نشریه علوم دامی
(پژوهش و سازندگی)

شماره ۱۴۲، بهـــار ۱۴۰۳
ص‌ص: ۳۳~۴۴

شناسایی و آنالیز ژن‌های کلیدی و مسیرهای سیگنال‌دهی دخیل در قطر پشم گوسفند

• **زهرا رودباری*[1] و سعیده اسکندری نسب سیاهکویی[2]**

۱- دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جیرفت، جیرفت، ایران.

۲- دانشجوی دکتری گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.

تاریخ دریافت : بهمن ۱۴۰۱ تاریخ پذیرش : خرداد ۱۴۰۲

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۳۲۴۸۳۳۴۳

Email: Roudbari.zahra@ujiroft.ac.ir

شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/ ASJ.2023.361244.2288

چکیده

پشم گوسفند یک ماده خام بسیار مهم برای صنعت نساجی است. از آنجایی که قطر الیاف یکی از مهم‌ترین ویژگی‌های اقتصادی پشم گوسفند است، شناسایی ژن‌های تنظیم‌کننده این ویژگی فرصتی را برای افزایش بهره‌وری و بهبود کیفیت و تنوع محصول ارائه می‌دهد. داده‌های مورد استفاده در این پژوهش از پایگاه داده‌ای GEO با شماره دسترسی GSE85844 دانلود شدند و به منظور سنجش کیفیت و یک دست بودن مورد بررسی قرار گرفتند. جهت شناسایی ژن‌ها با بیان متفاوت حد آستانه‌ای در نظر گرفته شده که شامل P-value و Fold Change می‌باشد. جهت ترسیم شبکه و آنالیز هستی‌شناسی از نرم‌افزار String و آنالیز شبکه از نرم‌افزار Cytoscape افزونه cytoHubba استفاده شد. در مجموع ۷۰۲ ژن با بیان متفاوت شناسایی شد که در ۳۷ مسیربیولوژیکی مرتبط با تولید فولیکول‌های پشم دخیل هستند. نتایج آنالیز شبکه ۱۱ ژن بزرگ اثر را شناسایی کرد که بر رشد و قطر پشم تاثیر دارند. این نتایج منابع ارزشمندی را برای افزایش کیفیت و تولید پشم گوسفند فراهم می کند.

واژه‌های کلیدی: الیاف، بیان ژن، مسیرسیگنالیک، شبکه ژنی، قطرپشم.

Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 142 pp: 33-44

Identification and analysis of key genes and signaling pathways involved in sheep wool diameter

By Zahra Roudbari [*1] and Saideh EskandariNasab[2]
1: Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Jiroft. Jiroft. Iran.
2: Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Zabol. Zabol. Iran.
[*]Corresponding Author: Roudbari.zahra@ujiroft.ac.ir

Received: February 2023 **Accepted: June 2023**

Sheep wool is a very important raw material for the textile industry. Since fiber diameter is one of the most important economic characteristics of sheep wool, identification of genes regulating this characteristic offers an opportunity to increase productivity and improving product quality and variety of product. various researches have been conducted and various genes have been identified in relation to wool. The data used in this research were downloaded from the GEO database with the access number GSE85844 and were analyzed in order to measure quality and uniformity. In order to identify genes with expression differences, a series of thresholds were considered, which include P-value and Fold Change. String software was used for ontology analysis and Cytoscape software with the cytoHubba plugin was used for network analysis. A total of 702 genes with different expressions were identified, which are involved in 37 biological pathways related to the production of wool follicles. The results of the network analysis identified 11 hub genes that affect wool growth and diameter. These results provide valuable resources for increasing the quality and production of sheep wool.

Key words: wool, expression profile, signaling pathway, Gene network, Diameter Wool

مقدمه

پشم به عنوان یک تنظیم کننده دمایی برای حیوانات خونگرم عمل می‌نماید و از اتلاف حرارتی غیر طبیعی بدن جلوگیری می‌کنند (Safari et al., 2005). پشم، کرک، موهر و مو از واحدهایی بنام فولیکول ایجاد می‌شوند. فولیکول، غدد چربی، غدد عرق و ماهیچه راست کننده مو جز ضمایم فولیکولی بوده و همگی در داخل پوست قرار گرفته‌اند. فولیکول پوست دارای دامنه وسیعی از صفات است که اندازه‌گیری و تعیین خصوصیات آنها، تعیین کننده صفات اقتصادی مهم در پرورش گوسفندان پشمی می‌باشد (Hanford et al., 2002). تمام فولیکول‌های پوست که پشم و مو تولید می‌کنند، از نظر ساختمانی شبیه به هم هستند و فعالیت مشابهی دارند. هر فولیکول ساختار لوله‌ای شکلی است که از روی پوست منشا می‌گیرد و الیاف را از سطح روی پوست احاطه کرده و تا زیر پوست ادامه دارد (Ebrahimi et al., 2017). تولید پشم و فرآورده‌های پشمی از جهت نقش آن به عنوان یک فرآورده دامی در برطرف کردن درصدی از خواسته‌های گله‌داران از یک سو و اهمیت آن در جایگاه تولید قالی و کسب درآمدهای ارزی و گسترش دامنه صنایع دستی و توسعه نساجی از سوی دیگر بر کسی پوشیده نیست (Johnston et al., 2011). در بسیاری از ممالک پیشرفته که صنایع نساجی در اقتصاد آنها جایگاه ویژه دارد، نیاز به افزایش کمی و کیفی پشم روز به روز بیشتر می‌گردد و تولید این کالا از لحاظ تقویت بنیه‌ی مالی کشور و ازدیاد ثروت ملی همپایه صنایع دیگر مورد توجه و دقت نظر قرار می‌گیرد (Kijas et al., 2009). درک مکانیسم‌های ملکولی تنظیم کننده رشد پشم موضوع مطالعاتی مورد توجهی است و در پستانداران خانواده‌های ژنی خاصی مانند TNFs, TGFs, FGFsوجود دارد که پروتئین‌های دخیل در مسیر سیگنالدهی WNT را کد می‌کنند و این مسیر با رشد فولیکول مو، مورفوژنز و چرخه مو مرتبط می باشد (Zhou, 2011). ژنتیک از جمله عواملی است که بر صفات فولیکولی پوست تأثیر دارد و در عرصه ژنتیک،

