



## Genom-wide association study to identify the loci related to resistance in Leukosis disease in Iranian Holstein cattle

Farnaz Arjmand Kermani<sup>1</sup> | Hossein Moradi Shahr Babak<sup>2</sup> |  
Mohamad Moradi Shahr Babak<sup>3</sup> | Hossein Mohammadi<sup>4</sup> | Mahdi Jvan Nikkhah<sup>5</sup> |  
Younes Doosti<sup>1</sup>

1. Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. E-mail: [arjmand.farnaz@ut.ac.ir](mailto:arjmand.farnaz@ut.ac.ir), [y.devisty@ut.ac.ir](mailto:y.devisty@ut.ac.ir)
2. Corresponding Author, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. E-mail: [hmoradis@ut.ac.ir](mailto:hmoradis@ut.ac.ir)
3. Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. E-mail: [moradim@ut.ac.ir](mailto:moradim@ut.ac.ir)
4. Assistant Professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Arak University, Arak, Iran. E-mail: [h-mohammadi64@araku.ac.ir](mailto:h-mohammadi64@araku.ac.ir)
5. Aras International Campus, University of Tehran, Jolfa, Iran. E-mail: [javannikkhah@yahoo.com](mailto:javannikkhah@yahoo.com)
6. Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. E-mail: [y.devisty@ut.ac.ir](mailto:y.devisty@ut.ac.ir)

### Article Info

**Article type:**  
Research Article

**Article history:**  
Received 26 June 2024  
Received in revised form  
18 August 2024  
Accepted 2 September 2024  
Published online 30 September 2024

### Keywords:

Bovine Leukemia  
Genotype  
GWAS  
Lymphocyte  
SNP

### ABSTRACT

**Introduction:** Bovine Leukemia Virus (BLV) infection is more common in dairy cattle herds. The main cause of leukosis is the disease that leads to the creation of cancerous lymphocytes in different organisms of the body and affects different species, including cattle. This disease reduces milk production and causes reproductive diseases, and finally the removal of infected animals. Due to trade restrictions and deaths caused by lymphosarcoma, it causes direct economic losses, which is also related to the decrease in milk production and the increase in the elimination rate. No treatment or vaccine is known for this disease so far. Therefore, studying the genomic regions related to susceptibility to BLV infection can be effective in controlling and treating this disease and genetic improvement of animals. This research aimed to perform a whole genom-wide association study (GWAS) study of cattle to identify genomic regions and candidate genes associated with BLV infection.

**Material and Methods** This study was conducted using Holstein cows that were naturally infected with BLV. For this purpose, blood samples of 150 Holstein cows in an industrial dairy cattle farm in Isfahan were collected, and DNA and serum of them were extracted. The prepared DNA samples were genotyped using k30 microarrays (SNPchip30k) (by Illumina). Quality control of sequences for rare allele frequency components ( $P_{MAF} < 0.05$ ), missing genotype ( $P_{MIND} > 0.05$ ), genotyping rate ( $P_{GENO} > 0.05$ ), and Hardy-Weinberg equilibrium ( $P_{H-W} < 1 \times 10^{-6}$ ) and significance test was performed by PLINK software. Analysis of the ontology of genes was done by the online database <https://www.Uniprot.org> and finally, the ontology diagram of genes was drawn and analyzed by the online database PANTHER.

**Results and Discussion:** After control analyzing, 145 cows (77 cases and 68 controls) and 22868 markers were left for further analysis, finally 8 markers higher than the significant threshold were identified, and most significant markers were located on chromosomes 17 and 21. Using ensemble sites and geneCards, genes associated with significant selected markers were identified. The most important of them were *GRK4*, *TP53BP1*, *SCAPER*, *GLRB*, *PDGFC*, *TNIP2*, *PSTPIP1*, *CEP350*, *MRI*, *TOM1L2*, *SREBF1*, *COPS* and *TNFRSF13B*. Gene Ontology (GO) analysis showed that these genes are more involved in protein-coding and play a role in regulating enzyme activities, intercellular exchanges, DNA stability, calcium activity, nervous system, and lipid activity. Also, according to other research, these genes played a role in cases such as infectious poison lesions, subclinical ketosis disease, BCS of cattle, fatty acid metabolism and fat deposition, various infections such as mastitis, and in meat traits and muscle stiffness in beef cattle. It should be noted that some of these genes were related to the pathways of innate immunity, humoral immunity, and cancer tumors.

**Conclusion:** Therefore, it can be concluded that whole genome wide association study analysis as well as gene ontology analysis to identify genomic regions related to viral infections such as leukemia can be effective in designing treatment methods and prevention methods and in choosing Genomics and breeding programs in Iranian dairy cows.

**Cite this article:** Arjmand Kermani, F., Moradi Shahr Babak, H., Shahr Babak, M., Mohammadi, H., Jvan Nikkhah, M., & Doosti, Y. (2024). Genom-wide association study to identify the loci related to resistance in Leukosis disease in Iranian Holstein cattle. *Journal of Animal Production*, 26 (3), 219-232. DOI: <https://doi.org/10.22059/jap.2024.378583.623799>





## مطالعه پویس کل ژنوم جهت شناسایی جایگاه‌های ژنتیکی مرتبط با بیماری لکوز در گاوهای هلشتاین ایران

فرناز ارجمندکرمانی<sup>۱</sup> | حسین مرادی شهر بابک<sup>۲</sup> | محمد مرادی شهر بابک<sup>۳</sup> | حسین محمدی<sup>۴</sup> | مهدی جوان نیکخواه<sup>۵</sup> | یونس دوستی<sup>۶</sup>

۱. گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: [arjmand.farnaz@ut.ac.ir](mailto:arjmand.farnaz@ut.ac.ir)

۲. نویسنده مسئول، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: [hmoradis@ut.ac.ir](mailto:hmoradis@ut.ac.ir)

۳. گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: [moradim@ut.ac.ir](mailto:moradim@ut.ac.ir)

۴. گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اراک، اراک، ایران. رایانامه: [h-mohammadi64@araku.ac.ir](mailto:h-mohammadi64@araku.ac.ir)

۵. گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، پردیس بین‌المللی ارس، دانشگاه تهران، جلفا، ایران. رایانامه: [javannikkhah@yahoo.com](mailto:javannikkhah@yahoo.com)

۶. گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: [y.devisty@ut.ac.ir](mailto:y.devisty@ut.ac.ir)

### چکیده

### اطلاعات مقاله

عفونت ویروس لوسمی گاوی (BLV) بیش‌تر در گله‌های شیری شیوع داشته و به دلیل محدودیت‌های تجاری و مرگ‌ومیر ناشی از لنفوسارکوم باعث ضررهای اقتصادی مستقیم می‌شود که هم‌چنین با کاهش تولید شیر و افزایش نرخ حذف نیز مرتبط می‌باشد. هدف از این پژوهش، مطالعه پویس کل ژنوم (GWAS) برای شناسایی مناطق ژنومی و ژن‌های کاندیدا مرتبط با عفونت به BLV بود. این مطالعه با استفاده از گاوهای هلشتاین ایران که به‌طور طبیعی به BLV آلوده شده بودند، انجام گرفت. بدین منظور از ۱۵۰ راس گاو هلشتاین در یکی از گاو‌داری‌های صنعتی اصفهان، نمونه‌خون جمع‌آوری و از آن‌ها استخراج DNA و سرم انجام گردید. سپس نمونه‌های DNA آماده‌شده با استفاده از تراشه‌های k30 (SNPchip30k) (توسط شرکت ایلومینا) تعیین ژنوتیپ شدند. کنترل کیفیت نشانگرهای تعیین ژنوتیپ‌شده براساس شاخص‌های فراوانی آلل نادر ( $PMAF > 0.05$ )، ژنوتیپ از دست‌رفته ( $PMIND < 0.05$ )، نرخ تعیین ژنوتیپ ( $PGENO < 0.05$ ) و تعادل هاردی-واینبرگ ( $PH-W < 1 \times 10^{-6}$ ) توسط نرم‌افزار PLINK انجام شد. بعد از آنالیز کنترل کیفیت ۱۴۵ راس گاو (۷۷ بیمار و ۶۸ شاهد) و ۲۲۸۶۸ نشانگر برای ادامه آنالیز باقی‌ماند. پس از انجام آنالیز پویس کل ژنوم در برنامه PLINK در نهایت هشت نشانگر بالاتر از حد آستانه معنی‌داری، شناخته شدند که بیش‌ترین نشانگرهای معنی‌دار در کروموزوم‌های ۱۷ و ۲۱ قرار داشتند. با بررسی بیوانفورماتیکی مناطق ژنومی معنی‌دار با استفاده از پایگاه‌های برخط ensemble و genecards، ژن‌های مرتبط با نشانگرهای معنی‌دار انتخاب شده، شناسایی شدند که مهم‌ترین آن‌ها GRK4، TP53BP1، SCAPER، GILRB، PDGFC، TNIP2، PSTPIP1، CEP350، MR1، TOM1L2، SREBF1، COPS3 و TNFRSF13B بودند.

