

اثرات QTL‌هایی با سطوح مختلف غالبیت بر الگوهای عدم تعادل پیوستگی حاصل از جهش

- آرش سیاه‌منصوری‌خورین: گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین- پیشوا
- عباس جهان‌بخشی*: گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین- پیشوا
- قباد عسگری‌جعفرآبادی: گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین- پیشوا

تاریخ دریافت: تیر 1393 تاریخ پذیرش: آبان 1393

چکیده

در این تحقیق جمعیتی از 160 فرد نر و 320 ماده با ژنومی متشکل از 4 کروموزوم شبیه‌سازی شد. کروموزوم اول دارای 100 جایگاه 2 آللی پیوسته و کروموزوم‌های دیگر هر یک دارای 50 جایگاه 2 آللی بودند. سپس یک جهش تاثیرگذار در جایگاه 50 کروموزوم 1 با اثر ژنوتیپی معادل نصف انحراف معیار افزایشی صفت مورد نظر قرار داده شد. سایر جایگاه‌های این کروموزوم به‌عنوان نشانگرهای اسنیپ قابل ردیابی در نظر گرفته شد. با فرض آمیزش تصادفی والدین، 2 فرزند به ازای هر والد ماده و انتخاب 50% از فرزندان نر به‌عنوان والدین نر نسل بعد براساس ارزش‌های اصلاحی بدون انتخاب در مسیر ماده‌ها، 50 نسل مجزا شبیه‌سازی گردید. در انتهای هر نسل، عدم تعادل پیوستگی و فراوانی آللی برای جایگاه‌های کروموزوم 1 برای سطوح مختلف غالبیت به‌دست آمد. نتایج نشان داد که سطوح مختلف غالبیت مورد نظر این پژوهش، تاثیری در ایجاد الگوهای عدم تعادل پیوستگی و شناسایی سوییب می‌توانند در تداوم سوییب نقش داشته باشند. اما سوییب نداشتند

کلمات کلیدی: عدم تعادل پیوستگی، سوییب، سطوح مختلف غالبیت، نشانگر



مقدمه

الگوهای واریانس ژنتیکی پیوسته می‌گذارد (McVean، 2007). این عدم تعادل پیوستگی به‌خاطر نوترکیبی در هر نسل بعد از سویپ کاهش می‌یابد (Zhang و همکاران، 2012). با بررسی‌هایی که بر روی ساختار عدم تعادل پیوستگی اطراف سویپ انجام شده مشاهده شده است که سویپ با توجه به موقعیت قرارگیری ژن تحت تاثیر جهش و نشانگرهای مجاورش و انتخابی که بر روی آن انجام می‌شود می‌تواند عدم تعادل پیوستگی را کاهش، افزایش و یا حذف کند (McVean، 2007). با استفاده از سویپ توانسته‌اند ژن‌هایی که صفت تجمع چربی در دم بعضی از نژادهای گوسفند را کنترل می‌کنند، شناسایی کنند (Moradi و همکاران، 2012). هم‌چنین با روش فوق مکان ژن‌هایی که صفت چربی شکمی در مرغ را کنترل می‌کند شناسایی شده است (Zhang و همکاران، 2012). به سویپ‌هایی که دارای نشانه‌های قوی بوده و تحت تاثیر یک جهش به‌وجود می‌آیند، سویپ سخت (Hard sweep) گفته شده است. در صورت ضعیف بودن نشانه‌های سویپ به آن سویپ نرم (Soft sweep) گویند (Borck، 2010؛ Hermisson و Pennings، 2005). هم‌چنین در سویپ سخت تداوم بیش‌تری در عدم تعادل پیوستگی مشاهده شده است (Santiago و Caballero، 2004). وقتی سویپ نرم اتفاق می‌افتد نوترکیبی به‌علت ساختار هاپلوتایپ‌ها، پیوستگی جایگاه‌ها را از بین برده که باعث کاهش عدم تعادل پیوستگی می‌شود و بالعکس در سویپ سخت تداوم در الگوهای عدم تعادل پیوستگی ایجاد شده مشاهده شده است (Borck، 2010). در این پژوهش انواع غالبیت که شامل عدم غالبیت، غالبیت کامل و فوق غالبیت بود در نظر گرفته شد. تفاوت این سطوح در تفاوت بین شایستگی هتروزیگوت‌ها و هموزیگوت‌ها بوده است که در عدم غالبیت شایستگی این دو برابر و در دو مورد دیگر شایستگی هتروزیگوت به-ترتیب 1 برابر و 2 برابر هموزیگوت-ها می‌باشد (فالكونر، 1389). تاکنون بررسی در زمینه