پژوهش‌های مختلفی صورت گرفته و ژن‌های مختلفی در رابطه با الیاف تولیدی شناسایی شده است (Ansari- et al., 2011 renani). از آنجایی که قطر الیاف یکی از مهم‌ترین ویژگی‌های اقتصادی پشم گوسفند است، شناسایی ژن‌های تنظیم‌کننده این ویژگی فرصتی را برای افزایش بهره‌وری و بهبود کیفیت و تنوع محصول ارائه می‌دهد. این امر می‌تواند با توسعه برنامه‌های اصلاحی یا از طریق تولید لاین‌های تراریخته با ویژگی‌های افزایش‌یافته محقق شود. (Purvis and Franklin.,2005). هر ژن ممکن است در مسیرهای زیستی مختلفی دخیل باشد، بنابراین شناسایی این مسیرهای زیستی و ژن‌ها تشکیل دهنده آن دیدگاه وسیع‌تر و درک کامل‌تری در مورد مکانیسم ژنتیکی پیچیده فنوتیپ صفات تولیدی ایجاد می کند که می‌تواند از طریق شناسایی نشانگرهای زیستی کاندید برای صفات تولیدی مختلف قدم مفیدی در ارائه راهبردی جهت بهبود اصلاح نژاد باشد (Silver et al., 2012). از این رو هدف از پژوهش حاضر بررسی عملکردی ژن‌ها با بیان متفاوت در بین دو نژاد پشم ظریف و پشم ضخیم، جهت شناسایی تعدادی از مسیرهای زیستی دخیل در فرایند تولید پشم است.

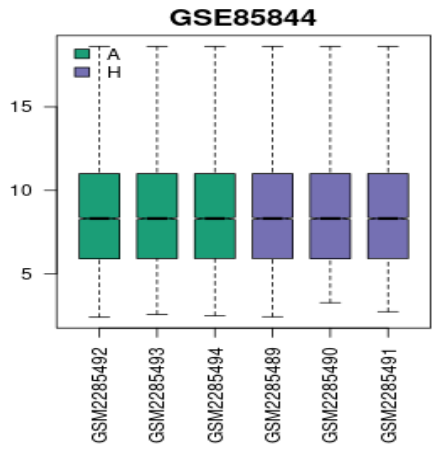
مواد و روش

استخراج داده

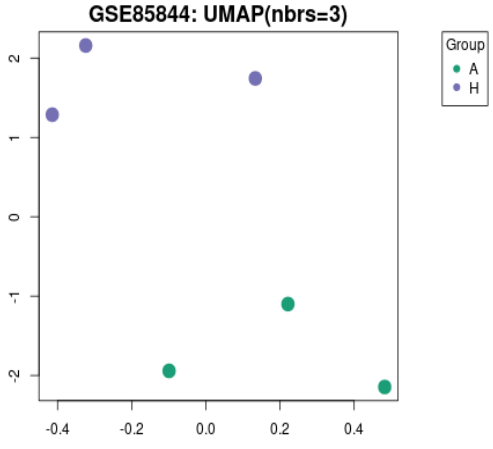
داده‌های مورد بررسی در این پژوهش از پایگاه داده‌ای GEO با شماره پروفایل بیانی GSE85844 دانلود شدند. داده‌ها مربوط به سه نمونه گوسفند پشم ضخیم با شماره دسترسی های GSM2285490- GSM2285491 -GSM2285489 و ۳ نمونه پشم ظریف با شماره دسترسی های GSM2285493 - GSM2285494 -GSM2285492 می باشد. در این مطالعه، جهت تهیه پروفایل بیان ژن و انجام آزمایش ریزآرایه یک قوچ و دو میش ۱۲ ماهه از گوسفندان پشمی ظریف Ahoan و گوسفندان Small tail Han ، با پشم ضخیم (دو نژاد بومی چینی) در مرحله آناژن فولیکول پشم استفاده شده است.

کنترل کیفیت داده ها

به منظور شناسایی داده‌های دارای کیفیت و بررسی یک دست بودن داده‌ها، فرایند کنترل کیفیت داده‌های حاصل از روش ریزآرایه انجام شد.آنالیز توزیع نرمال و یکدست بودن داده ها به روش آنالیز PCA با استفاده از بسته نرم افزاری Limma در محیط نرم افزار R انجام شد. نمودار شکل ۱ نمودار جعبه ای مربوط به توزیع نرمال داده ها را نشان می دهد و شکل ۲ نمودار آنالیز PCA نحوه توزیع نمونه ها در دو گروه مورد مطالعه را نشان می دهد.



شکل ۱- آنالیز توزیع نرمال در بین دو گروه آزمایشی



شکل ۲- آنالیز PCA در بین دو گروه آزمایشی

بررسی تفاوت بیان ژن‌ها

به منظور شناسایی ژن‌های با تفاوت بیان یک سری حد آستانه در نظر گرفته می‌شود که این حد آستانه شامل مقدار P-value و قدر مطلق لگاریتم Fold Change می‌باشد. در این تحقیق حد آستانه P-value < 0.05 و لگاریتم Fold Change (0.3< LogFC <-0.3) در نظر گرفته شد. ، ژن‌هایی که (Log FC < -0.3) یعنی تغییرات بیان آن‌ها نسبت به میانگین از 0.3-کمتر باشد این ژن‌ها بیان پایینی دارند و ژن‌هایی که (Log FC ≥0.3) یعنی تغییرات کلی آن‌ها نسبت به میانگین از 0.3 بیشتر باشد این ژن‌ها بیان بالایی دارند. آنالیز داده‌های بیان با استفاده از بسته نرم افزاری Limma در محیط نرم افزار R و در سیستم عامل ویندوز انجام شده است.

شناسایی مسیرهای سیگنالدهی دخیل در تولید پشم

پس از شناسایی و مشخص شدن ژن‌ها با تفاوت معنی‌دار (افزایش و کاهش بیان) برای آنالیز هستی‌شناسی از نرم‌افزار تحت وب String استفاده شد و سپس جهت ترسیم نمودارمسیرهای سیگنالدهی از نرم افزار اکسل استفاده شد. باید توجه داشت که استخراج اطلاعات بیولوژیکی گروه‌های بزرگ ژنی در مطالعات ژنومیکس و ترانسکریپتومیکس یک مسئله بزرگ می‌باشد. از جمله این اطلاعات بیولوژیکی می‌توان به هستی‌شناسی هر یک از ژن‌ها، بررسی فرآیندهای بیولوژیکی خاص که ژن‌ها در این فرآیندها دخالت دارند و همچنین رتبه‌بندی این فرآیندها اشاره کرد. هر ژن می‌تواند در عبارات بیولوژیکی تعداد زیادی مسیر را شامل شود. این ارتباطات یک شبکه روابطی پیچیده‌ای را تشکیل می‌دهد که بیانگر تعداد زیادی ژن مرتبط با تعداد زیادی عبارات بیولوژیکی است.