نوع مقاله: مقاله پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۴/۰۶

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۵/۲۸

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۶/۱۲

تاریخ انتشار: ۱۴۰۳/۰۷/۰۹

### کلیدواژه‌ها:

ژنوتیپ

لنفوسیت

لوسمی گاوی

GWAS

SNP

**استناد:** ارجمندکرمانی، فرناز؛ مرادی شهر بابک، حسین؛ مرادی شهر بابک، محمد؛ محمدی، حسین؛ جوان نیکخواه، مهدی و دوستی، یونس (۱۴۰۳). مطالعه

پویس کل ژنوم جهت شناسایی جایگاه‌های ژنتیکی مرتبط با بیماری لکوز در گاوهای هلشتاین ایران. نشریه تولیدات دامی، ۲۶ (۳)، ۲۱۹-۲۳۲.

DOI: <https://doi.org/10.22059/jap.2024.378583.623799>



## ۱. مقدمه

بیماری لکوز نخستین بار در آلمان، در سال ۱۸۷۱ (میلادی) توسط لسسرینگ پس از دیدن برآمدگی‌های زرد رنگ در طحال متورم گاو توصیف شد. در سال ۱۹۱۱ برای اولین بار در اروپای شرقی گزارش و در سال ۱۹۶۹ عامل آن (ویروس لوسمی گاو (BLV)<sup>۱</sup> و لکوز آنژوتیک گاو) شناسایی شد، که با اسامی متفاوتی چون لکوز، لوسمی، لنفومای بدخیم و لنفوسارکوم شناخته می‌شود (Kim *et al.*, 2015). این ویروس سرطان‌زا با RNA تک‌رشته‌ای، از جنس دلتا رتروویروس اگزوزن بوده و در خانواده retroviridae قرار می‌گیرد (Reginald, 1999). BLV با وارد کردن DNA پروویروس خود در DNA سلول میزبان، باعث ایجاد عفونت مداوم در تعدادی از لنفوسیت‌های B محیطی شده و احتمالاً در تمام طول زندگی حیوان پایدار باقی می‌ماند (Hemmatzadeh & Momtaz, 2007)، همچنین یکی از بیماری‌های کشنده ویروسی می‌باشد که منجر به تومورهای بدخیم دستگاه رتیلولاندوتلیال شده و می‌تواند توده‌هایی از لنفوسیت‌های سرطانی را در بافت‌های مختلف ایجاد کند (Radostits *et al.*, 2000). دوره نهفته بیماری، معمولاً از سه تا ۱۶ هفته متغیر بوده و نواحی که معمولاً درگیر می‌شود شامل روده، رحم، کلیه، کبد، قلب و طحال می‌باشد. نشانه‌های بالینی این بیماری برحسب عضو مبتلا متفاوت خواهد بود و دارای علائمی چون بی‌حالی، کم‌خونی، لاغری، ضعف عضلانی، کاهش شیر و تورم غده‌های لنفی سطحی می‌باشد که اغلب در دام‌های بالغ بالای سه سال مشاهده می‌شود (Carlson, 2002; Radostits *et al.*, 2007). لکوز ضررهای اقتصادی قابل توجهی را به صنعت گاوداری وارد کرده و هزینه‌های زیادی جهت کنترل و ریشه‌کنی آن صرف می‌شود (Carlson, 2002) که شامل کاهش تولید شیر، کاهش ارزش لاشه، کاهش فعالیت‌های تولیدمثلی، حذف گاو مبتلا به لنفوسارکوم، کاهش طول عمر و افزایش بیماری‌های تولیدمثلی در گله می‌باشند، اما پیامدهای غیرمستقیم این بیماری مانند هزینه جایگزینی حیوان، هزینه تشخیص و مراقبت‌های دامپزشکی و محدودیت در صادرات گاو و اسپرم از اهمیت بیش‌تری برخوردارند (Radostits *et al.*, 2007).

اکثر ضررهای اقتصادی که اشاره شده، در گاوهای هلستاین ایران نیز بروز پیدا کرده و باعث کاهش و افت تولید در واحدهای صنعتی می‌شود (Mohammadi *et al.*, 2011). شیوع عفونت در بین گله‌ها متفاوت بوده و به عواملی چون جنس، سن، نوع پرورش و مدیریت بستگی دارد (Saifi, 1384). همچنین میزان عفونت در گاوهای شیری بیش‌تر از گاوهای گوشتی بوده است که به واسطه تماس بیش‌تر می‌باشد نه یک حساسیت نژادی خاص (Radostits *et al.*, 2007).

## ۲. پیشینه پژوهش

محمدی و همکاران (۲۰۱۱) با بررسی ۱۳۷ گاو در تهران به‌روش ال‌ایزا، درصد آلودگی به لکوز آنژوتیک را ۲۹/۹ درصد به‌دست آوردند که شیوع بیش‌تری نسبت به کشورهای پیشرفته دارای پایش سلامت منظم دارد (Mohammadi *et al.*, 2011). روش‌های تشخیص و شناسایی بیماری لکوز شامل خنثی‌سازی سرم، سنجش ایمنی با مواد رادیواکتیو، آگار ژل ایمونودیفیوژن (AGID)<sup>۲</sup>، ال‌ایزا، واکنش زنجیره‌ای پلیمرز و وسترن بلاتینگ است که رایج‌ترین این روش‌ها AGID و ال‌ایزا<sup>۱</sup> سرم و شیر می‌باشند.

از سال ۱۹۷۰ با پیشرفت دانش ژنتیک مولکولی، روش‌های ارزیابی جدیدی برای دستیابی به ارزش اصلاحی با استفاده از نشانگرهای (SNP)<sup>۳</sup> ارائه شد (Abdullahi *et al.*, 2013). مطالعات پویش کل ژنومی (GWAS)<sup>۴</sup> برای

1. Bovine leukemia virus  
2. Agar Gel Immunodiffusion  
4. Single Nucleotide Polymorphism  
5. Genome Wide Association Study

شناسایی وابستگی بین یک نشانگر SNP و یک صفت به‌وسیله نشانگرهای با تراکم بالا در سطح ژنوم انجام می‌شود (Goddard and Hayes, 2009). مطالعه‌ای توسط Abdalla و همکاران (۲۰۱۶) در جمعیت گاوهای هلشتاین ایالات متحده انجام شد که از ۱۱۵۵۴ گاو هلشتاین در ۱۲ گله و در ۱۶ ایالت استفاده شد. پویش کل ژنوم نشان داد که BLV یک صفت پلی‌ژن و پیچیده می‌باشد که توسط ژن‌های زیادی کنترل می‌شود. تجزیه و تحلیل مجموعه غنی‌سازی ژنی (GSEA)<sup>۱</sup>، مسیرهای مختلفی از جمله مسیر سیگنالینگ گیرنده جفت‌شده با پروتئین G، تنظیم فرایندهای متابولیکی نوکلئوتیدی و فرایندهای مختلف مرتبط با کلسیم را به‌عنوان مسیرهای مرتبط با عفونت BLV شناسایی کردند. یافته‌های مربوط به GWAS و GSEA می‌تواند در درک بهتر ساختار ژنتیکی این بیماری کمک‌کننده باشد (Abdalla et al., 2016).

مطالعات مختلفی جهت شناسایی ژن‌های کاندید برای ویروس لوسمی گاوی تحت عنوان پویش کل ژنوم انجام و به شناسایی ژن‌های عملکردی مرتبط با مسیرهای مختلف زیستی و ایمنی و مقاومت در برابر بیماری‌ها از جمله *CNTN3* (Takishima et al., 2017)، *TRAM2*، *TUBB5*، *PKHD1*، *CD2AP*، *CRISP1*، *GRP111*، *LER3*، *LTB*، *DOA1*؛ (Mekata & Yamamoto, 2022) *SPATA16*؛ (Carignano et al., 2018) *TFAP2D*، *TNXB*، *AP4B1*، *PNPLA1*؛ (Brym et al., 2016). این مطالعات نشان داد که عوامل ژنتیکی می‌توانند در حساسیت به عفونت BLV نقش مهمی را ایفا کنند. بنابراین با توجه به اهمیت صفات سلامت و هم‌چنین نقش مؤثر نژاد هلشتاین در تولید شیر و زیان‌های اقتصادی ناشی از این بیماری که گاو‌داری‌های صنعتی متحمل می‌شوند، شناسایی دام‌های حساس و مقاوم به این بیماری می‌تواند نقش به‌سزایی در کاهش و جلوگیری از آلودگی گاو‌داری‌ها به این عفونت داشته باشد.

