



پروفایل ترانسکریپتومی اندومتریوم برای رشد و طول شدگی رویان گاوهای شیری

جعفر جمعدار زنوزق^۱، محمد مرادی شهربابک^{۲*}، اردشیر نجاتی جوارمی^۲

۱- دانشجوی دکتری، گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران

۲- استاد، گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران

(تاریخ دریافت: ۹۸/۰۵/۳۱ - تاریخ پذیرش: ۹۸/۱۰/۰۷)

چکیده

در تحقیق حاضر، به منظور شناسایی ژن‌های درگیر در طول شدگی رویان گاوهای شیری، شناسایی آثار متقابل بین ژنی و واکاوی ماژول‌های مهم و عملکردی در طول این فرآیند از داده‌های ترانسکریپتومی استفاده شد. رشد، تکوین موفقیت‌آمیز رویان و زنده‌مانی آن یکی از مهم‌ترین نیازهای اساسی در صنعت گاو شیری است. بخش بزرگی از آبهستی‌های از دست رفته در طول هفته‌های اولیه و به ویژه در گام طول شدگی رویان اتفاق می‌افتد. بدین ترتیب برای درک بهتر اساس مولکولی این فرآیند، پروفایل یاخته‌ای اندومتریوم رحمی گاوهای آبستن در طول رشد و مرحله طول شدگی رویان در مقایسه با گاوهای غیرآبهستن بررسی شد. بعد از پردازش و تجزیه داده‌های ریزآرایه و RNA-Seq و ترکیب نتایج حاصل، آثار متقابل بین ژنی با استفاده از روش داده‌کاوی مورد بررسی قرار گرفت. در نهایت با مقایسه پروفایل اندومتریوم و بازسازی شبکه و جستجوی ماژول‌های مهم، شمار چهار ماژول عملکردی معنی‌دار شناسایی شد. مهم‌ترین ژن‌های موجود شامل ANKRD54، ADAMDEC1، PTN، MT1A، LIMS2، MT1E، CPA3 و MTPN بودند. بر اساس این تحقیق توصیه می‌شود ماژول‌های شناسایی شده می‌توانند نشانگرهای مناسبی برای رشد، طول شدگی، تکوین، ترشح مایع مجرای رحمی، پاسخ ایمنی و زنده‌مانی رویان باشند.

واژه‌های کلیدی: بلاستوسیست، شبکه ژنی، گاو آبستن، ماژول

* نویسنده مسئول: moradim@ut.ac.ir

مقدمه

عملکرد تولیدمثلی تحت تأثیر باروری، رشد و تکوین رویانی و در نهایت زنده‌مانی گوساله است (Rodriguez-Martinez *et al.*, 2008). بروز اختلال در هر کدام از این مراحل سبب ضعف یا از بین رفتن آبستنی و کاهش بازده تولیدمثلی خواهد شد. از دست دادن رویان در طول گامه-های اولیه آبستنی، به عنوان یکی از مهم‌ترین و اساسی‌ترین دلایل در ناباروری گاو و سایر نشخوارکنندگان مطرح است (Diskin and Morris, 2008). مرگ و میر زودرس رویان یکی از دلایل اساسی تلفات تولیدمثلی است و مانعی بزرگ برای بهره‌برداری از پتانسیل تولیدی حیوانات مزرعای محسوب می‌شود. از دست دادن رویان در گامه قبل از لانه‌گزینی، در نشخوارکنندگان با عملکرد جسم زرد در ارتباط است (Mondal and Prakash, 2002).