آنالیز شبکه و شناسایی ژن‌های بزرگ اثر

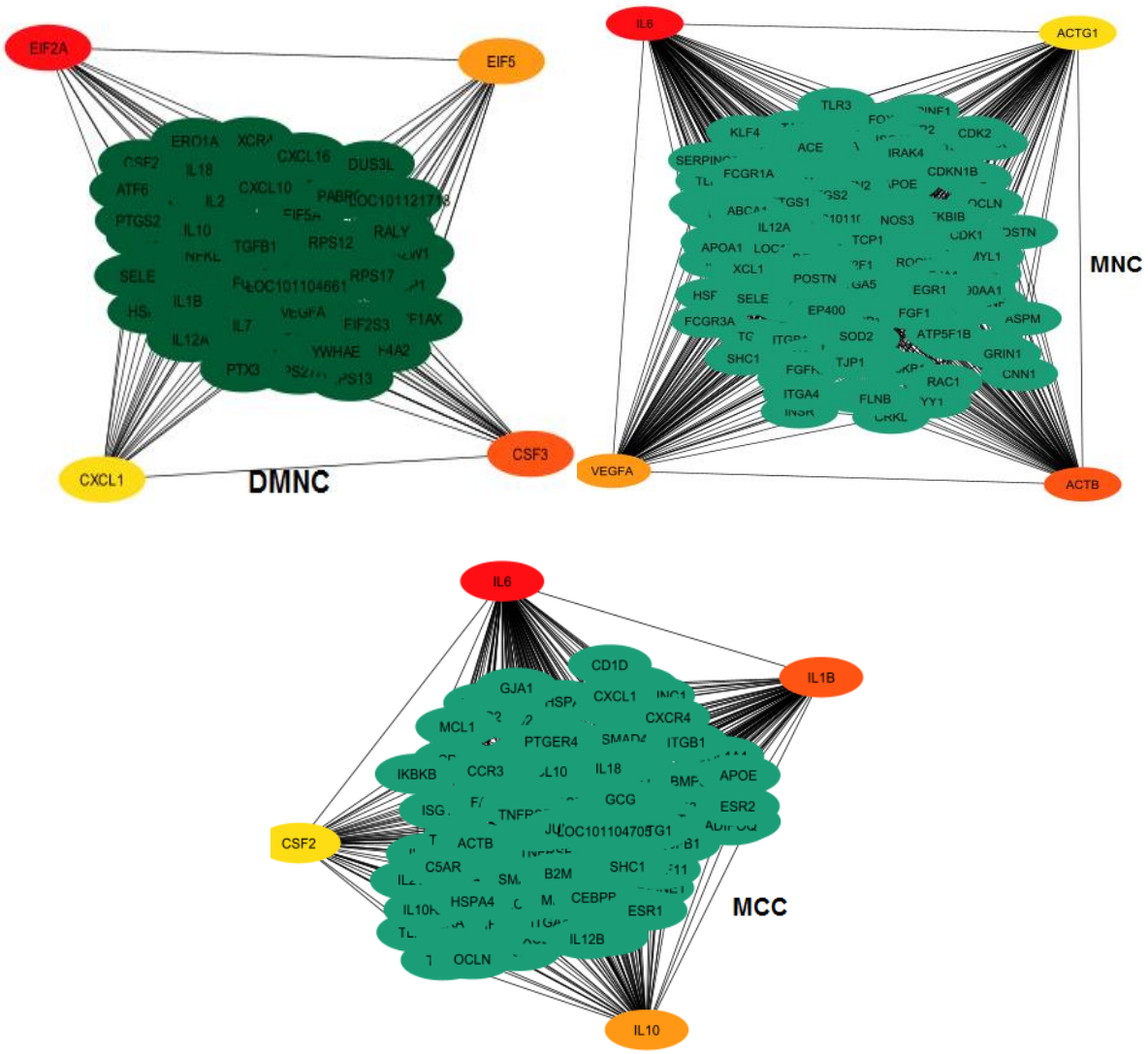
جهت آنالیز شبکه از نرم‌افزار Cytoscape افزونه cytoHubba استفاده شد. در مجموع ۱۲ روش توپولوژیکی در cytoHubba موجود است که از بین روش‌های موجود روش های Maximum Neighborhood Component (MNC) ، Density of Maximum Neighborhood Component(DMNC) و Maximal Clique Centrality (MCC) برای شناسایی ژن‌های بزرگ اثر انتخاب شدند

نتایج

نتایج کنترل کیفیت داده‌ها در مطالعه حاضر نشان داد که نمونه‌ها در دو گروه مشخص و از کیفیت خوبی برخوردار هستند و نتایج مقایسه پروفایل بیانی گوسفندان پشم ظریف Ahoan با گوسفندان Small tail Han با پشم ضخیم، ۷۰۲ ژن با بیان متفاوت در مرحله آناژن را مشخص کردکه ۲۸۰ ژن با بیان بالا و ۴۲۲ ژن با بیان پایین می باشند. نتایج ترسیم شبکه نشان داد که از این تعداد ۱۰۵ ژن تشکیل شبکه دادند و این ژن‌های تشکیل دهنده شبکه در ۳۷ مسیرهای بیولوژیکی نقش داشتند و در نمودار شکل ۴ گزارش شده‌اند.آنالیز تعیین ژن‌های بزرگ اثر بر روی کل ژن-های شناسایی شده دارای بیان متفاوت انجام شد و فهرست برهمکنش‌های پروتئینی به دست آمده وارد نرم‌افزار Cytoscape شد. سپس شناسایی ژن‌های بزرگ اثر توسط افزونه Cytohubba با روش‌های MNC، DMNC، MCC صورت گرفت. نتایج آنالیز شبکه نشان داد ژن های IL1B, , ACTB, EIF5, EIF2A, Csf2 , CXCL1, IL6 IL10 ACTG1, ,VEGFA بعنوان ژن‌های بزرگ اثر هستند که در جدول۱ نمایش داده شده است. مشخص شد بیشتر ژن‌های متفاوت بیان شده در این مطالعه به رشد فولیکول‌های مو و تنظیم رشد پشم مربوط می‌شوند. تجزیه و تحلیل ریزآرایه‌ها نشان داد اکثر ژن-هایی که مربوط به تنظیم قطر پشم هستند در تنظیم اتصال گیرنده-ها، فعالیت فاکتور رشد، پاسخ ایمنی، تنفس سلولی، انتقال گلوکز و سیتوکین‌های ایمنی هم نقش دارند (Zhao et al., 2020). فهرست برهمکنش‌های پروتئینی در شکل ۳ و مشخصات آن‌ها به تفکیک در جدول ۱ آمده است.