در این پژوهش هدف استفاده از مارکرهای پلی‌مورفیسم تک‌نوکلئوتیدی (SNP) با تراکم بالا برای شناسایی ژن‌ها و جایگاه‌های ژنتیکی مرتبط با بیماری لکوز و آل‌های مقاوم به این بیماری، با استفاده از روش پویش کل ژنوم (GWAS) بود که می‌تواند در انتخاب علیه این بیماری مؤثر باشد. این اولین مطالعه پویش ژنومی مرتبط با بیماری لکوز در گاوهای هلشتاین ایران می‌باشد.

### ۳. روش‌شناسی پژوهش

در این پژوهش از اطلاعات فنوتیپ (شماره حیوان، شماره پدر و مادر، سال زایش، جنس حیوان و نوع تولد (یک یا دوقلو) و سن مادر هنگام زایش) مربوط به گاوهای هلشتاین یک گاو‌داری صنعتی در اصفهان استفاده شد. در ابتدا گاوها از لحاظ بیمار یا سالم بودن نسبت به بیماری لکوز آزمایش شدند (الایزا نمونه خون) و گاوهای آلوده و سالم شناسایی و گروه‌بندی و تعیین فنوتیپ صورت گرفت. بدین منظور از ۱۵۰ راس گاو هلشتاین خون‌گیری به‌عمل آمد و استخراج سرم و DNA از آن‌ها صورت گرفت (پنج راس گاو به‌دلیل در دسترس نبودن اطلاعات فنوتیپی و ژنوتیپی از روند آنالیز حذف شدند). تعیین ژنوتیپ ۱۴۵ گاو هلشتاین (۶۸ راس دام سرم منفی، ۷۷ راس دام سرم مثبت) با استفاده از ریزآرایه‌های ۳۰K (SNPchip30k) شرکت Gene seek ایلومینا انجام شد. برای ویرایش اولیه داده‌های ژنومی با استفاده از نرم‌افزار PLINK، نیاز به تهیه فایل ped و map بود. فایل map به‌ترتیب شامل چهارستون شماره نوکلئوتید، نام snp، فاصله ژنتیکی و فاصله فیزیکی بود که از پایگاه اطلاعاتی هم‌چنین فایل ped به‌ترتیب شامل نژاد، شماره دام، شماره پدر، شماره مادر، اثر ثابت (در اینجا اثر جنس لحاظ شد) ستون مربوط به فنوتیپ و سپس برای هر جایگاه نشانگر، جفت نوکلئوتید (آل رفت) بود که این فایل نیز با استفاده از نرم‌افزارهای Exel (Microsoft office 2019) و Texpad (نسخه 5,3,1,0) تهیه شد.

برای کنترل کیفیت داده‌های تعیین ژنوتیپ شده از معیارهای فراوانی نرخ تعیین ژنوتیپ دامها ( $P_{MIND} > 0.05$ )، نرخ تعیین ژنوتیپ مارکرها ( $P_{GENO} > 0.05$ )، تعادل هاردی-واینبرگ ( $P_{H-W} < 1 \times 10^{-6}$ ) و فراوانی آلل حداقل ( $P_{MAF} < 0.05$ ) (Teo et al., 2007) به‌عنوان معیاری از خطای تعیین ژنوتیپ، طبق دستور نرم‌افزار PLINK (نسخه ۱/۰۶) استفاده شد (Purcell et al., 2007)، سپس آنالیز GWAS در PLINK مطابق دستور برنامه انجام شد. جهت تعیین سطح معنی‌داری، از تصحیح بنفرونی ( $\beta = \alpha/n$ ) استفاده شد که n تعداد آزمون (در این مطالعه تعداد مارکرهای مورداستفاده) و  $\alpha$  خطای آزمایشی (در سطح ۰/۰۵) می‌باشد. جهت تصویرسازی و بررسی سطح معنی‌داری مارکرها از گراف منهن (نرم‌افزار SNPEVG نسخه ۳/۲) و برای یافتن ارتباط جایگاه‌های شناسایی‌شده مرتبط با ژن‌ها و عملکرد آن‌ها به‌ترتیب از پایگاه‌های بر خط Ensemble (قسمت Biomart) و Genecards استفاده شد. آنالیز هستی‌شناسی ژن‌ها توسط پایگاه بر خط <https://www.Uniprot.org> انجام و در نهایت نمودار هستی‌شناسی (GO) ژن‌ها توسط پایگاه بر خط PANTHER ترسیم و موردبررسی قرار گرفت.

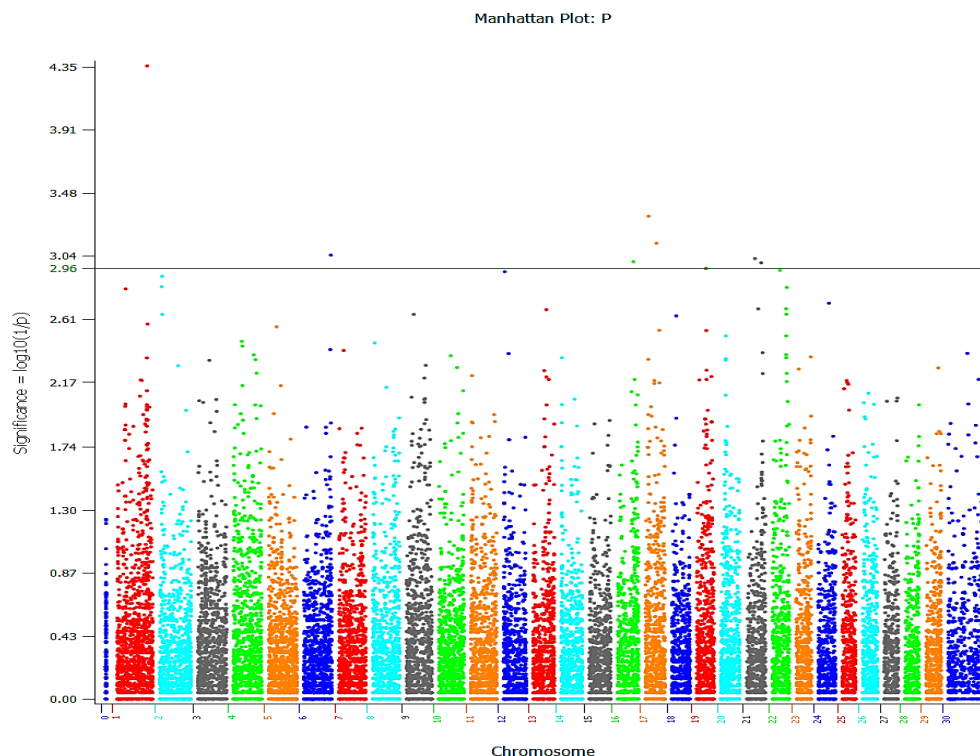
#### ۴. یافته‌های پژوهشی و بحث

از مجموع ۱۵۰ راس گاو نمونه‌برداری‌شده، ۱۴۵ راس گاو دارای اطلاعات فنوتیپی و ژنومی وارد مرحله آنالیز شدند که از این ۱۴۵ راس دام براساس آزمایش‌الایزا، ۶۸ راس دام در گروه سالم یا مقاوم (سرم منفی سالم) و ۷۷ راس دام در گروه بیمار (سرم مثبت) دسته‌بندی شدند. بعد از کنترل کیفیت، پنج راس گاو به‌دلیل ژنوتیپ از دست‌رفته ( $MIND > 0.05$ ) حذف شدند؛ ۶۸۲۸ نشانگر به‌دلیل فراوانی آلل نادر ( $MAF < 0.05$ )، ۳۳۹ نشانگر به‌دلیل نرخ تعیین ژنوتیپ ( $GENO > 0.05$ ) و هشت نشانگر با تعادل هاردی-واینبرگ ( $H-W < 1 \times 10^{-6}$ ) حذف شدند. در نهایت ۱۴۰ راس گاو با تعداد ۲۲۸۶۸ نشانگر باقی و در آنالیز GWAS مورداستفاده قرار گرفتند. مراحل مختلف کنترل کیفیت در جدول (۱) آورده شده است.