در پی ادغام پیش‌هسته‌های نر و ماده، سلول منفرد تشکیل می‌شود که سلول تخم (Zygote) نامیده می‌شود. پس از سینگامی (Syngamy) (ادغام پیش‌هسته‌های نر و ماده)، سلول تخم به رویان تبدیل می‌شود. نخستین تسهیم کلیواژ (Cleavage)، رویانی دو سلولی را ایجاد می‌کند که هر سلول آن، بلاستومر (Blastomere) نامیده می‌شود. تسهیم کلیواژ ادامه می‌یابد. پس از مرحله هشت سلولی، رویان به صورت متراکم است، که در این حالت، گامه رویانی را مورولا (Morula) می‌نامند. سلول‌های مورولا به تقسیم شدن ادامه می‌دهند و بلاستوسیست (Blastocyst) را به وجود می‌آورند (Hafez and Hafez, 2000). بلاستوسیست نیز بعد از تفکیک و طی مراحل مختلف از زونا پلوسیدا (Zona pellucida) خارج می‌شود. بعد از رشد بلاستوسیست خارج شده، رویان وارد مرحله طویل‌شدگی (Elongation) می‌شود (Hafez and Hafez, 2000). میزان رشد و طویل‌شدگی رویان، یک شاخص مهم از قابلیت زنده‌مانی رویانی است (Morris *et al.*, 2001).

طویل‌شدگی رویان، با تکامل و تبدیل رویان کروی شکل (Spherical) به رویان رشته‌ای (Filamentous) اتفاق می‌افتد. فرآیند طویل‌شدگی رویان بعد از هج‌شدگی بلاستوسیست، گامی مهم در تکوین رویان به شمار می‌رود. این تغییر شکل رویانی در حیوانات مزرعای از

جمله گاو، گوسفند و خوک در مطالعات مختلف بررسی شده است (Geisert *et al.*, 1982; Betteridge and Flechon, 1988). طی این فرآیند، بین توده سلولی داخلی و ترفکتودرم (Trophectoderm) خطوط مشخصی ایجاد می‌شود و تشخیص سلولی بین این دو میسر می‌شود (Hue *et al.*, 2012). جنبش‌شناسی (سینتیک) این فرآیند در بین گونه‌های مختلف تفاوت اندکی دارد. در گاو، طویل‌شدگی رویان همراه با شروع تکوین غشای خارج رویانی است که شامل گاستروله شدن (Gastrulation) رویان و تشکیل کیسه زرده و آلانتوئیس است که برای تشکیل جفت مورد نیاز هستند (Guillomot, 1995; Hue *et al.*, 2012). در طول مرحله تکامل رویان، ارتباطات هورمونی بین رحم و رویان ایجاد می‌شود که برای ایجاد آبستنی و فرآیند رشد و طویل‌شدگی رویان ضروری است (Hue *et al.*, 2012).

گامه طویل‌شدگی رویان، همگام با فعال‌سازی ساخت پروتئین (Protein synthetic activity) است. در این مرحله، جذب گلوکز و تولید لاکتات به وسیله رویان افزایش می‌یابد. رویان‌های گاو می‌زان سوخت و ساز بالایی به ازای هر واحد پروتئین دارند (Morris *et al.*, 2001). علاوه بر این، در گاو، غلظت پروژسترون (P₄) نقش مهمی در زنده‌مانی جنینی دارد (Lonergan, 2011). در گاوهای شیری، بعد از تخم‌گذاری، بالا رفتن غلظت‌های پروژسترون سبب طویل‌شدگی جنینی می‌شود (Mann *et al.*, 2006). تغییرات ناشی از پروژسترون در گاوهای آبستن سبب تغییر محیط داخل رحمی از قبیل بالا رفتن آمینو اسید، گلوکز، سیتوکین و عوامل رشد در هیستوتروف می‌شود، که برای رشد بلاستوسیست و تبدیل به رویان تخم‌مرغی شکل (Ovoid) و نیز طویل‌سازی رویان لازم هستند (Spencer, 2008).