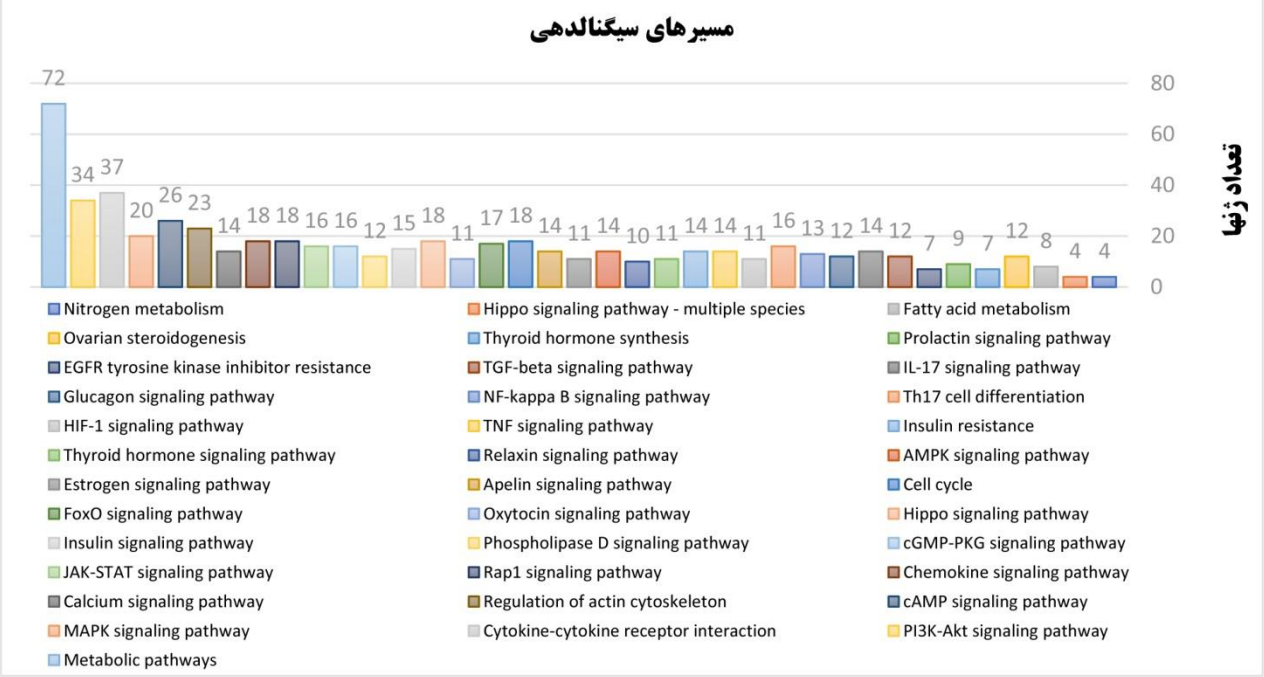
جدول ۱ ژن‌های بزرگ اثر شناخته شده با روش MNC, DMNC, MCC

Method	Rnak	Node	Method	Rnak	Node
MCC	۱	IL6	DMNC	۳	EIF5
MCC	۲	IL1B	DMNC	۴	CXCL1
MCC	۳	IL10	MNC	۱	IL6
MCC	۴	Csf2	MNC	۲	ACTB
DMNC	۱	EIF2A	MNC	۳	VEGFA
DMNC	۲	CSF3	MNC	۴	ACTG1



شکل ۳ – شبکه ژنی مربوط به ژنهای متفاوت بیان و نمایش ژن‌های بزرگ اثر براساس روش های MCC, MNC, DMNC. دایره‌ها با رنگ مختلف نشان دهنده ژن‌های بزرگ اثر می‌باشد.

مسیرهای سیگنالینگ کلیدی که بر رشد و قطر پشم تأثیر می-گذارند، معمولاً به مسیر انتقال سیگنال در پردازش اطلاعات محیطی تعلق دارند که شامل۳۷ مسیر سیگنالینگ در مطالعه حاضر می‌باشد، در شکل ۴ نشان داده شده‌اند. این مسیرها به طور مستقیم و غیر مستقیم با صفت پشم مرتبط هستند. به طور کلی مسیرهای شناسایی شده در این تحقیق، می‌تواند مسیری برای شناخت ژن-های مؤثر بر صفات باشد.



شکل ٤ - مسیرهای سیگنالدهی ژن‌های با تفاوت بیان بالا و پایین دخیل در تراکم پشم گوسفند

بحث

این مطالعه جامع می‌تواند به عنوان نقطه شروع تحقیقات بیشتر منجر به درک بهتر مکانیسم‌های مولکولی تنظیم کننده قطر پشم و شناسایی استراتژی‌های جدید منجر به تولید پشم خوب باشد. ما در مطالعه خود از دو نژاد، گوسفند Ahoan با پشم ریز و گوسفند Small tail Han با پشم ضخیم، به عنوان دو مدل برای تحقیق در مورد مکانیسم‌های ملکولی تنظیم‌کننده قطر الیاف پشم استفاده کردیم. نژاد گوسفند پشم ظریف Ahoan، از نظر تولید گوشت و پشم یک نژاد گوسفند عالی است. این نژاد همچنین در برابر بیماری‌ها و محیط‌های نامساعد بسیار مقاوم است و پشم آن دارای ویژگی‌های بهینه است: این حیوان تا ۹ کیلوگرم در سال محصول می‌دهد، طول پشم تا ۱۰.۵ سانتی متر و قطر آن کمتر از ۲۲ میکرومتر است. در نتیجه، گوسفند پشم ظریف Ahoan می‌تواند به عنوان یک منبع ارزشمند برای تولید پشم خوب در نظر گرفته شود (Purvis and Franklin., 2005). قطر الیاف پشم و همچنین چگالی فولیکول در فولیکول‌های اولیه پشم تعیین می-شود، بنابراین فولیکول‌های اولیه نقش مهم‌تری نسبت به فولیکول-های ثانویه در تعیین قطر الیاف پشم ایفا می‌کنند. رشد فولیکول-های اولیه و ثانویه به ترتیب در ۵۰ و ۸۰ روز بارداری رخ می‌دهد (Bindinost., 2008). توجه به مسیرهای سیگنالدهی در مقایسه با نگاه به ژن‌ها، میزان پیچیدگی زیستی در برهمکنش‌های ملکولی در تولید پشم و مدیریت زیستی آن را آسان‌تر می‌کند. ژن‌هایی که در اکثر مسیرهای سیگنالدهی مربوط به یک پدیده زیستی مانند