جدول ۱. مراحل مختلف کنترل کیفیت داده‌های حاصل از تعیین ژنوتیپ

مؤلفه	قبل از کنترل کیفیت	حذف‌شده	بعد از کنترل کیفیت
تعداد دام با ژنوتیپ از دست‌رفته ( $MIND > 0.05$ )	۱۴۵	۵	۱۴۰
تعداد نشانگرها با فراوانی آلل نادر ( $MAF < 0.05$ )	۳۰۰۴۳	۶۸۲۸	۲۳۲۱۵
تعداد نشانگر با ژنوتیپ از دست‌رفته ( $GENO > 0.05$ )	۳۰۰۴۳	۳۳۹	۲۹۷۰۴
تعداد نشانگر با تعادل هاردی واینبرگ ( $H-W < 1 \times 10^{-6}$ )	۳۰۰۴۳	۸	۳۰۰۳۵

بعد از تکمیل مراحل کنترل کیفیت، آنالیز پویش کل ژنوم (GWAS) انجام شد و فایل نهایی GWAS به‌ترتیب شامل شماره کروموزوم، نام نشانگر، موقعیت فیزیکی و سطح معنی‌داری (P-value) بود که نشانگرها (براساس یک درصد SNPهای معنی‌دار شده در سطح ۰/۰۵) انتخاب و گراف منهن رسم شد (شکل ۱). در این پژوهش هشت نشانگر بالاتر از حد آستانه، برای ادامه آنالیز در نظر گرفته‌شده و بیش‌ترین نشانگرهای معنی‌دار در کروموزوم‌های ۲۱ و ۱۷ بودند. مهم‌ترین ژن‌های شناسایی‌شده مرتبط با نشانگرهای معنی‌دار در جدول (۲) نشان داده شده‌اند (توسط پایگاه‌های برخط [genecards.org](http://genecards.org) و [ensembl.org](http://ensembl.org)).



شکل ۱. گراف منهتن جهت تصویرسازی و مشاهده نشانگرهای حاصل از آنالیز GWAS

مطالعه‌ای مشابهی توسط Brym و همکاران (۲۰۱۶)، تحت عنوان ارتباط ژنومی برای پاسخ به ویروس لوسمی گاوی بر روی ۷۳ گاو هلشتاین انجام دادند که وضعیت BLV گاوها با استفاده از الایزا سرم، nested-PCR و شمارش هماتولوژیک تعیین و پویش کامل ژنوم با استفاده از تراشه ۵۰k صورت گرفت. در نتیجه ۹ نشانگر معنی‌دار با استفاده از آنالیز GWAS تعیین و بیش‌ترین نشانگرها روی کروموزوم‌های سه، هشت و ۲۳ قرار داشتند (Brym *et al.*, 2016). در این پژوهش طبق مطالعه Carignano و همکاران (۲۰۱۸) و هم‌چنین مطالعه Gao و همکاران (۲۰۱۸)، ژن‌ها در فاصله 1Mb (۵۰۰kb بالا و ۵۰۰kb پایین) از SNP‌های معنی‌دار شده، مورد بررسی قرار گرفتند.

جدول ۲. ژن‌های مرتبط با جایگاه‌های معنی‌دار با استفاده از آزمون GWAS

مهم‌ترین ژن شناسایی شده	P Value	موقعیت فیزیکی	ID نشانگر	شماره کروموزوم
PPP2R3A, MSL2, STAG1	...۴۴۸۶/۰	۱۳۳۳۳۳۹۶۷	BTB-00061242	۱
REELD1, POU4F2, LSM6, ZNF827	...۴۸۳۳/۰	۱۲۱۱۴۳۸۲	BovineHD1700003491	۱۷
GLRB, PDGFC	./...۷۴۰۷	۴۲۵۸۴۹۶۵	BTB-01680332	۱۷
GRK4, LRPAP1, HTT, TNIP2, FAM193, RNF4	...۸۹۳۹/۰	۱۱۵۷۹۳۵۱	ARS-BFGL-NGS-117080	۶
SCAPER, TMEM266, ETFA, ISL2, PSTPIP1	...۹۴۸۳/۰	۳۱۹۶۰۶۳۶	ARS-BFGL-NGS-119025	۲۱
ACBD6, CEP350, MR1, LHX4, TSPAN3, XPR1, STX6	...۹۹۱۷/۰	۶۱۶۹۲۲۸۶	BovineHD1600017306	۱۶
TP53BP1, FKBP3, TUBGCP4, PPIP5K1, CKMT1A, MFAP1, PDIA3	...۱۰۰۹/۰	۵۵۲۲۶۶۴۱	BovineHD2100015790	۲۱
ATPAF2, TOM1L2, SREBF1, COPS3, TNFRSF13B, TMEM11, MAP2K3	./...۱۱۰۴	۳۴۸۳۶۴۱۶	ARS-BFGL-NGS-1097	۱۹

با توجه به آنالیز هستی‌شناسی و اطلاعات مربوط به پایگاه‌های بر خط genecards و ensemble عملکرد برخی ژن‌های شناسایی شده به صورت زیر است:

*PPP2R3A* این ژن کدکننده یکی از زیرواحدهای تنظیمی پروتئین فسفاتاز ۲ ( $B^{\alpha}$ ) و در کنترل منفی رشد و تقسیم سلولی نقش دارد. بیماری‌های مرتبط با این ژن عبارتند از تاکی کاردی بطنی، پلی‌مورفیک کاتکول آمینرژیک و اختلال عملکرد دهلیزی. از مسیرهای مرتبط با آن می‌توان به سیگنالینگ p70S6K و سیگنالینگ بتا آدرنرژیک اشاره کرد. حاشیه‌نویسی هستی‌شناسی (GO) مربوط به این ژن شامل اتصال یون کلسیم و فعالیت تنظیم‌کننده پروتئین فسفاتاز است. پارالوگ مهم این ژن *PPP2R3B* است. مطالعه‌ای که در گاو هلشتاین کانادایی بر روی ضایعات سم عفونی با رویکرد ارتباط ژنومی و تجزیه و تحلیل عملکردی انجام شد، نشان داد که ژن *PPP2R3A* در کروموزوم یک با ضایعات سم عفونی در ارتباط است، درحالی‌که این ژن در این پژوهش برای بیماری لکوز شناسایی شده است (Malchiodi *et al.*, 2018). *GRK4* یک ژن کدکننده پروتئین بوده که عضوی از زیرخانواده گیرنده کیناز پروتئین متصل‌شونده به نوکلئوتید گوانین (پروتئین G) را کد کرده و به‌طور خاص فرم‌های فعال گیرنده‌های جفت‌شده با پروتئین G را فسفریله و موجب غیرفعال شدن آن‌ها می‌شود. این ژن با فشار خون ژنتیکی و اکتسابی و سندرم هرمانسکی-پودلاک ارتباط دارد و از مسیرهای مرتبط با آن می‌توان به فوتوترنس‌داکشن (انتقال نوری بینایی) و مسیرهای آرامش و انقباض میومتر اشاره کرد. هستی‌شناسی این ژن شامل فعالیت ترانسفراز، انتقال گروه‌های حاوی فسفر و فعالیت پروتئین تیروزین کیناز بوده و پارالوگ مهم این ژن *GRK5* می‌باشد. یک تجزیه تحلیل عملکردی به روش پویش کل ژنوم (GWAS) برای کتوز بالینی و تحت بالینی در گاو هلشتاین، جهت شناسایی ژن‌های مرتبط انجام شد. ژن *GRK4* که در این مطالعه برای بیماری لکوز تعیین شد، یکی از ژن‌های شناسایی شده بر روی کروموزوم ۶، برای حساسیت به کتوز تحت بالینی شیر نیز بود (Soares *et al.*, 2021). *TP53BP1* یک ژن کدکننده پروتئین بوده که نقش‌های متعددی را در پاسخ به آسیب DNA و ساختار سه‌بعدی ایفا کرده و ارتقای مسیرهای NHEJ را موجب می‌شود. بیماری‌های مرتبط با این ژن شامل میکروسفالی و کوریوریتینوپاتی و اتوزومال مغلوب بوده و حاشیه‌نویسی‌های هستی‌شناسی ژن مربوط به آن شامل اتصال DNA به توالی خاص و اتصال p53 است (Blasiak *et al.*, 2021). *ACBD6* یک ژن کدکننده پروتئین بوده و پیش‌بینی می‌شود که باعث فعال شدن اتصال لیپیدی و اتصال آسیل-CoA، تنظیم فعالیت آنزیم‌های  $NMT^1$  و محافظت از سیستم‌های غشایی در برابر ماهیت شویندگی استیل‌کوآهای آزاد می‌شود. بیماری‌های مرتبط با این ژن شامل کمبود هورمون هیپوفیز بوده و از مسیرهای مرتبط با آن می‌توان به متابولیسم اسیدهای چرب اشاره کرد. حاشیه‌نویسی‌های هستی‌شناسی ژن مربوط به این ژن شامل اتصال لیپیدی و اتصال چربی آسیل-CoA است (Soupene & Kuypers, 2019). *SCAPER* یک ژن کدکننده پروتئین است که در سیتوزول و هسته قرار دارد و پیش‌بینی می‌شود که باعث فعال شدن اتصال اسیدنوکلئیک و اتصال یون روی می‌شود. بیماری‌های مرتبط با این ژن شامل اختلال رشد فکری و رتینیت پیگمانتوزا و اختلال گفتار است. حاشیه‌نویسی‌های هستی‌شناسی ژن مربوط به آن شامل اتصال اسید نوکلئیک است. یک مطالعه فراتحلیلی (متاآنالیز) برای تشخیص اثر انتخاب بر روی هفت جمعیت گاو گوشتی اسپانیا انجام گرفت که نشان داد ژن *SCAPER* در کروموزوم ۲۱، بین جفت باز ۳۲،۲۰۷،۲۶۴ و ۳۲،۴۱۴،۳۱۶ قرار دارد که در شبکه آندوپلاسمی و در تنظیم چرخه سلولی نقش دارد (Gonzalez-Rodriguez *et al.*, 2016).