ناتوانی و شکست اندومتريوم در ایجاد آبستنی یکی از دلایل اصلی عدم باروری است (Boivin *et al.*, 2007). علاوه بر این، ناتوانی در حفظ آبستنی موجب کاهش بازده تولید در گاوهای شیری می‌شود (Ribeiro *et al.*, 2012). با وجود نرخ بالای تلقیح موفقیت‌آمیز در گاوهای شیری، نرخ گوساله‌زایی به طور معنی‌داری پایین است که این نشان‌دهنده اهمیت بالای حفظ آبستنی است (Nyman *et al.*, 2018). گزارش‌های متفاوتی از میزان حفظ و از دست دادن آبستنی انجام شده است. در برخی از تحقیقات در

مهمی از ساز و کارهای کنترل کننده آن و دلایل رفتاری عدم باروری و از دست دادن آن بدست آورد و در جهت بهبود صفات تولیدمثلی و افزایش بازدهی اقتصادی صنعت گاو شیری استفاده نمود. تاکنون، تحقیق جامعی از چندین بررسی برای واکاوی ترانسکریپتومی و پیدا کردن ماژول‌های مهم طول‌شدگی رویان صورت نگرفته است، همچنین ساز و کار مرتبط با آن که با تحریک تکثیر و کشیدگی سلول‌های انتهایی ترفکتودرم و غشای خارج رویانی همراه است، به ندرت بررسی شده است. در تحقیق حاضر، پروفایل‌های ترانسکریپتومی برای پیدا کردن ژن‌ها و ماژول‌های عملکردی و مهم طول‌شدگی رویان مورد بررسی قرار می‌گیرد. با تجزیه و واکاوی مجموعه پروفایل‌های ترانسکریپتومی می‌توان ژن‌ها و ماژول‌های مهم و عملکردی را که در طول‌شدگی موفق نقش مهمی دارند، مشخص کرد. در این تحقیق، با استفاده از داده‌های ریزآرایه و توالی‌یابی نسل جدید، به شناسایی ژن‌ها و ماژول‌های مهم در طول شروع طول‌شدگی رویان پرداخته می‌شود. به طور خلاصه، با توجه به اهمیت موضوع و موارد ذکر شده، از جمله مهم‌ترین اهداف تحقیق حاضر می‌توان به پیش‌پردازش و تجزیه داده‌های مربوط به طول‌شدگی رویان گاو شیری و شناسایی ژن‌های مؤثر در این فرآیند، شناسایی آثار متقابل بین ژنی با داده‌کاوی، بازسازی و واکاوی شبکه و جستجوی ماژول‌های مهم و عملکردی در این فرآیند اشاره کرد.

مواد و روش‌ها

برای تجزیه داده‌ها و پیدا کردن ژن‌هایی با تفاوت بیانی و یافتن ماژول‌های عملکردی مرتبط با رشد و طول‌شدگی رویان، مراحل مختلفی در نظر گرفته شد. در تحقیق حاضر از نرم‌افزارهای متعددی برای انجام این مراحل استفاده شد که در بخش زیر شرح داده می‌شوند.

استفاده از داده‌های مرتبط با تحقیق: در گام نخست، با جستجو در پایگاه ArrayExpress (Brazma et al., 2003) و GEO (Edgar et al., 2002; Barrett et al., 2006) شماری داده گردآوری شد. با بررسی‌های صورت گرفته از بین این داده‌ها، مجموعه داده‌هایی که اطلاعات کاملی از نحوه انجام آزمایش فراهم می‌کردند، انتخاب شدند. از بین نمونه‌های مجموعه داده‌های انتخاب شده، تنها نمونه‌هایی استفاده شد که پروفایل بیانی اندومتریم

گاوهای شیری، میزان آبستنی بعد از تلقیح تا حدود ۹۰ درصد بوده، ولی میانگین نرخ گوساله‌زایی حدود ۵۵ درصد گزارش شده است (Diskin et al., 2006). همچنین بر اساس برخی از تحقیقات در نشخوارکنندگان، بیش از ۳۰ درصد آبستنی‌های از دست رفته بعد از تلقیح در اوایل آبستنی اتفاق می‌افتد و مقارن با طول‌شدگی رویان است که قبل از لانه‌گزینی اتفاق می‌افتد (Hue et al., 2012).