انتخاب ژنومیک یک روش انتخاب براساس میزان عدم تعادل پیوستگی (LD) ایجاد شده در مکان ژن مورد نظر و نشانگرهای مجاور بوده است که توانایی شناسایی مکان ژنی صفت کمی (QTL) را در ژنوم دارد که در این زمینه بالاترین میزان دقت انتخاب ژنومیک را در وراثت پذیری 0/4 گزارش کرده اند (Brito و همکاران، 2011). عدم تعادل پیوستگی یکی از عوامل مهم بررسی جهش در صفات مهم اقتصادی در حیوانات مزرعه می‌باشد (Santiago و Caballero، 2004). در تعریف کلاسیک عدم تعادل پیوستگی اشاره به ارتباط تصادفی آلل‌های بین دو جایگاه شده است. برای شناسایی مکان ژنی صفات کمی (QTL)، وجود عدم تعادل پیوستگی بین نشانگر و مکان ژنی مفروض ضروری می‌باشد و با برآورد میزان عدم تعادل پیوستگی می‌توان میزان پیوستگی آلل‌ها و نشانگرهای مجاور را در جایگاه‌های متفاوت شرح داد (Corbin و همکاران، 2010). عواملی چون جهش، مهاجرت، رانش و انتخاب باعث ایجاد عدم تعادل پیوستگی در جمعیت‌های کوچک خواهد شد (Hayes، 2011). انتخاب باعث افزایش عدم تعادل پیوستگی در ژن جهش یافته و نشانگرهای مجاور می‌شود (Moradi و همکاران، 2012). به‌علت پیوستگی که بین ژن تحت تاثیر انتخاب و نشانگرهای مجاور وجود دارد، عدم تعادل پیوستگی در این نشانگرها نیز افزایش پیدا می‌کند (Borck، 2010) و بالعکس با افزایش فاصله ژنتیکی بین نشانگرها و ژن تحت تاثیر انتخاب، عدم تعادل پیوستگی در نشانگرهای مورد نظر کاهش پیدا می‌کند (Garcia-Gamez و همکاران، 2012؛ Corbin و همکاران، 2010). شناسایی مکان ژنی انتخابی از طریق جستجوی تفاوت الگوی عدم تعادل پیوستگی نشانگرها در سطح ژنوم را سویپ (selective sweep) می‌نامند (کلبه‌داری، 1384). که در آن یک جهش سودمند به‌وسیله انتخاب، در جمعیت تثبیت می‌شود و یک تاثیر عمیق روی



دارای جهش تأثیرگذار مورد نظر بود با استفاده از دو معادله زیر به دست آمد. در انتها میانگین 30 تکرار شبیه سازی شده مورد بررسی قرار گرفت.

$D = \text{freq}(A_1B_1) \times \text{freq}(A_2B_2) - \text{freq}(A_1B_2) \times \text{freq}(A_2B_1)$
که در این معادله D برابر با میزان عدم تعادل پیوستگی و منظور از $\text{Freq}(A_1B_1), (A_2B_2), (A_1B_2), (A_2B_1)$ فراوانی جفت هاپلوتایپها می باشد.

$$r^2 = D / \text{freq}(A_1) \times \text{freq}(A_2) - \text{freq}(B_1) \times \text{freq}(B_2)$$

در معادله فوق عدم تعادل پیوستگی برای فراوانی آلی اصلاح شده و با r^2 نشان داده شده است و منظور از $\text{Freq}(A_1), (A_2), (B_2), (B_1)$ فراوانی آلی بوده است.