## ۱.۴. آنالیز هستی‌شناسی ژن‌ها (GO)

آنالیز هستی‌شناسی برای برخی از ژن‌های شناسایی شده توسط پایگاه برخط <https://www.Uniprot.org> براساس سه دسته‌بندی عمومی اجزای سلولی<sup>۱</sup>، عملکرد مولکولی<sup>۲</sup> و فرایندهای زیستی<sup>۳</sup> انجام و نتیجه در جدول (۳) درج شده است.

جدول ۳. آنالیز هستی‌شناسی مهم‌ترین ژن‌های شناسایی شده با استفاده از آزمون GWAS

ژن	اجزای زیستی	عملکرد مولکولی	فرایند زیستی
PPP2R3A	بخشی از کمپلکس پروتئین فسفاتاز	اتصال یون کلسیم، فعالیت پروتئین فسفاتاز، اتصال یون فلزی	تنظیم فعالیت کاتالیزوری، دفسفوریلاسیون پروتئین، توسعه سومیت
GRK4	سیتوپلاسم، سیتوزول، غشا، پلاسمایی	اتصال ATP، فعالیت پروتئین کیناز، فعالیت رودوپسین کیناز	فسفوریلاسیون پروتئین، تنظیم مسیر سیگنالینگ G پروتئین، تنظیم و هدایت انتقال سیگنال
TP53BP1	سیتوپلاسم، کمپلکس ترمیم DNA، کیتوکور، نوکلئوپلاسم، هسته	اتصال DNA آسیب دیده، اتصال هیستون، اتصال به DNA، تلومریک، فعالیت تنظیم‌کننده رونویسی	پاسخ سلولی به اشعه ایکس، تنظیم فعالیت رونویسی، هم‌الیگومریزاسیون پروتئین
ACBD6	سیتوزول	اتصال آسیل CoA	_____
SCAPER	سیتوزول، شبکه آندوپلاسمی، نوکلئوپلاسم	اتصال اسید نوکلئیک، اتصال یون روی	رشد فولیکول تخمدان، رشد شبکه چشم، اسپرما توژنیز
GLRB	دندریت، غشای پلاسمایی، غشای پس سیناپسی، اتصال گلیسین	فعالیت کانال یونی و کانال کلرید، فعالیت گیرنده انتقال دهنده عصبی، مسیر سیگنالینگ نوروپپتیدی، اتصال کمپلکس حاوی پروتئین	انتقال سیناپسی شیمیایی، انتقال غشایی یون، فرایند سیستم عصبی، هدایت سیگنال
PDGFC	سیتوزول، لومن شبکه آندوپلاسمی، فضای خارج سلولی، هسته، غشای پلاسمایی	اتصال گیرنده فاکتور رشد، فعالیت همودایمریزاسیون پروتئین	توسعه سیستم عصبی مرکزی، توسعه دستگاه گوارش، رشد اندام جنینی، تنظیم تقسیم سلولی، تنظیم فعالیت MAP کیناز
TNIP2	سیتوزول، نوکلئوپلاسم	اتصال یون فلزی، اتصال پروتئین وابسته به اصلاح پلی یوبیکوئیتین، اتصال پروتئین کیناز	واکنش التهابی، تنظیم فعال‌سازی سلول‌های B، تنظیم فعال‌شدن ماکروفاژها
PSTPIP1	رشته اکتین، سیتوزول، ناحیه دور هسته‌ای سیتوپلاسم	اتصال رشته اکتین، اتصال پروتئین یکسان	پلیمریزاسیون رشته اکتین، چسبندگی سلولی، اندوسیتوز، واکنش التهابی، پاسخ ایمنی ذاتی، هدایت سیگنال
CEP350	سیتوپلاسم، غشا، هسته، دوک	اتصال میکروتوبول	استحکام میکروتوبول، لکالیزاسیون پروتئین در سانتوزوم
MRI	غشای شبکه آندوپلاسمی، غشای گلژی	اتصال بتا ۲ میکروگلوبولین، اتصال به گیرنده سلول T	پاسخ ایمنی ذاتی، تنظیم سمیت سلولی به واسطه سلول T علیه سلول تومور، تمایز سلول‌های T در تیموس
TOM1L2	اندوزوم، اگزوزوم خارج سلولی، غشا	اتصال پروتئین کیناز	تنظیم منفی تقسیم هسته‌ای میتوزی، انتقال پروتئین، هدایت سیگنال
SREBF1	کروماتین، سیتوزول، شبکه آندوپلاسمی، نوکلئوپلاسم	فعالیت گیرنده های هسته ای، اتصال پروتئین کیناز، اتصال عنصر پاسخ استرول، اتصال همزمان تنظیم‌کننده رونویسی	ترشح انسولین، فرایند متابولیک لیپید، تنظیم ضربان قلب توسط سیگنال شیمیایی، تنظیم ذخیره چربی، تنظیم رونویسی توسط RNA پلیمراز
COPS3	سیتوپلاسم، نوکلئوپلاسم، هسته	_____	در رشد جنینی رحم، تنظیم پاسخ آسیب DNA، فرایند کاتابولیک پروتئین وابسته به یوبیکوئیتین
TNFRSF13B	غشای پلاسمایی	فعالیت گیرنده سیگنال	پاسخ ایمنی ذاتی، هموستاز سلول B، مسیر سیگنالینگ گیرنده سطح سلولی، تنظیم تکثیر سلول‌های B

*GLRB*، این ژن زیرواحد بتا گیرنده گلیاسین را کد می‌کند که نقش مهمی در کاهش تحریک‌پذیری عصبی دارد و به تولید جریان‌های پس‌سیناپسی بازدارنده کمک می‌کند. مسیرهای مرتبط با آن عبارتند از انتقال از طریق سیناپس‌های شیمیایی و بیان *CFTR* وابسته به آدرنرژیک بتا-۲. جهش در این ژن باعث بیماری هایپراکپلکسی ارثی شده که با سفتی عضلانی مشخص می‌شود. میوکلونوس مادرزادی ارثی گوساله‌ها، یک بیماری اتوزوم مغلوب است که طی مطالعه‌ای با ژن *GLRB* در ارتباط می‌باشد (Pierce et al., 2001). *PDGFC* یک ژن کدکننده پروتئین و فاکتور رشد است. این ژن در