رشد پشم فعال و با ژن‌های مختلف دیگر در ارتباط باشند را می‌توان به عنوان ژن‌های عمده اثر در مدل‌های ارزیابی ژنتیکی و اصلاح نژاد به کار برد (Han et al., 2021). مولکول‌های سیگنالینگ که می‌توانند به عنوان مورفوژن عمل نمایند، الگوی شبکه ژنتیکی ساختمان بافت را در تمام طول عمر از مرحله رویان در حال رشد تا ارگانیزم بالغ کنترل می‌نمایند. مورفوژن‌ها بستگی به میزان ترشح و فاصله منبع ترشح، می‌توانند واکنش‌های کیفی مختلف سلولی را ایجاد نمایند (Lv et al., 2020). درک اساس ژنتیکی فنوتیپ پشم به بهبود کارایی تولید پشم و شناسایی عوامل تعیین کننده ملکولی چگالی پشم و تفاوت‌های فنوتیپ کمک می‌کند. نتایج تجزیه و تحلیل این مطالعه نشان داد مسیرهای پیام‌رسانی که در شکل۴ آمده‌اند نقش مهمی در تولید پشم دارند که به صورت مختصر مسیرهای ذکر شده در ذیل مورد بحث قرار گرفته است. مسیر سیگنالدهیTGF-beta از جمله مسیرهای مورد مطالعه حاضر می‌باشد و یک ملکول پروتئینی با وزن ملکولی ۲۵ دالتون می‌باشد و از طریق ۲ رسپتور غشایی ۱ و ۲ پیام خود را به داخل سلول می‌رساند که مسیر پیام‌رسانی داخل سلولی این فاکتور توسط ملکول‌های Smad تسهیل شده و پیام مربوطه نهایتاً به هسته سلول رسیده و منجر به تغییراتی در تنظیم سطح رونویسی DNA می‌گردد. TGF-beta یک فاکتور با اعمال متنوع می‌باشد که طیف آن از تمایز سلولی و مهار رشد سلولی تا تحریک ماتریکس خارج سلولی متغیر می‌باشد و در التهاب پوستی مزمن و حاد نقش دارد. IL10 که جز ژن‌های بزرگ اثر شناخته شده در مطالعه حاضر می‌باشد نقشی شبیه TGF-beta در ضایعات پوستی ایفا می‌کند (Qabar et al., 2005). در مطالعه‌ای که wu و همکاران در سال ۲۰۲۲ در تجزیه و تحلیل lncRNA ها و mRNA با استفاده از آنالیز RNA-Seq در فولیکول‌های اولیه و ثانویه بز انجام دادند، مسیرهای سیگنالدهی زیادی مرتبط با رشد فولیکول‌ها شناسایی کردند. از جمله این مسیرهای شناسایی شده که در مطالعه حاضر هم هستند مسیر سیگنالدهی IL-17، Hippo، JAK-STAT، MAPK T، PI3K-Akt و Calcium است. این مسیرها مرتبط با چرخه فولیکولی مو هستند و برای رشد و نگهداری فولیکول مو ضروری می باشند (Wu et al., 2022). IL-17 که یکی دیگر از مسیرهای شناخته شده در مطالعه ما می‌باشد و در مطالعه دیگر نشان داده شده که در بسیاری از عملکردهای فیزیولوژیکی به عنوان یک سیگنال‌دهی واسطه عمل می کند و سلول های اپیتلیال را هدف قرار می دهد در نهایت، این مسیر ممکن است به طور غیرمستقیم بر آپوپتوز سلول های اپیتلیال تأثیر بگذارد (Su et al., 2018). در مطالعه‌ای که Li و همکاران در سال ۲۰۲۱ در ارتباط با تغییرات بیان mRNA های مرتبط با ساختار پشم گوسفند در نژاد Zhongwei داشتند. گزارش کردند که ۱۶۴ مسیر مرتبط با رشد فولیکول‌ها شناسایی شده است و از جمله این مسیرها TNF، MAPK و PI3K-Akt می باشدکه در این مطالعه هم مشاهده شدند و نقش مهمی در تنظیم رشد مو داشتند (Li et al., 2021). مسیر TNF در فولیکول‌های اولیه و تغییر شکل فضایی آن در انواع فولیکول نقش دارد (McGrice et al., 2010). در مطالعه‌ای دیگر بر روی گوسفند نژاد Super Merino با استفاده از فناوری MeDIP-seq نقشه گسترده ژنوم آن در شش مرحله رشد فولیکول توالی‌یابی شد. نتایج شان نشان داده است که ۶۵ ژن با بیان متفاوت غربالگری شدند، این ژن‌ها در مسیرهای سیگنالدهی Wnt، TNF، TGF-Beta دخیل هستند، این مسیرها در مطالعه حاضر هم شناسایی شدند و در تحقیق دیگر این مسیرها به طور مؤثری تکثیر فیبروبلاست‌های پوست گوسفند را ترویج می‌دهند. این نتایج مکانیسم اپی‌ژنتیک رشد فولیکول مو را تنظیم می‌کند. بنابراین این مسیرها می توانند رشد و نمو فولیکول های پوست و مو را تقویت کند و پایه های نظری را برای پرورش پشم گوسفند فراهم کند (Tian et al., 2021). یکی دیگر از مسیرها که در پردازش اطلاعات محیطی نقش دارد، مسیر سیگنالینگ MAPK است که نقش مهمی در تکثیر سلولی، تمایز، رشد، پیری و مرگ دارد. این مسیر همچنین در گردش فولیکولی مو، رشد پشم، رشد پوست و فولیکول مو، تمایز سلول‌های اپیدرمی و کراتینوسیت، رشد دوره‌ای پشم و کیفیت الیاف پشم را مشخص می‌کند (Ozturk et al., 2015). در مجموع ۸۷ ژن از ژن‌های مطالعه