نتایج

در عدم غالبیت انتخاب برای آلل سودمند (QTL) در هر نسل باعث افزایش فراوانی آن و همچنین باعث انتخاب هاپلوتیپهای مجاور بود و در نتیجه باعث افزایش مقدار عدم تعادل پیوستگی گردید. این افزایش تا زمانی که آلل سودمند در جامعه تثبیت نشود ادامه خواهد داشت. پس از تثبیت آلل سودمند در جامعه میزان عدم تعادل پیوستگی کاهش پیدا خواهد کرد. نتایج نشان داده است که در نسل 1 مقدار عدم تعادل پیوستگی برای ژن جهش یافته مورد نظر بر روی مکان شماره 50 کروموزوم 1 برابر با 0/001 بوده است و فراوانی آلل این مکان در همان نسل نیز برابر 0/001 بود که سویپ شناسایی نگردید. سپس مشاهده شد که مقدار فراوانی آلل جهش یافته و مقدار عدم تعادل پیوستگی در همان جایگاه در مقایسه با جایگاههای کناری به شدت افزایش داشته است که نشان می دهد این مناطق به شدت تحت تأثیر انتخاب بوده اند. مقدار عدم تعادل پیوستگی تا نسل 16 افزایش داشت و برابر 0/17 بود و فراوانی آلی در این نسل نیز برابر 0/46 بود و در این نسل سویپ شناسایی شد. سپس عدم تعادل پیوستگی کاهش پیدا کرد که مقدار آن در نسل 48 برابر با

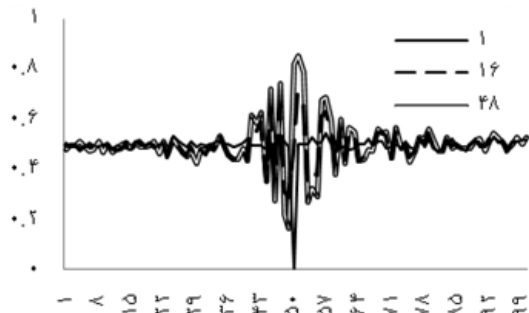
احتمال تفاوت الگوی سویپها در مورد ژنهایی با رفتارهای متفاوت انجام نشده است، این احتمال وجود دارد که وجود اثر متقابل بین آللهای یک جایگاه ژنی حاصل از جهش بر میزان و الگوی عدم تعادل پیوستگی تأثیرگذار باشد که نیز می تواند در شناسایی ژنهای مورد نظر تأثیرگذار باشد که بایستی مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روشها

جمعیتی از 160 فرد نر و 320 ماده با ژنومی متشکل از 4 کروموزوم با استفاده از زبان برنامه نویسی R شبیه سازی شد. کروموزوم اول با 100 جایگاه 2 آلی پیوسته و کروموزومهای دیگر هر یک با 50 جایگاه 2 آلی و برای تمامی جایگاههای کروموزومها به جز کروموزوم 1 اثرات ژنوتیپی شبیه سازی گردید. سپس یک جهش تأثیرگذار در جایگاه 50 کروموزوم 1 با اثر ژنوتیپی معادل نصف انحراف معیار افزایشی صفت مورد نظر قرار داده شد. به نحوی که همه افراد به جز فرد تحت تأثیر جهش برای آن جایگاه مونومورف بودند. سایر جایگاههای این کروموزوم به عنوان نشانگرهای اسنیپ قابل ردیابی در نظر گرفته شد. سپس سطوح مختلف غالبیت که شامل عدم غالبیت، غالبیت کامل و فوق غالبیت بود شبیه سازی گردید. با فرض آمیزش تصادفی والدین به نسبت 1 نر به 2 ماده، 2 فرزند با نسبت جنسیت مساوی به ازای هر والد ماده و انتخاب 50% از فرزندان نر به عنوان والدین نر نسل بعد بر اساس ارزشهای اصلاحی بدون انتخاب در مسیر ماده ها، 50 نسل مجزا در 30 تکرار شبیه سازی شد. با فرض توزیع یکنواخت جایگاهها بر روی کروموزومها فاصله ژنتیکی برای شبیه سازی وقایع مربوط به پیوستگی 1 سانتی مرگان در نظر گرفته شده بود. در انتهای هر نسل میزان عدم تعادل پیوستگی و فراوانی آلی برای کروموزوم 1 که