بیشتر مطالعاتی که ساز و کارهای مولکولی مرتبط با تعاملات جنین با مادر را در طول آبستنی بررسی کرده‌اند، بر قسمت مادری تأکید داشته‌اند و بیشتر آنها تغییرات در ترانسکریپتوم اندومتریم را توصیف می‌کنند (Bauersachs et al., 2006; Forde et al., 2009; Sponchiado et al., 2019). اندومتریم نقش کلیدی در طول اوایل آبستنی، رشد و طول‌شدگی رویان، با استفاده از ترشحات و مایع مجرای رحمی ایفاء می‌کند (Spencer and Hansen, 2015). در برخی از تحقیقات انفرادی، پروفایل ترانسکریپتومی اندومتریم در طول اوایل آبستنی، برای توصیف ژن‌های نشانگری که می‌توانند پتانسیل پیش‌بینی نتیجه آبستنی را داشته باشند، بررسی شده‌اند. در یک تحقیق، با استفاده از پروفایل ترانسکریپتومی گاوهای گوشتی آبستن و غیر آبستن در طول اوایل آبستنی، ژن‌های منحصر به فردی شناسایی شدند، که این ژن‌ها نشان‌دهنده پذیرش رحمی برای موفقیت در آبستنی بودند (Binelli et al., 2015). در یک تحقیق، پاسخ بیان ژنی اندومتریم در اوایل آبستنی و طول‌شدگی رویان در گاوهای آبستن در مقابل گاوهای غیرآبستن مورد بررسی قرار گرفت. در این تحقیق، تغییرات بیان ژن در حضور اینترفرون انسانی و مقایسه آن با اینترفرون گاوی بررسی شد و نقش بالای اینترفرون گاوی اوایل آبستنی و حفظ آن تأیید شد (Bauersachs et al., 2012). در تحقیق دیگری نیز به نقش محیط اندومتریم و تغییرات بیان ژنی در اوایل آبستنی و رشد و طول‌شدگی رویان در نشخوارکنندگان پرداخته شد (Spencer et al., 2008). تشخیص ژن‌های درگیر در صفات کمی و فرآیندهای پیچیده سبب تشخیص و بهبود این فرآیندها و صفات می‌شود. با تجزیه و واکاوی مجموعه داده‌های بیان ژن می‌توان ژن‌هایی را که در رشد و تکوین رویان نقش مهمی دارند، مشخص کرد. بدین ترتیب، با شناسایی ژن‌ها و ماژول‌های عملکردی مرتبط با آن، می‌توان اطلاعات

GSE33030 (Forde *et al.*, 2011) بودند. در اینجا نیز پیدا کردن ژن‌های معنی‌دار، با در نظر گرفتن پروفایل یاخته‌ای اندومتريوم رحمی گاوهای آبستن در طول مرحله طویل‌شدگی رویان در مقایسه با گاوهای غیرآبستن انجام شد. کیفیت مجموعه این داده‌ها با استفاده از Box Plot بررسی شد. نرمال‌سازی و خلاصه‌سازی با مقیاس لگاریتمی در بسته نرم‌افزاری LIMMA (Ritchie *et al.*, 2015) روی داده‌های ریزآرایه صورت گرفت. بعد از خلاصه‌سازی ژن‌هایی با تفاوت بیانی، بیان این ژن‌ها که حاصل از تجزیه مجموعه داده‌های ریزآرایه بودند با استفاده از بسته نرم‌افزاری ggplot ترسیم شد. در نهایت، ژن‌هایی با تفاوت بیان معنی‌دار برای این مجموعه داده‌ها نیز مشخص شدند.