حاضر از طریق مسیرهای سیگنالینگ PI3K-Akt، MAPK، FoxO ، cGMP-PKG و BMP در مورفوژنز فولیکول مو، فرایند چرخه مو، تنظیم مثبت تکثیر فولیکول‌های مو نقش دارند. شروع رشد فولیکولی شامل یک سری مسیرهای سیگنالینگ است که سلول های اپیدرمی و پاپیلاهای پوستی را به هم مرتبط می کند، مانند مسیرهای سیگنالینگWnt/β-catenin ، TGF-β و Hippo. فولیکول‌هایی که در طول مورفوژنز ایجاد می‌شوند، بعداً با تاخیر در ورود مجدد به چرخه مو و رشد مجدد ساقه مو و غلاف ریشه داخلی مختل می‌شوند و در نتیجه ریزش موی شدید ایجاد می شود (He et al., 2022). از دیگر مسیرهای معنی‌دار شناخته شده مرتبط با رشد فولیکول مسیر BMP است که در مطالعه دیگر هم مورد بحث قرار گرفته و می‌تواند چرخه فولیکول مو را با تنظیم تکثیر و تمایز سلول‌های پیش‌ساز ماتریکس مو کنترل کنند. همچنین بر اندزه فولیکول‌های مو اثر تنظیمی دارد این مسیر رشد فولیکول مو را به تأخیر می‌اندازد و ممکن است فاصله بین فولیکول‌ها را در طول جنین‌زایی کنترل کند (Botchkarey et al., 1999). مسیر دیگر شناخته شده مرتبط با الیاف پشم Estrogen است که در مطالعه دیگر هم تأثیر آن بر رشد و خصوصیات پشم مورد بحث قرار گرفته است، بطوریکه این مسیر موجب افزایش ضخیم شدن الیاف پشم می‌شود (Nie et al., 2018). یکی دیگر از مسیرهای بیولوژیکی شناخته شده در مطالعه حاضر پرولاکتین است،پرولاکتین هورمونی است که از غده هیپوفیز پیشین ترشح می‌شود همچنین ترشح این هورمون فصلی است، در مطالعه Nixon و همکاران در سال ۲۰۰۲ نشان داده شد این هورمون بر خصوصیات تولید مثلی و فولیکولهای الیاف تاثیرگذار است. به طوریکه گیرنده‌های این هورمون در سطح پوست پستانداران متمرکز هستند و با غیر فعال شدن فولیکولهای الیاف و رشد الیاف در ارتباط است. ارتباط بین رشد الیاف و فولیکولهای الیاف و تغییرات غلظت هورمون پرولاکتین در راسو، گوسفند و بز به اثبات رسیده است (Nixon et al., 2002). تیروکسین که از غده تیروئید ترشح می‌شود موجب تحریک رشد پشم شده و با افزایش طول روز میزان آن در سرم خون افزایش می‌یابد. برداشتن غده تیروئید در بره‌های تازه متولد شده باعث ممانعت از رشد پشم و توسعه فولیکولهای ثانویه و در حیوانات بالغ موجب کاهش رشد پشم می شود. گزارش شده که تیروکسین رشد طولی الیاف را بیشتر از میانگین قطر الیاف پشم تحت تاثیر قرار می دهد (Todini, 2007). شناسایی ژن‌های بزرگ اثر با استفاده از آنالیز شبکه و توسط افزونه Cytohubba با روش‌های MNC، DMNC، MCC انجام شد و از هر گره ۴ ژن مهم را شناسایی کردیم که در مجموع ۱۱ ژن بزرگ اثر شناسایی شد. ژن IL6 با دو روش MNC و MCC بعنوان یکی از ژن‌های بزرگ اثر شناخته شده است و ژن‌های IL1B, IL10, IL6, CXCL1, Csf2, EIF2A, EIF5,ACTB, VEGFA, ACTG از دیگر ژن‌های بزرگ اثر شناخته شده می‌باشند، ژن IL1B با روش MCC از جمله ژن‌های هاب شناسایی شد، در مطالعه‌ای نشان داده شد ژن IL1B در تنظیم مثبت فاکتورهای رشد دخیل است فاکتورهای رشد تغییر دهنده بتافیروبلاست، اندوتلیلال عروقی، کراتینوسیت‌ها و فاکتور رشد بافت همبند می‌باشد (Colditz et al., 2005). دیگر پروتئین هاب شناخته شده با روش MCC در این مطالعه IL10 است در مطالعه‌ای دیگر نقش آن را در الیاف پشم نشان داده شده است و بعنوان اولین خط محافظت از فولیکول‌های مو در برابر عوامل نامطلوب عوامل ترشحی است که در اطراف فولیکول‌های مو قرار دارند، چندین سرکوب کننده قوی وجود دارد یکی از آن‌ها IL10 است که توسط اپیتلیوم تولید می‌شود و در اطراف فولیکول‌ها قرار دارند و فعالیت‌های پیش التهابی آن‌ها قبل از هر گونه تماس با بافت‌های فولیکوای کاهش می‌یابد (Bertolini et al., 2020). ژن هاب شناخته شده دیگر با روش MCC، Csf2 است، در یک تحقیق گزارش شده Csf2 از جمله ژن‌هایی است که در بروز بافت چربی پوست و تعدیل رشد فولیکول مو در زمان پیری نقش دارد (Chen et al., 2021). CSF3 با روش DMNC از جمله ژن‌های هاب شناسایی شده می‌باشد که در مطالعه دیگر در بازسازی پوست نقش دارد وباعث یک پاسخ ترمیمی قوی می‌شود (Mescher، 2017). EIF5 هم با روش