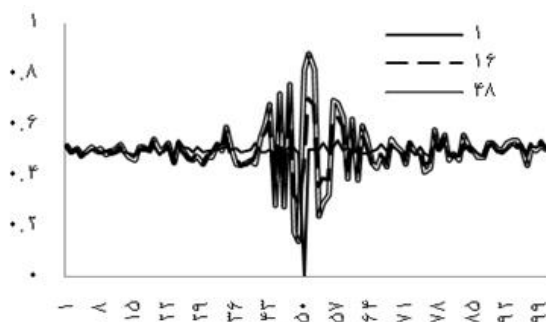


که مقدار آن در نسل 48 برابر 0/81 بود (شکل 2).



شکل 2: نمودار عدم غالبیت، فراوانی آلی نسل‌های 1، 16 و 48 کروموزوم 1

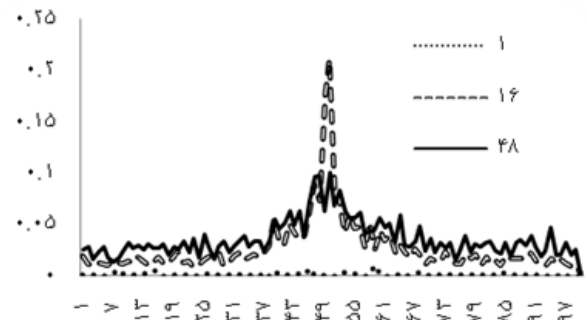
مجاور افزایش قابل توجهی نشان داده است. به علت اینکه در غالبیت کامل شایستگی یک هتروزیگوت برابر هموزیگوت آن بوده است همولوگ‌های مطلوب می‌تواند با شدت بیشتری مورد انتخاب قرار گیرد و امکان انتخاب هر کدام از هاپلوتایپ‌های مجاور آن نیز بیشتر بوده است. در نتیجه مقدار عدم تعادل پیوستگی بیشتر از حالت قبل بود. در صورتی‌که مانند حالت قبل غالبیت کامل تأثیری در ایجاد الگوهای حاصل از جهش و ایجاد سویپ و شناسایی بهتر سویپ نداشته است.



شکل 4: نمودار غالبیت کامل، فراوانی آلی نسل‌های 1، 16 و 48 کروموزوم 1

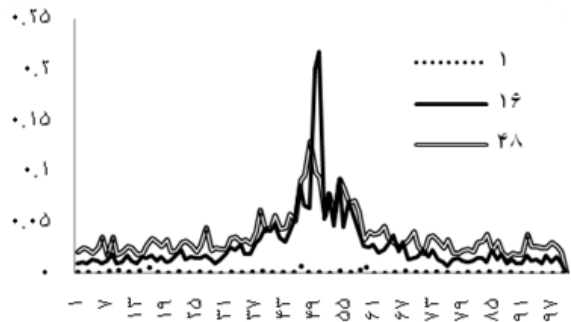
داشته است که مقدار آن در نسل 16 برابر 0/21 بود و سپس کاهش نشان داد که مقدار آن در نسل 48 برابر با 0/1 گزارش شد (شکل 5). نشانگرهای مجاور هم با توجه به