بازسازی شبکه و واکاوی آن: در این مرحله، ترسیم، تجزیه و واکاوی شبکه روی داده‌های گردآوری شده مورد اجرا قرار گرفت. برای این منظور، مجموعه‌های ژنی بدست آمده از مراحل قبل که حاصل از تجزیه داده‌های RNA-Seq و ریزآرایه بودند، با یکدیگر ترکیب شدند. نتایج حاصل از این مرحله به عنوان ژن‌های نهایی با بیان متفاوت معنی‌دار بود. به منظور بازسازی شبکه، از پایگاه‌های داده‌های String (Jansen *et al.*, 2008) و GeneMania (Montojó *et al.*, 2014) استفاده شد. بدین ترتیب، آثار متقابل مختلف از جمله آثار متقابل ناشی از یافته‌های آزمایشی، همسایگی روی ژنوم، آثار متقابل ناشی از ژن‌های هم‌بیان (Co-Expressed Genes) و آثار متقابل بین پروتئینی (Protein-Protein Interaction) بررسی شدند. در نهایت، ترسیم، تجزیه و واکاوی شبکه روی داده‌ها اجرا شد. بدین منظور از نرم‌افزار Cytoscape (Shannon *et al.*, 2003) بهره گرفته شد. همچنین از الگوریتم ClusterOne (Nepusz and Paccanaro, 2012) برای شناسایی ماژول‌های مهم و عملکردی استفاده شد.

نتایج و بحث

در تحقیق حاضر، با بررسی تفاوت بیان ژن‌ها با استفاده از پردازش پروفایل بیانی اندومتريوم رحمی گاوهای شیری، ژن‌های مؤثر در فرآیند رشد و اوایل طویل‌شدگی رویان شناسایی شدند. علاوه بر این، ماژول‌های مهم و عملکردی در مسیرهای مختلف مرتبط با این فرآیند شناسایی شدند.

گاوهای شیری غیرآبستن (نمونه‌های شاهد) و آبستن (نمونه‌های تیمار) را در زمان رشد، تکوین و طویل‌شدگی رویان ارائه می‌دادند. بدین ترتیب، مجموعه‌های داده با شماره دسترسی GSE56392 (Forde *et al.*, 2012) و پلت‌فرم GPL15750 (Illumina Genome Analyzer IIx) مرتبط با RNA-Seq شامل ۱۰ نمونه مرتبط با فرآیند طویل‌شدگی رویانی استفاده شد. همچنین مجموعه‌های داده‌ای با شماره‌های دسترسی (GSE30694) (Bauersachs *et al.*, 2011) و نیز GSE33030 (Forde *et al.*, 2011) که هر دو با پلت‌فرم GPL2112 (Affymetrix Bovine Genome Array) مرتبط با داده‌های ریزآرایه و به ترتیب از ۶ و ۱۰ نمونه این مجموعه داده‌ها که مرتبط با فرآیند تکوین و طویل‌شدگی رویانی بودند، استفاده شد. در این تحقیق، مجموعه‌های داده‌ای به شرحی که در بخش زیر اشاره می‌شود، با هدف بررسی پروفایل ترانسکریپتومی داده‌های ریزآرایه و RNA-Seq، پیش‌پردازش، تجزیه و واکاوی شدند.

پیش‌پردازش و تجزیه داده‌های RNA-Seq بعد از تعیین و گردآوری داده‌های مربوط به RNA-Seq و ریزآرایه، اقدام به تجزیه و واکاوی این داده‌ها شد. برای پردازش داده‌های مربوط به شماره دسترسی GSE56392 مرتبط با RNA-Seq از نرم‌افزارهای مختلفی استفاده شد. بدین ترتیب در آغاز، داده‌ها وارد شده و مورد ویرایش‌های اولیه قرار گرفتند.

در مرحله اول، کنترل کیفیت داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار کنترل کیفیت FASTQC نسخه 0.11.6 (Andrews *et al.*, 2010) انجام شد. بعد از این مرحله، داده‌ها مورد پیرایش قرار گرفتند. بدین منظور از نرم‌افزار پیرایش‌گر Trimmomatic (Bolger *et al.*, 2014) استفاده شد. در ادامه، پس از پیرایش آداپتوری، هم‌ردیفی با ژنوم مرجع گاو صورت گرفت. بدین ترتیب از نرم‌افزار Hisat2 برای هم‌ردیفی خوانش‌های ویرایش شده با ژنوم مرجع گاو استفاده شد (Kim *et al.*, 2015). بعد از این مرحله، جهت ادغام خوانش‌ها و تشکیل ترانسکریپت‌های واحد از نرم‌افزار StringTie (Pertea *et al.*, 2015) استفاده شد. سپس میزان تفاوت در بیان ژن‌ها بررسی شد.