DMNCیکی دیگر از پروتئین‌های هاب شناخته شده می‌باشد، در مطالعه‌ای که Park و همکاران در سال ۲۰۲۲ داشتند مشاهده شد که در بازیابی امتیاز ایمنی در پاپیلاهای پوستی و کنترل برهمکنش‌های اپیتلیال-مزانشیمی در تشکیل مو نقش دارد (et Park al., 2022). CXCL1 هم با روش DMNC از جمله ژن‌های هاب می‌باشد که توسط کراتینوسیت‌های فولیکولی مو تولید و باعث رشد مو می‌شود. در تحقیق دیگر مشاهده شد این ژن فعالیت بنیادی فولیکولی مورا تنظیم می‌کند و فاز آناژن چرخه مو را در بدن القا می‌کند و باعث تکثیر سلول‌های پاپیلای پوستی یا DP می‌شود. گزارش شده است که DMNC با طولانی کردن آناژن از طریق اثرات تکثیری روی سلول‌های DP رشد مو را تحریک می‌کند (Choi et al., 2018). پروتئین IL6 با روش MNC, MCC به عنوان پروتئین هاب شناخته شده می-باشد،گیرنده IL6 در سلول‌های ماتریکس و همچنین غلاف ریشه خارجی و داخلی فولیکول‌های موی سر انسان بیان می‌شوند و از کراتینوسیت‌های فولیکولی است که از کشیدگی ساقه مو جلوگیری می‌کند و تکثیر سلول‌های ماتریکس را در فولیکول‌های موی انسان سرکوب می‌کند (Kwack et al., 2012). در مطالعه‌ای که Bai و همکاران در سال ۲۰۱۴ جهت انتخاب ژن-های مرجع درطول چرخه فولیکول موی بز ترمه لیائونینگ داشتند ژن ACTB به عنوان یکی از هشت پایدارترین ژن در پوست بز ترمه لیائونینگ شناسایی شد (Bai et al., 2014). در این مطالعه هم ژن ACTB با روش MNC از جمله ژن‌های هاب شناخته شده مؤثر بر فرایند قطر الیاف پشم می‌باشد.پروتئین دیگر VEGFA است که یک گلیکوپروتئین ۴۵ کیلو دالتونی است و به عنوان عضوی ازخانواده فاکتورهای رشد پپتیدی در سلول‌های فولیکولی مو در مرحله آناژن در اکثر پستانداران بیان می‌شوند، یکی از مهم‌ترین فاکتورهای رگ‌زایی است که به کمک دو رسپتور ویژه VEGFR1و VEGFR2 که فقط در سلول‌های آندوتلیالی بیان می‌شوند، مهاجرت سلول‌های آندوتلیالی و نیز تکثیر و نفوذپذیری آن‌ها را تنظیم می‌کند. این ژن همچنین یک فاکتور ضد مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی در سلول‌های آندوتلیالی نیز محسوب می‌شود. از آنجا که بازآرایی بافت بخصوص در هنگام نمو و تشکیل فولیکول‌های اولیه مو نیاز به منبع خون مناسب دارد و تشکیل رگ‌های خونی پیش‌ساز اولیه باز آرایی می‌باشد (Ozeki et al., 2003). در مطالعه‌ای گزارش شده که گیرنده VEGFR1 از این ژن در هنگام بازسازی فولیکول‌های مو بز کشمیری نقش دارد(Liu et al., 2016). ژن ACTG1 با روش MNC از دیگر پروتئین‌های هاب شناخته شده است که در تنظیم مثبت بهبودی زخم نقش دارد. از این رو این ژن‌ها می‌توانند نقش تنظیم کنندگی بر فولیکول‌های پشم گوسفند داشته باشند.

نتیجه‌گیری کلی

تولید پشم فرایندی پیچیده است که از طریق انتخاب در حیوانات مزرعه تا حدودی قابل بهبود است و همچنین توسعه فن‌آوری‌ها و نرم‌افزارهای تعیین توالی مقرون به صرفه برای تجزیه و تحلیل داده‌های حجیم، به درک مکانیسم و زمینه ژنتیکی صفات مختلف فنوتیپی در گوسفندان کمک زیادی کرده است. بنابراین شناسایی ژن‌ها و مسیرهای بیولوژیکی میتواند یکی از راهکارهای بهبود کمیت و کیفیت تولید پشم باشد. با توجه به اهمیت پشم و نتایج شبکه‌های ژنی به دست آمده پیشنهاد می‌شود به نقش ژن‌ها IL1B, IL10, Csf2, EIF2A, CSF3, EIF5, و CXCL1, IL6, ACTB, VEGFA, ACTG1 مسیرهای مورد مطالعه در تولید پشم با کیفیت مطلوب پرداخته شود. زیرا دست ورزی چنین تنظیم کننده‌ها و ژن‌های مهمی که در این پژوهش معرفی شدند با توجه به میزان بیان و کارکردی که در فرایندتولید پشم دارند، می تواند یکی از راهکارهای بهبود کمیت و کیفیت پشم تولیدی باشد که در صورت موفقیت به تولید الیافی با کیفیت مطلوب می انجامد که می تواند به پرورش-دهندگان کمک می‌کند.

منابع

Ansari, H. R., Ebadi, Z., Moradi, S., Baghershan, H. R., Ameli, S. H. (2021). Determaination of hair follicle characteristics, density and activity of Iranian cashmere goat breeds. *Small Ruminant Research*, 95(2-3): 128-132.

Bai, W. L., Yin, R. H., Yin, R. L., Jiang, W. Q., Wang, J. J., Wang, Z. Y. and He, J. B. (2014). Selection and validation of suitable reference genes in skin tissue of Liaoning cashmere goat during hair follicle cycle. *Livestock Science*. *161*: 28-35.

Bertolini, M., McElwee, K., Gilhar, A., Bulfone-Paus, S. and Paus, R. (2020). Hair follicle immune privilege and its collapse in alopecia areata. *Experimental dermatology*. *29*(8): 703-725.

Bindinost, F. (2008). Wool quantitative trait loci in Merino sheep. Small Rumin Research: 74, 113-118.

Botchkarey, V. a., Botchkareva, N. V., Roth, W., Nakamura, M., Chen, L. H., Herzog, W. (1999). Noggin is a mesenchymally derived stimulator of hair-follicle induction. *Nature Cell Biology*, 1(3): 158-164.

Chen, J., Fan, Z. X., Zhu, D. C., Guo, Y. L., Ye, K., Dai, D. and Qu, Q. (2021). Emerging Role of Dermal White Adipose Tissue in Modulating Hair Follicle Development During Aging. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. *9*.

Choi, N., Shin, S., Song, S. U. and Sung, J. H. (2018). Minoxidil promotes hair growth through stimulation of growth factor release from adipose-derived stem cells. *International journal of molecular sciences*. *19*(3): 691.

Colditz, I. G., WALKDEN-BROWN, S. W., Daly, B. L. and Crook, B. J. (2005). Some physiological responses associated with reduced wool growth during blowfly strike in Merino sheep. *Australian veterinary journal*. 83(11): 695-699.

Ebrahimi, F., Gholizadeh, M., Rahimi-Mianji, G. and Farhadi, A. (2017). Detection of QTL for greasy fleece weight in sheep using a 50 K singl nucleotide polymorphism chip. *Tropical Animal Health and Production*. 49: 1657-1662.

Han, F., Li, J., Zhao, R., Liu, L., Li, L., Li, Q. and Liu, N. (2021). Identification and co-expression analysis of long noncoding RNAs and mRNAs involved in the deposition of intramuscular fat in Aohan fine-wool sheep. *BMC genomics*. *22*(1): 1-14.