0/09 بوده است (شکل 1). اما فراوانی آل سودمند افزایش داشت



شکل 1: نمودار عدم غالبیت، عدم تعادل پیوستگی نسل‌های 1، 16 و 48 کروموزوم 1

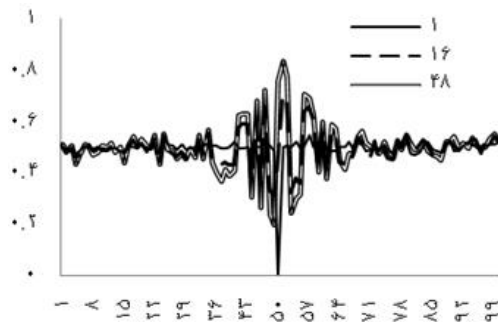
همچنین مشاهده گردید که میزان عدم تعادل پیوستگی با افزایش فاصله ژنتیکی بین ژن مورد نظر و نشانگرهای مجاور کاهش داشته است. همچنین در غالبیت کامل مانند حالت عدم تعادل پیوستگی تا نسل 16 افزایش داشت که مقدار آن برابر 0/21 بود و سپس کاهش نشان داد که در نسل 48 مقدار آن به 0/09 رسیده بود (شکل 3). اما فراوانی آل سودمند از نسل 1 تا 48 افزایش داشته است به صورتی که مقدار آن از 0/001 تا 0/81 تغییر کرده است (شکل 4). همچنین عدم تعادل پیوستگی در نشانگرهای



شکل 3: نمودار غالبیت کامل، عدم تعادل پیوستگی نسل‌های 1، 16 و 48 کروموزوم 1

الگوهای حاصل از ژن‌های متاثر از سطوح فوق غالبیت نشان داد که مانند دو حالت قبل مقدار عدم تعادل پیوستگی در مکان ژنی صفت کمی روی کروموزوم 1 افزایش

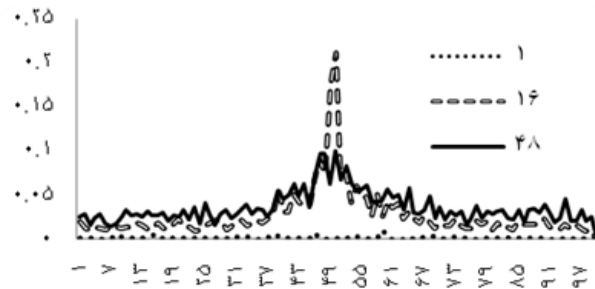
سودمند از نسل 1 تا 48 افزایش داشته است و مقدار آن از 0/001 به 0/75 رسیده است (شکل 6) که انتخاب علت این افزایش بوده است.



شکل 6: نمودار فوق غالبیت، فراوانی آلی نسل‌های 1، 16 و 48 کروموزوم 1

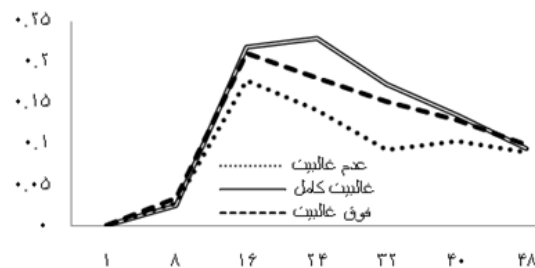
انتخاب بر پایه سویپ Hayes (2011) از معادلات ذکر شده در بالا برای محاسبه مقدار D و r^2 استفاده کرده‌اند. همچنین Moradi و همکاران (2012) برای شناسایی مناطق ژنومی وابسته به تجمع چربی در گوسفند با استفاده از ردیابی سویپ‌ها و Wray (2005) برای بررسی ارتباط فراوانی آلی و مقدار عدم تعادل پیوستگی از ضرایب D و r^2 استفاده کرده‌اند. در این مطالعه نیز مقدار عدم تعادل پیوستگی با استفاده از ضرایب D و r^2 محاسبه گردیده است. در مطالعه‌ای که McVean (2007) بر روی ساختار عدم تعادل پیوستگی اطراف سویپ ایجاد شده انجام دادند مشاهده کردند که عدم تعادل پیوستگی تحت تاثیر جهش در مکان‌هایی که سویپ ایجاد می‌شود افزایش داشته است. همچنین Brito و همکاران (2011) در انتخاب ژنومیک پی به افزایش عدم تعادل پیوستگی بین نشانگرها و QTL‌هایی که تحت تاثیر انتخاب بودند، بردند. در این تحقیق نیز مشاهده شد که میزان عدم تعادل پیوستگی در اثر انتخاب ژن مورد نظر (QTL) که تحت تاثیر جهش بود افزایش داشته است که بعد از مشاهده سویپ نیز تا چند نسل ادامه داشته و بعد از تثبیت جهش در اثر انتخاب در جامعه کاهش پیدا کرده