پیش‌پردازش و تجزیه داده‌های ریزآرایه: در این مرحله، ابتدا داده‌های ریزآرایه کنترل کیفیت شدند. داده‌های ریزآرایه شامل GSE30694 (Bauersachs *et al.*, 2011) و

در شکل ۱ ارائه شده است. ژن‌های انتخاب شده در این شکل، به صورت نقاط سبز رنگ مشاهده می‌شوند. در مجموع، با تجزیه تمام داده‌های ریزآرایه شمار ۱۱۰ ژن مرتبط با فرآیند رشد و طول‌شدگی رویان انتخاب شدند. بدین ترتیب این مجموعه نیز که فهرستی حاصل از تجزیه داده‌های ریزآرایه بود، به عنوان فهرست شماره دو در نظر گرفته شد.

در این بررسی داده‌های RNA-Seq و ریزآرایه به شرحی که اشاره شد تجزیه شدند. برای درک بهتر اساس مولکولی مراحل اولیه آبستنی و تغییرات پروفایل یاخته‌ای اندومتريوم به منظور رشد و تکوین رویان، پروفایل بیانی اندومتريوم در شروع مراحل طول‌شدگی رویان بررسی شد. با مقایسه پروفایل بیانی بین گاوهای آبستن و غیرآبستن در این فرآیند، در نهایت ژن‌های مشترک حاصل از تجزیه‌های داده‌های ریزآرایه و RNA-Seq که تفاوت بیانی نشان دادند، شناسایی شدند.

یافته‌های حاصل از تجزیه داده‌های RNA-Seq در این بخش، با استفاده از پردازش و تجزیه داده‌های مرتبط با RNA-Seq، از جمله کنترل کیفیت، پیرایش، هم‌ردیفی، ترکیب خوانش‌ها و بررسی تفاوت بیانی و سنجش آن، شمار ۸۰۵ ژن معنی‌دار شناسایی شد و در نهایت پس از در نظر گرفتن حد آستانه تغییر بیان ($P < 0.05$)، شمار ۸۷ ژن به عنوان ژن‌های دارای بیان متفاوت حاصل از تجزیه داده‌های RNA-Seq انتخاب شدند. بدین ترتیب این مجموعه ژنی که فهرستی حاصل از تجزیه داده‌های RNA-Seq بود، به عنوان فهرست شماره یک در نظر گرفته شد.

یافته‌های حاصل از تجزیه داده‌های ریزآرایه: در این بخش، نتایج تجزیه داده‌های ریزآرایه که در مراحل قبل با انجام پیش‌پردازش و سنجش تفاوت بیان ژن‌ها بدست آمده بود استفاده شد. در ادامه، پس از در نظر گرفتن حد آستانه تغییر بیان ($P < 0.05$)، ژن‌های دارای بیان متفاوت ژنی شناسایی شدند. نمودار ggplot مربوط به این داده‌ها