1. Cellular Component
2. Molecular Function
3. Biological Process

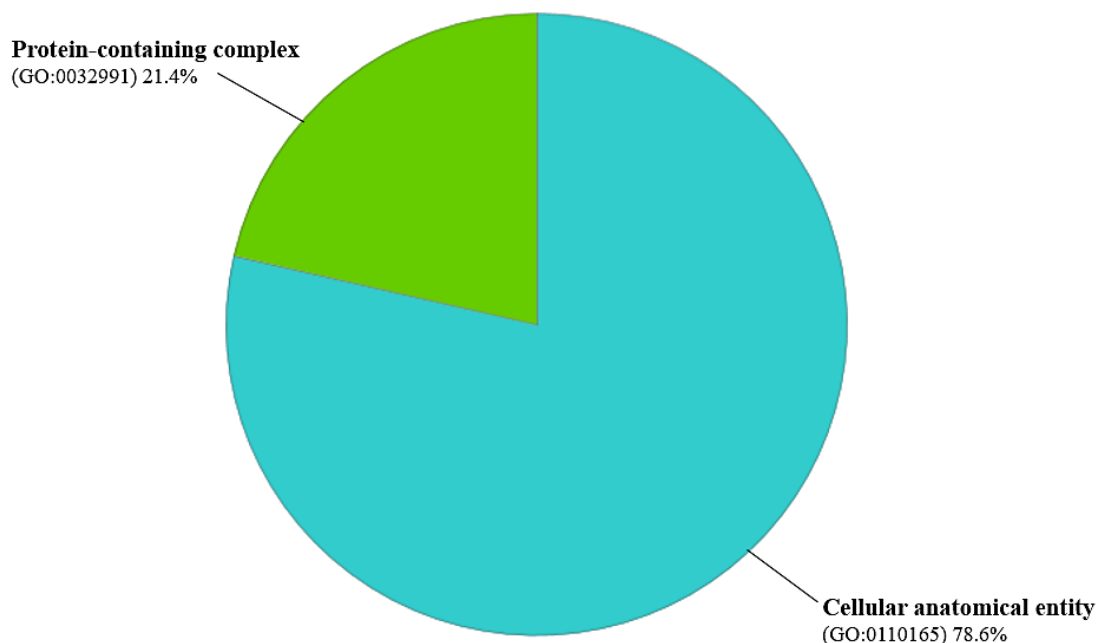


تنظیم بسیاری از فرایندهای بیولوژیکی از جمله رشد جنینی، رگ‌زایی، تمایز و تکثیر سلولی نقش اساسی دارد و بنظر می‌رسد که نقش مهمی در بهبود زخم، در سه مرحله التهاب، تکثیر و بازسازی داشته باشد. هم‌چنین به رشد طبیعی قلب، گوش، سیستم عصبی مرکزی و کلیه کمک می‌کند. در بیماری پیشرونده کلیه، گلیوبلاستوما، مدولوبلاستوما و فیبروز نقش دارند (Reigstad et al., 2005). طی مطالعه‌ای نشان داده شد که *PDGF-Cb* ممکن است به‌عنوان یک مولکول تنظیم‌کننده منفی ترشح *PDGF-C* عمل کند و هم‌چنین در تومورزایی نیز نقش دارد (Zhao et al., 2008). *LRPAP1* این ژن پروتئینی را رمزگذاری می‌کند که با پروتئین مرتبط با گیرنده لیوپروتئین تعامل می‌کند. هم‌چنین طی مطالعه‌ای این ژن با رسوب چربی در نژادهای گوسفند در ارتباط بود (Taghizadeh et al., 2022). *TNIP2* طی مطالعه‌ای در فرایند التهابی و هم‌چنین در پاسخ ایمنی ذاتی نقش داشته و یک کمپلکس سه تایی را با *NFKB1* و *MAP3K8* تشکیل می‌دهد، اما به‌نظر می‌رسد که در بالادست *MAP3K8* در مسیر سیگنالینگ *TLR4* عمل می‌کند. در سلول‌های اندوتلیال نیز نقش داشته و ممکن است به‌عنوان فعال‌کننده رونویسی عمل کند (Lou and Huang, 2020). *PSTPIP1* این ژن یک پروتئین اسکلت سلولی را کد می‌کند که در بافت‌های خون‌ساز بیان می‌شود و از مسیرهای مرتبط با آن می‌توان به التهاب و بیماری اشاره کرد. هم‌چنین باعث فعال‌سازی سلول T شده و در ایمنی ذاتی، پاسخ التهابی و در تنظیم اسکلت سلولی اکتین نقش دارد (Badour et al., 2003). *CEP350*، محصول این ژن پروتئینی مرتبط با اسکلت سلولی است. طبق مطالعه غنی‌سازی مجموعه ژن (GSEA) که بر روی گاوهای هلشتاین چینی انجام شد، نشان داد که ژن *CEP350* با گلبول‌های سفیدخون، التهاب، مسیرهای مربوط به شیردهی در گاوهای شیری و ایمنی در ارتباط است (Chen et al., 2022). به‌نظر می‌رسد که *MRI* بخشی از پاسخ ایمنی ذاتی را تشکیل می‌دهد. توسعه این ژن به لنفوسیت‌های B وابسته بوده و به‌عنوان یک حسگر ایمنی متابولوم سلول سرطانی عمل می‌کند، هم‌چنین ممکن است یک متابولیت خاص تومور یا مرتبط با تومور را برای بقای سلول‌های سرطانی ارائه دهد (Goldfinch, 2010). *TOMIL2*، نقش این ژن در پاسخ به ایمنی و احتمالاً در سرکوب تومور است. کاهش آن باعث افزایش خطر ابتلا به عفونت، تشکیل تومور، افزایش تعداد سلول‌های B و T و اختلال در پاسخ هومورال می‌شود (Girirajan et al., 2008). *SREBF1* از مسیرهای مرتبط با این ژن می‌توان به متابولیسم استروئیدها و بیان ژن (رونویسی) اشاره کرد. *SREBF1* قادر به تحریک بیان ژن لیپوژنیک و کلسترول‌نیک بوده و برای پاسخ ایمنی ذاتی در ماکروفاژها با تنظیم متابولیسم لیپید، مورد نیاز می‌باشد، هم‌چنین با متابولیسم اسید چرب شیر نیز در ارتباط است. در مطالعه‌ای بیان شده که پلی‌مورفیسم‌های ژنتیکی در *SREBF1* می‌توانند برای ترکیب اسید چرب سالم‌تر استفاده شوند (Nafikov et al., 2013). *COPS3*، پروتئین کدگذاری شده توسط این ژن دارای فعالیت کیناز است که تنظیم‌کننده‌های دخیل در انتقال سیگنال را فسفریله می‌کند. در مطالعه‌ای که بر روی گاوهای مبتلا به عفونت ورم پستان انجام شد، نشان داده شد که بیان اکثر ژن‌های بتا دفسین<sup>1</sup> مثل *COPS*، در بافت مشتق شده از پستان‌های آلوده به باکتری، بسیار بیش‌تر از پستان‌های عاری از باکتری است (Kościuczuk et al., 2014). پروتئین کدگذاری شده توسط *TNFRSF13B*، یک عضو خاص لنفوسیتی از خانواده گیرنده فاکتور نکروز تومور (TNF)<sup>2</sup> است. بیماری‌های مرتبط با *TNFRSF13B* عبارتند از کمبود ایمنی و ایمونوگلوبولین A2. این ژن در تحریک عملکرد سلول‌های B و T و نیز در تنظیم ایمنی هومورال نقش دارد (Salzer et al., 2009). *MAP2K3* پروتئین کدگذاری شده توسط این ژن یک پروتئین کیناز با ویژگی دوگانه است که به خانواده MAP کیناز کیناز تعلق دارد. این کیناز برای بیان ناقل گلوکز ضروری بوده و می‌تواند توسط انسولین فعال شود. مطالعه‌ای در گاو نشان داد که این ژن در چربی عضلانی و متابولیسم چربی نقش دارد (Taye et al., 2017).