پیوستگی که با مکان مورد نظر داشتند افزایش قابل توجهی نشان دادند در نتیجه در نسل 16 سویپ مشاهده گردید. با توجه به کاهش عدم تعادل پیوستگی، فراوانی آلی



شکل 5: نمودار فوق غالبیت، عدم تعادل پیوستگی نسل‌های 1، 16 و 48 کروموزوم 1

در فوق غالبیت شایستگی هتروزیگوت برابر مجموع هموزیگوت‌های غالب و مغلوب بوده که باعث شده است همولوگ‌های مطلوب با شدت بیشتری مورد انتخاب قرار گیرند و امکان انتخاب بیشتری برای هر کدام از هاپلوتایپ‌های مجاور آن نیز وجود داشته که باعث شده است عدم تعادل پیوستگی در جایگاه مورد نظر دیرتر کاهش پیدا کند. در فوق غالبیت نیز تاثیری بر روی سویپ به وجود آمده مشاهده نشد. با مقایسه سطوح مختلف غالبیت، مشاهده شد که این سطوح تاثیری بر روی ایجاد و شناسایی سویپ نداشته‌اند اما می‌توانند بر روی تداوم سویپ‌ها نقش داشته باشند (شکل 7).



شکل 7: نمودار عدم تعادل پیوستگی نسل‌های 1 تا 48 کروموزوم 1

بحث

در انتخاب ژنومیک و



نامیده می‌شود که اکثر سویپ‌ها از این نوع می‌باشند (Borck, 2010). می‌توان نتیجه گرفت که بعد از تثبیت شدن آلل جهش یافته، در دو طرف آلل سودمند مقدار عدم تعادل پیوستگی به علت ایجاد همبستگی بین پلی‌مورفیسم‌های موجود، بالا رفته و عدم تعادل پیوستگی آلل سودمند از بین می‌رود که این به علت تمایل نوترکیبی بین آلل سودمند و پلی‌مورفیسم‌های خنثی در دو طرف آلل سودمند می‌باشد. به علت پیوستگی که مکان ژنی صفت کمی با نشانگرهای مجاور خود دارد عدم تعادل پیوستگی نشانگرهای مجاور این مکان نیز افزایش قابل توجهی نسبت به نشانگرهایی با فاصله بیش‌تر نشان دادند.

منابع

1. فالکونر، د.س.، 1389. آشنایی با ژنتیک کمی. مرکز نشر دانشگاهی. 520 صفحه.
2. کلبه‌داری، د.، 1384. روش‌های تشخیص و تعیین مکان ژن‌های کمی در جوامع دامی. مجله کشاورزی. جلد 7، شماره 1، صفحات 53 تا 72.
3. Borck, C., 2010. The effect of recurrent mutation on the linkage disequilibrium under a selective sweep. arXiv. Org. Q-bio. pp: 1-24.
4. Brito, F.; Braccini, J.; Sargolzaei, M.; Cobuci, J. and Schenkel, F., 2011. Accuracy of genomic selection in simulated populations mimicking the extent of linkage disequilibrium in beef cattle. BMC Genetics. Vol. 12, No. 80, pp: 1-10.
5. Corbin, L.J.; Blott, S.C.; Swinburne, J.E.; Vaudin, M.; Bishop, S.C. and Woolliams, J.A., 2010. Linkage disequilibrium and historical effective population size in the thoroughbred horse. Animal Genetics. Vol. 41, pp: 8-15.
6. Garcia-Gamez, E.; Sahana, G.; Gutierrez-Gil, B.; Arranz, J.J., 2012. Linkage disequilibrium and inbreeding estimation in Spanish Churra sheep. BMC Genetics. Vol. 13, No. 43, pp: 1-12.
7. Hayes, B., 2011. QTL mapping, mas and genomic selection. Drjs Dhillon. 118 p.
8. Hermisson, J. and Pennings, P.S., 2005. Soft sweeps: molecular population genetics of adaptation from standing genetic variation. Genetics society of America. Vol. 169, pp: 2335-2352.
9. McVean, G., 2007. The structure of linkage disequilibrium around a selective sweep. Genetics Society of America. Vol. 175, pp: 1395-1406.
10. Moradi, M.H.; Nejati, A.J.; Shahrabak, M.M.; Dodds, K.G. and McEwan, J.C., 2012. Genomic scan of selective sweep in thin and fat tail sheep breeds for