Hanford, K. J., Van Vleck, L. D. and Snowder, G. D. (2002). Estimates of genetic parameters and genetic change for reproduction, weight and wool characteristics of Columbia sheep. *Journal of Animal Science*. 80: 3086-3098.

He, J., Huang, X., Zhao, B., Liu, G., Tian, Y., Zhang, G. and Tian, K. (2022). Integrated analysis of miRNAs and mRNA profiling reveals the potential roles of miRNAs in sheep hair follicle development. *BMC Genomics*. *23*(1): 1-16.

Johnston, S. E., McEwan, J., Pickering, N. K., Kijas, J. W., Beraldi, D., Pilkington, J. G., Pemberton, J. M. and Slate, J. (2011). Genome-wide association mapping identifies the genetic basis of discrete and quantitative variation in sexual weaponry in a wild sheep population. *Molecular Ecology*. 20(12): 2555-2566.

Kijas, J. W., Townley, D., Dalrymple, B. P., Heaton, M. P., Maddox, J. F., McGrath, A., Wilson, P., Ingersoll, R. G., McCulloch, R. and McWilliam, S. (2009). A genome wide survey of SNP variation reveals the genetic structure of sheep breeds. *PloS one:* 4(3), e4668.

Kwack, M. H., Ahn, J. S., Kim, M. K., Kim, J. C. and Sung, Y. K. (2012). Dihydrotestosterone-inducible IL-6 inhibits elongation of human hair shafts by suppressing matrix cell proliferation and promotes regression of hair follicles in mice. *Journal of Investigative Dermatology*. *132*(1): 43-49.

Li, X., Liu, Z., Ye, S., Liu, Y., Chen, Q., Guan, W. and Zhao, Q. (2021). Integrated Analysis of lncRNA and mRNA Reveals Novel Insights into Wool Bending in Zhongwei Goat. *Animals*: *11*(11), 3326.

Liu, B., F. Gao, J. Guo, D. Wu, B. Hao, Y. and C. (2016). A microarray-based analysis reveals that a short photoperiod promotes hair growth in the Arbas Cashmere goat. *PloS One*: 11 (1), e0147124–e0147124.

Lv, X., Chen, W., Sun, W., Hussain, Z., Wang, S. (2020). Analysis of incRNAs expression profiles in hair follicle of hu sheep lambskin. Animals, 10(6): 1035.

McGrice, H. A. (2010). *Molecular characterisation of primary wool follicle initiation in Merino sheep* (Doctoral dissertation).

Mescher, A. L. (2017). Macrophages and fibroblasts during inflammation and tissue repair in models of organ regeneration. *Regeneration*: *4*(2), 39-53.

Nie, Y., Li, S., Zheng, X., Chen, W., Li, X., Liu, Z. and Mou, C. (2018). Transcriptome reveals long non-coding RNAs and mRNAs involved in primary wool follicle induction in carpet sheep fetal skin. *Frontiers in Physiology*: *9*, 446.

Nixon, A. J., Ford, C. A., Wildermoth, J. E., Craven, A. J., Ashby, M. G. and Pearson, A. J. (2002). Regulation of prolactin receptor expression in ovine skin in relation to circulating prolactin and wool follicle growth status. *Journal of Endocrinology*: *172*(3), 605-614.

Ozeki, M. and Tabata, Y. (2003). In vivo promoted growth of mice hair follicles by the controlled release of growth factors. *Biomaterials*: 24 (13), 2387–2394.

Ozturk, O. A., Pakula, H., Chmielowiec, J., Qi, J., Stein, S., Lan, L. (2015). Gab1 and Mapk signaling are essential in the hair cycle and hair follicle stem cell quiescence. *Cell reports*, *13*(3), 561-572.

Park, J. M., Jun, M. S., Kim, J. A., Mali, N. M., Hsi, T. C., Cho, A. and Oh, J. W. (2022). Restoration of Immune Privilege in Human Dermal Papillae Controlling Epithelial-Mesenchymal Interactions in Hair Formation. *Tissue Engineering and Regenerative Medicine*: *19*(1), 105-116.

Purvis, I. W. and Franklin, I. R. (2005). Major genes and QTL influencing wool production and quality: *arewiew Genetics Selection Evolution*: 37, s97-107.

Qabar, A., Nelson, M. and Guzman, J. (2005) Modulation of sulfur mustard induced cell death in human epidermal keratinocytes using IL-10 and TNF-alpha. *Journal Biochem Molecular Toxicol*: 19, 213-25.

Safari, E., Fogarty, N. M. and Gilmour, A. R. (2005). A review of genetic parameter estimates for wool growth meat and reproduction traits in sheep. Livestock production science: 92(3), 271-289.

Silver, M. and Montana, G. (2012). Fast identification of biological pathways associated with a quantitative trait using group lasso with overlaps. *Statistical applications in genetics and molecular biology*: 11(1).

Su, R., Fan, Y., Qiao, X., Li, X., Zhang, L., Li, C. and Li, J. (2018). Transcriptomic analysis reveals critical genes for the hair follicle of Inner Mongolia cashmere goat from catagen to telogen. *PLoS One*: *13*(10), e0204404.

Tian, Y., Yang, X., Du, J., Zeng, W., Wu, W., Di, J. and Tian, K. (2021). Differential Methylation and Transcriptome Integration Analysis Identified Differential Methylation Annotation Genes and Functional Research Related to Hair Follicle Development in Sheep. *Frontiers in genetics*: *12*.

Todini, L. (2007). Thyroid hormones in small ruminants: effects of endogenous, environmental and nutritional factors. *Animals*: *1*(7), 997-1008.

Wu, C., Qin, C., Fu, X., Huang, X. and Tian, K. (2022). Integrated analysis of lncRNAs and mRNAs by RNA-Seq in secondary hair follicle development and cycling (anagen, catagen and telogen) of Jiangnan cashmere goat (Capra hircus). *BMC Veterinary Research*: *18*(1), 1-23.

Zhao, J., Qin, H., Xin, J., Liu. N., Han, R., Perez, F. and Li, H. (2020). Discovery of genes and proteins possibly regulating mean wool fibre diameter using cDNA microarray and proteomic approaches. *Scientific Reports*, *10*(1), 7726.

Zhou, P. (2011). Moledular characterization of transcriptome wide interactions between highly pathogenic porcine reproductive and respiratory syndrome virus and porcine alveolar macrophages in vivo. *International Journal of Biological Sciences:* 7, 947-959.