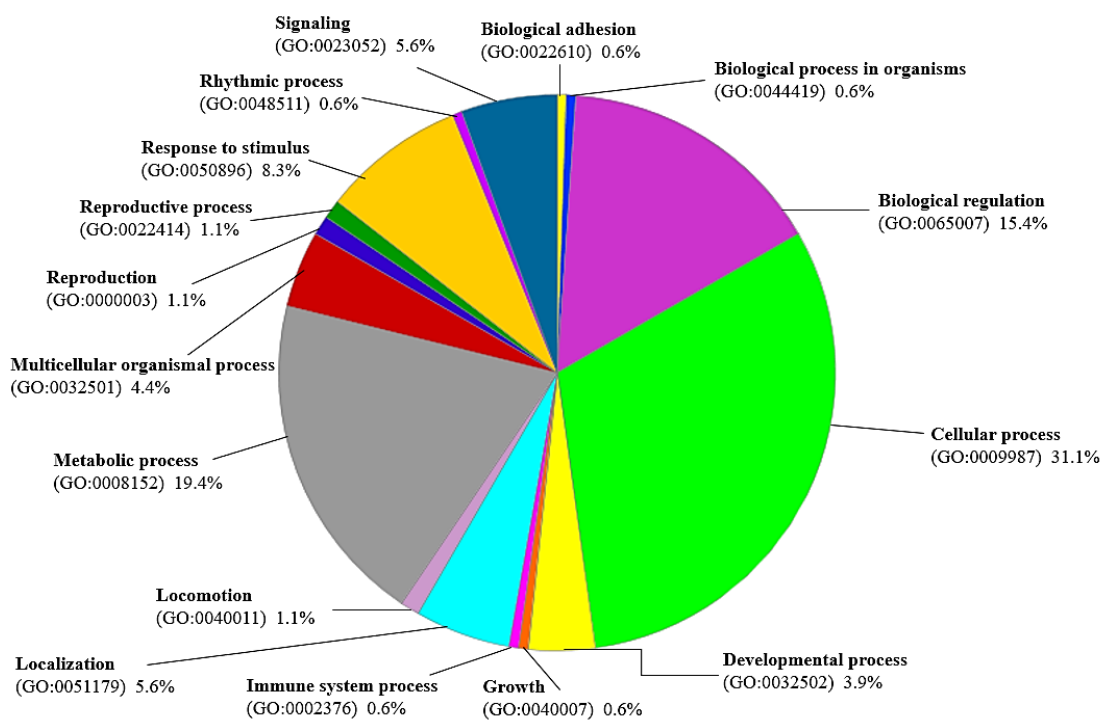
1. Beta Defensin

2. Tumor Necrosis Factor

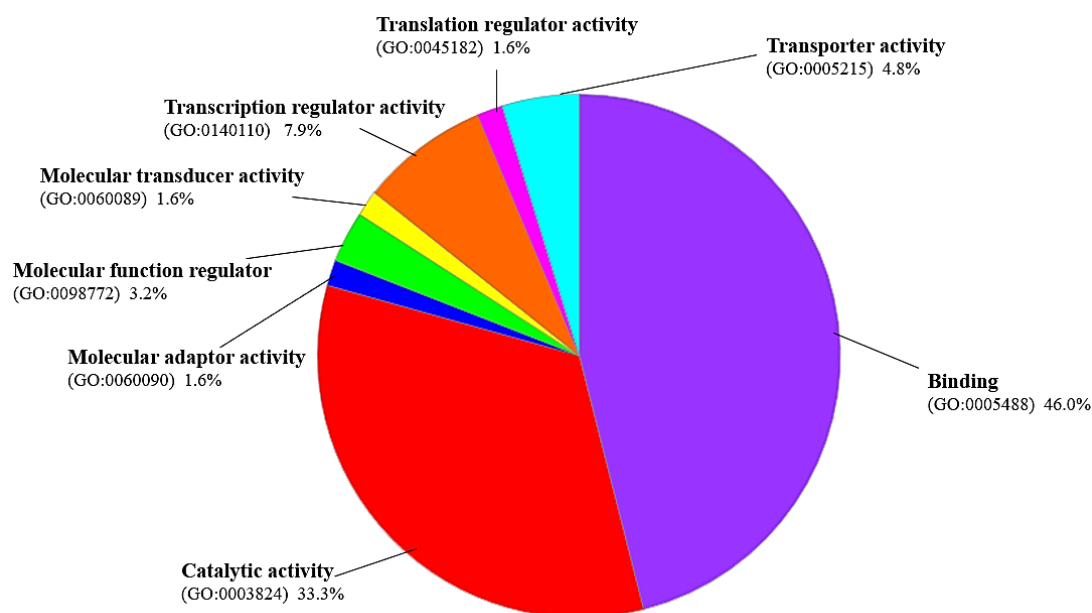
آنالیز هستی‌شناسی برای کل ژن‌های شناسایی‌شده، براساس سه دسته‌بندی اجزای سلولی (شکل ۲)، فرایندهای زیستی (شکل ۳) و عملکرد مولکولی (شکل ۴) با نمودار دایره‌ای توسط پایگاه بر خط PANTHERdb.org رسم شد.



شکل ۲. آنالیز هستی‌شناسی (GO) ژن‌های شناسایی‌شده مرتبط با بیماری لکوز برای اجزای سلولی (C-C)



شکل ۳. آنالیز هستی‌شناسی (GO) ژن‌های شناسایی‌شده مرتبط با بیماری لکوز برای فرایندهای زیستی (B-P)



شکل ۴. آنالیز هستی‌شناسی (GO) ژن‌های شناسایی شده مرتبط با بیماری لکوز برای اجزای زیستی (M-F)

بعضی از ژن‌های شناخته شده در این پژوهش که با ژن‌های دیگر (یا هم خانواده آن‌ها) مشترک بودند، در سایر مطالعات برای عفونت به BLV نیز گزارش شدند. ژن *CEP104* و *RNF123* به ترتیب بر روی کروموزوم ۲۲ و ۱۶ گاوی که برای عفونت به BLV گزارش شده‌اند، با ژن *RNF4* و *CEP350* واقع در کروموزوم ۶ و ۱۶ گاوی که در این پژوهش شناسایی شد، در یک خانواده قرار داشتند (Brym *et al.*, 2016; Sahana *et al.*, 2014). در مطالعه‌ای گزارش شد که ژن‌های *TP53BP1*، *TNFRSF13B* و *MAP2K3* در تحریک عملکرد سلول‌های B و T و تنظیم ایمنی همورال نقش دارند (Falini *et al.*, 2022; Salzer *et al.*, 2009). طی مطالعه پویش کل ژنومی در جمعیت گاو هلشتاین چینی، ژن‌های *ETFA*، *TMEM266* و *ISL2* را که مربوط به سازگاری، سلامت و صفات تولید مثل و ایمنی بود را شناسایی کردند (Liu *et al.*, 2021). نکته قابل توجه این که، این سه ژن جزء ژن‌های شناسایی شده در این پژوهش بودند که با مطالعه Liu و همکاران (۲۰۲۱) مطابقت داشت. هم‌چنین ژن‌های *TNIP2*، *PSTPIP1*، *CEP350*، *MR1*، *TOM1L2*، *TP53BP1* و *TNFRSF13B* در مسیرهای مهمی چون پاسخ ایمنی ذاتی و التهابی، فعال‌سازی سلول‌های T و B، سرکوب تومور و تنظیم ایمنی همورال نقش دارند که با توجه سایر گزارش‌های احتمال داده می‌شود که این ژن‌ها نقش اساسی را در مقاومت علیه عفونت BLV در گاوهای هلشتاین ایران ایفا می‌کنند.

## ۵. نتیجه‌گیری و پیشنهادها

در این پژوهش یک آنالیز پویش کل ژنومی موردی-شاهدی، برای عفونت به BLV در گاو هلشتاین ایران صورت گرفت. هم‌چنین بیش‌ترین نشانگرهای معنی‌دار در کروموزوم‌های ۱۷ و ۲۱ قرار داشت. نتایج هستی‌شناسی نشان داد که بیش‌تر این ژن‌ها کدکننده پروتئین بوده و در تنظیم فعالیت‌های آنزیمی، تبادلات بین سلولی، پایداری DNA، فعالیت کلسیمی، سیستم عصبی و فعالیت لپیدی نقش دارند. مهم‌ترین ژن‌های شناسایی شده مرتبط با این بیماری *GRK4*، *TP53BP1*، *TNIP2*، *PSTPIP1*، *CEP350*، *MR1*، *TOM1L2*، *SREBF1*، *COPS* و *TNFRSF13B* هستند که این ژن‌ها طبق

پژوهش‌های دیگر در مواردی از قبیل ضایعات عفونی سم، بیماری کتوز تحت بالینی، BCS گاو، متابولیسم اسیدهای چرب و رسوب چربی، عفونت‌های مختلف مثل ورم پستان و در صفات گوشت و سفتی عضلانی در گاوهای گوشتی نقش داشتند، همچنین مرتبط با مسیرهای ایمنی ذاتی، ایمنی هومورال و تومورهای سرطانی بودند. بنابراین می‌توان گفت شناخت مناطق ژنومی مرتبط با عفونت‌های ویروسی مانند لکوز، می‌تواند در طراحی روش‌های درمانی و راه‌های پیشگیری مؤثر باشد و همچنین در انتخاب ژنومی و برنامه‌های اصلاح نژادی در گاوهای شیری ایران نیز مفید خواهد بود.

## ۶. تشکر و قدردانی

از شرکت فکای اصفهان جهت در اختیار قراردادن نمونه‌های گاو سالم و بیمار برای انجام پژوهش حاضر، تشکر و قدردانی می‌گردد.

## ۷. تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

## ۸. منابع

- Abdalla, E. A., Peñagaricano, F., Byrem, T. M., Weigel, K. A., & Rosa, G. J. M. (2016). Genome-wide association mapping and pathway analysis of leukosis incidence in a US Holstein cattle population. *Animal genetics*, 47(4), 395-407.
- Abdullahi Arpanahi, R., Pakdel, A., & Zandi Bagche Mariam, M. B. (2013). From the infinitesimal inheritance model with partial effects (modelInfinitesimal) to genomic selection. *New genetics*, 7(29-2). (in Perian).
- Badour, K., Zhang, J., Shi, F., McGavin, M. K., Rampersad, V., Hardy, L. A., Field, D., & Siminovitch, K. A. (2003). The Wiskott-Aldrich syndrome protein acts downstream of CD2 and the CD2AP and PSTPIP1 adaptors to promote formation of the immunological synapse. *Immunity*, 18(1), 141-154.
- Blasiak, J., Szczepańska, J., Sobczuk, A., Fila, M., & Pawłowska, E. (2021). RIF1 Links Replication Timing with Fork Reactivation and DNA Double-Strand Break Repair. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(21), 11440.
- Brym, P., Bojarójc-Nosowicz, B., Oleński, K., Hering, D. M., Ruśc, A., Kaczmarczyk, E., & Kamiński, S. (2016). Genome-wide association study for host response to bovine leukemia virus in Holstein cows. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 175, 24-35.
- Carignano, H. A., Roldan, D. L., Beribe, M. J., Raschia, M. A., Amadio, A., Nani, J. P., & Miretti, M. M. (2018). Genome-wide scan for commons SNPs affecting bovine leukemia virus infection level in dairy cattle. *BMC genomics*, 19(1), 1-15.
- Carlson, G. (2002). Diseases of the hematopoietic and hemolymphatic systems. *Large Animal Internal Medicine*, ed, 3, 1042-1043.
- Chen, Q. Z., Yang, M. Y., Liu, X. Q., Zhang, J. N., Mi, S. Y., Wang, Y. J., & Yu, Y. (2022). Blood transcriptome analysis and identification of genes associated with supernumerary teats in Chinese Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 105(12), 9837-9852.
- Falini, B., Martino, G., & Lazzi, S. (2022). A comparison of the International Consensus and 5th World Health Organization classifications of mature B-cell lymphomas. *Leukemia*, 1-17.
- Gao, Y., Jiang, J., Yang, S., Cao, J., Han, B., Wang, Y., & Sun, D. (2018). Genome-wide association study of Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis infection in Chinese Holstein. *BMC genomics*, 19(1), 1-10.
- Girirajan, S., Hauck, P. M., Williams, S., Vlangos, C. N., Szomju, B. B., Solaymani-Kohal, S., & Elsea, S. H. (2008). Tom112 hypomorphic mice exhibit increased incidence of infections and tumors and abnormal immunologic response. *Mammalian Genome*, 19(4), 246-262.