است. در مطالعات دیگری که Garcia-Gamez و همکاران (2012)؛ Corbin و همکاران (2010) به ترتیب بر روی ارتباط بین عدم تعادل پیوستگی و برآورد تولیدمثل، اثر جهش بر روی عدم تعادل پیوستگی، عدم تعادل پیوستگی و اندازه جمعیت موثر در اسب انجام دادند مشاهده کردند که میزان عدم تعادل پیوستگی می‌تواند ارتباط غیرتصادفی آلل‌های مورد نظر را در مکانی که تحت تاثیر جهش می‌باشد را شرح دهد و مشاهده کردند که با افزایش فاصله ژنتیکی از ژن تحت تاثیر جهش میزان عدم تعادل پیوستگی کاهش می‌کند. در این مطالعه نیز عدم تعادل پیوستگی در اثر جفت شدن تصادفی آلل‌ها ایجاد شده است و همچنین مشاهده شد با افزایش فاصله ژنتیکی میزان عدم تعادل پیوستگی کاهش پیدا می‌کند. بعد از ایجاد جهش در ژن مورد نظر و در اثر شدت انتخاب مثبت، مقدار فراوانی آلل ژن مفروض و مقدار عدم تعادل پیوستگی در همان جایگاه با مقایسه با جایگاه‌های کناری به شدت بالا رفته و در نسل‌های متوالی باقی‌مانده است (Moradi و همکاران، 2012) و مشاهده گردید که افزایش فراوانی آلل جهش یافته تا زمانی که در جامعه ثابت نشود ادامه خواهد داشت. بعد از ثابت شدن، در دو طرف آلل سودمند مقدار عدم تعادل پیوستگی به علت ایجاد همبستگی بین پلی‌مورفیسم‌های موجود بالا رفته و عدم تعادل پیوستگی آلل سودمند از بین می‌رود که این به علت تمایل نوترکیبی بین آلل سودمند و پلی‌مورفیسم‌های خنثی در دو طرف آلل سودمند می‌باشد. همان‌طور که Santiago و Caballero (2004) در بررسی‌هایی که بر روی واریانس بعد از ایجاد سویپ در جمعیت کوچک و Pfaffelhuber و همکاران (2008) بر روی عدم تعادل پیوستگی تحت تاثیر هیچ‌هایکنگ انجام دادند، گزارش کرده‌اند. سویپ به وجود آمده تحت تاثیر یک جهش بوده است که به علت داشتن نشانه‌های قوی، سویپ سخت



identifying of candidate regions associated with fat deposition. BMC Genetics. Vol. 13, No. 10, pp: 1-15.

11. **Pfaffelhuber, P.; Lehnert, A. and Stephan, W., 2008.** Linkage disequilibrium under genetic Hitchhiking in finite populations. Genetics society of America. Vol. 179, pp: 527-537.
12. **Santiago, E. and Caballero, A., 2004.** Variation after selective sweep in subdivided population. Genetics Society of America. Vol. 169, pp: 475-483.
13. **Wray, N.R., 2005.** Allel frequencies and the r^2 measure of linkage disequilibrium Twin Research and Human Genetics. Vol. 8, pp: 87-94.
14. **Zhang, H.; Wang, S.Z.; Wang, Z.P.; Da, Y.; Wang, N.; Hu, X.X.; Zhang, Y.D.; Wang, Y.X.; Leng, L.; Tang, Z.Q. and Li, H., 2012.** A genome-wide scan of selective sweeps in two broiler chicken lines divergently selected for abdominal fat content. BMC Genomics. Vol. 13, No. 704, pp: 1-16.

