Koitabashi N, Hsu S, Ketner EA, Zhang M, Nagayama T, Bedja D, Gabrielson KL, Blanton R, Siderovski DP, Mendelsohn ME, Kass DA (2002) Regulator of G protein signaling 2 mediates cardiac compensation to pressure overload and antihypertrophic effects of PDE5 inhibition in mice. *Journal of Clinical Investigation* 119:408-420.
- Tasaki T, Mulder LC, Iwamatsu A, Lee MJ, Davydov IV, Varshavsky A, Muesing M, Kwon YT (2005) A family of mammalian E3 ubiquitin ligases that contain the UBR box motif and recognize N-degrons. *Molecular and Cellular Biology* 25:7120-7136.
- Taye M, Lee W, Caetano-Anolles K, Dessie T, Hanotte O, Mwai OA, Kemp S, Cho S, Oh SJ, Lee HK, Kim H (2017) Whole genome detection of signature of positive selection in African cattle reveals selection for thermotolerance. *Animal Science Journal* 88:1889-1901.
- Visscher PM, Wray NR, Zhang Q, Sklar P, McCarthy MI, Brown MA, Yang J (2017) 10 years of GWAS discovery: Biology, function, and translation. *American Journal of Human Genetics* 101:5-22.
- Wang H, Xu S (2019) Meta-analysis of genome-wide association studies. In *Statistical Genomics*. Humana Press, pp 369-389.
- Wang Y, Zhang H, Jiang Z, Li X, Feng R, Zhang Y, Li J (2022) CD69: An emerging biomarker and therapeutic target in immune-related diseases. *Frontiers in Immunology* 13:845260.
- Watts DJ, Strogatz SH (1998) Collective dynamics of 'small-world' networks. *Nature* 393:440-442.
- Whitlock MC (2005) Combining probability from independent tests: The weighted Z-method is superior to Fisher's approach. *Journal of Evolutionary Biology* 18:1368-1373.
- Widmann P, Reverter A, Fortes MRS, Weikard R, Suhre K, Hammon H, Albrecht E, Kuehn C (2019) A systems biology approach using metabolomic data reveals genes and pathways interacting to modulate divergent growth in cattle. *BMC Genomics* 14:798.
- Young MD, Wakefield MJ, Smyth GK, Oshlack A (2010) Gene ontology analysis for RNA-seq: accounting for selection bias. *Genome Biology* 11:R14.
- Zhang Y, Leaves NI, Anderson GG, Ponting CP, Broxholme J, Holt R, Edser P, Bhattacharyya S, Dunham A, Adcock IM, Pulleyn L, Barnes PJ, Harper JI, Abecasis G, Cardon L, White M, Burton J, Matthews L, Mott R, Cookson WO (2004) Positional cloning of a quantitative trait locus on chromosome 13q14 that influences immunoglobulin E levels and asthma. *Nature Genetics* 34:181-186.