- Goddard, M. E., & Hayes, B. J. (2009). Mapping genes for complex traits in domestic animals and their use in breeding programmes. *Nature Reviews Genetics*, 10(6), 381-391.
- Goldfinch, N. G. (2010). Characterisation of mucosal associated invariant T-cells and MR1 in ruminants.
- González-Rodríguez, A., Munilla, S., Mouresan, E. F., Cañas-Álvarez, J. J., Díaz, C., Piedrafitá, J., & Varona, L. (2016). On the performance of tests for the detection of signatures of selection: a case study with the Spanish autochthonous beef cattle populations. *Genetics Selection Evolution*, 48(1), 1-12.
- Hemmatzadeh, F., & Momtaz, H. (2007). Detection of bovine Leukemia virus antigens expressed in lymph node tumors that induce humoral immunity in cow. *Journal of Veterinary Research*, 62(3), 281-284.
- Kim, E. S., Sonstegard, T. S., & Rothschild, M. F. (2015). Recent artificial selection in US Jersey cattle impacts autozygosity levels of specific genomic regions. *BMC genomics*, 16(1), 1-10.
- Kościuczuk, E. M., Lisowski, P., Jarczak, J., Krzyżewski, J., Zwierzchowski, L., & Bagnicka, E. (2014). Expression patterns of  $\beta$ -defensin and cathelicidin genes in parenchyma of bovine mammary gland infected with coagulase-positive or coagulase-negative Staphylococci. *BMC Veterinary Research*, 10(1), 1-14.
- Liu, D., Chen, Z., Zhao, W., Guo, L., Sun, H., Zhu, K., & Pan, Y. (2021). Genome-wide selection signatures detection in Shanghai Holstein cattle population identified genes related to adaption, health and reproduction traits. *BMC genomics*, 22(1), 1-19.
- Lou, Y., & Huang, Z. (2020). microRNA-15a-5p participates in sepsis by regulating the inflammatory response of macrophages and targeting TNIP2. *Experimental and therapeutic medicine*, 19(4), 3060-3068.
- Malchiodi, F., Brito, L. F., Schenkel, F. S., Christen, A. M., Kelton, D. F., & Miglior, F. (2018). Genome-wide association study and functional analysis of infectious and horn type hoof lesions in Canadian Holstein cattle. In Proceedings of the World Congress on Genetics Applied to Livestock Production.
- Mekata, H., & Yamamoto, M. (2022). Single-Nucleotide Polymorphism on Spermatogenesis Associated 16 Gene-Coding Region Affecting Bovine Leukemia Virus Proviral Load. *Veterinary Sciences*, 9(6), 275.
- Meuwissen, T. H., Hayes, B. J., & Goddard, M. (2001). Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *genetics*, 157(4), 1819-1829.
- Mohammadi, V., Atyabi, N., & Nikbakht, B. G. (2011). Seroprevalence of bovine leukemia virus in some dairy farms in Iran. *Global Veterinaria*, 7(3), 305-309.
- Nafikov, R. A., Schoonmaker, J. P., Korn, K. T., Noack, K., Garrick, D. J., Koehler, K. J., & Beitz, D. C. (2013). Sterol regulatory element binding transcription factor 1 (SREBF1) polymorphism and milk fatty acid composition. *Journal of dairy science*, 96(4), 2605-2616.
- Pierce, K. D., Handford, C. A., Morris, R., Vafa, B., Dennis, J. A., Healy, P. J., & Schofield, P. R. (2001). A nonsense mutation in the  $\alpha 1$  subunit of the inhibitory glycine receptor associated with bovine myoclonus. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 17(2), 354-363.
- Purcell, S., Neale, B., Todd-Brown, K., Thomas, L., Ferreira, M. A., Bender, D., & Sham, P. C. (2007). PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *The American journal of human genetics*, 81(3), 559-575.
- Radostits, O. M., Gay, C. C., Blood, D. C., & Hinchcliff, K. W. (2000). Mastitis In: *Veterinary Medicine, A Textbook of the Diseases of Cattle, Sheep, Pigs, Goats and Horses*. Edn. 9th publ. Book power with Saunders, London, 611-613.
- Radostits, O. M., Gay, C. C., Hinchcliff, K. W., & Constable, P. D. (2007). A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats. *Veterinary medicine*, 10, 2045-2050.
- Reginald, J. (1999). Bovine Leukemia Virus. *Current Veterinary therapy (Food Animal Practice)*. 4th ed. Saunders Company, pp: 296-299.
- Reigstad, L. J., Varhaug, J. E., & Lillehaug, J. R. (2005). Structural and functional specificities of PDGFC and PDGFD, the novel members of the platelet-derived growth factors family. *The FEBS journal*, 272(22), 5723-5741.
- Sahana, G., Guldbrandsen, B., Thomsen, B., Holm, L. E., Panitz, F., Brøndum, R. F., & Lund, M. S. (2014). Genome-wide association study using high-density single nucleotide polymorphism arrays and whole-genome sequences for clinical mastitis traits in dairy cattle. *Journal of dairy science*, 97(11), 7258-7275.
- Saifi Abad Shapouri, M. (2005). *Viral diseases of cattle*. Author: Robert Karz, first edition, Shahid Chamran University of Ahvaz Printing and Publishing Department, 157-171. (in Persian)
- Salzer, U., Bacchelli, C., Buckridge, S., Pan-Hammarström, Q., Jennings, S., Lougaris, V., & Grimbacher, B. (2009). Relevance of biallelic versus monoallelic TNFRSF13B mutations in distinguishing disease-causing from risk-increasing TNFRSF13B variants in antibody deficiency syndromes. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 113(9), 1967-1976.

- Sender, G., Korwin-Kossakowska, A., Pawlik, A., Hameed, K. G. A., & Oprzadek, J. (2013). Genetic Basis of Mastitis Resistance in Dairy Cattle-A Review/Podstawy Genetyczne Odpornosci Krow Mlecznych Na Zapalenie Wymienia-Artykul Przegladowy. *Annals of Animal Science*, 13(4), 663.
- Soares, R. A. N., Vargas, G., Duffield, T., Schenkel, F., & Squires, E. J. (2021). Genome-wide association study and functional analyses for clinical and subclinical ketosis in Holstein cattle. *Journal of Dairy Science*, 104(9), 10076-10089.
- Soupene, E., & Kuypers, F. A. (2019). ACBD6 protein controls acyl chain availability and specificity of the N-myristoylation modification of proteins [S]. *Journal of lipid research*, 60(3), 624-635.
- Taghizadeh, S., Gholizadeh, M., Moradi, M. H., Costilla, R., Moore, S., & Di Gerlando, R. (2022). Genome-wide identification of copy number variation and association with fat deposition in thin and fat-tailed sheep breeds. *Scientific Reports*, 12(1), 1-12.
- Takeshima, S. N., Sasaki, S., Meripet, P., Sugimoto, Y., & Aida, Y. (2017). Single nucleotide polymorphisms in the bovine MHC region of Japanese Black cattle are associated with bovine leukemia virus proviral load. *Retrovirology*, 14(1), 1-7.
- Taye, M., Kim, J., Yoon, S. H., Lee, W., Hanotte, O., Dessie, T., & Kim, H. (2017). Whole genome scan reveals the genetic signature of African Ankole cattle breed and potential for higher quality beef. *BMC genetics*, 18(1), 1-14.
- Teo, Y. Y., Fry, A. E., Clark, T. G., Tai, E. S., & Seielstad, M. (2007). On the usage of HWE for identifying genotyping errors. *Annals of Human genetics*, 71(5), 701-703.
- Zhao, J., Liu, Z., Liu, T., Nilsson, S., & Nistér, M. (2008). Identification and expression analysis of an N-terminally truncated isoform of human PDGF-C. *Experimental cell research*, 314(14), 2529-2543.