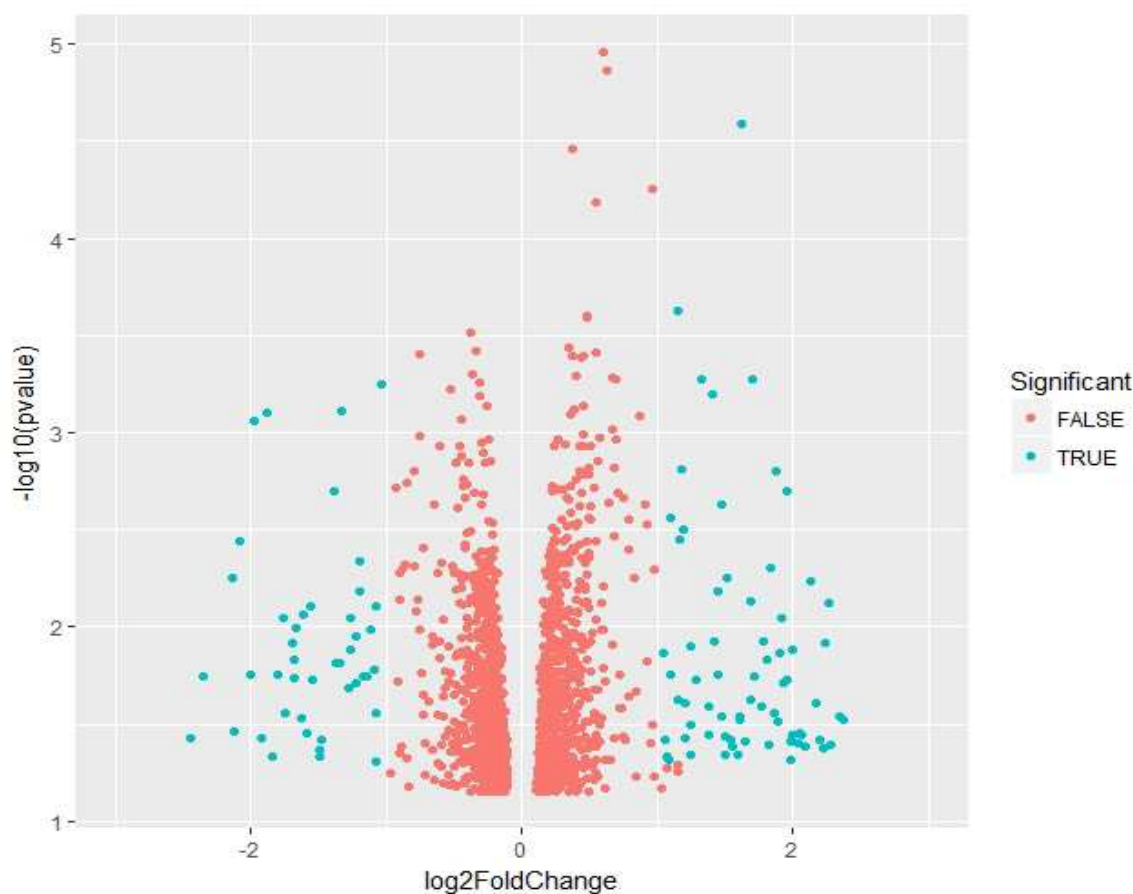


Fig. 1. ggplot related to microarray analysis

شکل ۱- نمودار ggplot مربوط به تجزیه داده‌های ریزآرایه

چهار ماژول مهم و معنی‌دار ($P < 0.01$) انتخاب شدند. به عنوان مثال، ماژول ۴ به دلیل مهم بودن و وجود ژن‌های مهم در مسیر مولکولی رشد و طول‌سازی رویان در شکل ۴ ارائه شده است.

استفاده از اندومتریوم برای شناسایی ژن‌های مرتبط با رشد و طول‌شدگی رویان در برخی از مطالعات بررسی و تأیید شده است (Bauersachs *et al.*, 2006; Forde *et al.*, 2009). ویژگی‌های استفاده از اندومتریوم برای شناسایی ژن‌های درگیر در رشد و طول‌شدگی رویان می‌تواند به عنوان مدل در دیگر گونه‌ها مطرح باشد. در بلاستوسیست گاو، طول‌شدگی تروفوبلاست از روز ۱۲ آبستنی شروع می‌شود. رشد بلاستوسیست به صورت رویان‌های طولی شده در شرایط آزمایشگاهی به دلیل نیاز به ترشحات اندومتریوم اتفاق نمی‌افتد (Gray *et al.*, 2011; Lonergan, 2001). مایع مجرای رحمی (The uterine luminal fluid (ULF)) شامل موادی است که مجموعاً هیستوتروف (Histotroph) نامیده می‌شود و با تأثیر بر ازدیاد ترفکتودرم منجر به طول‌شدگی رویان می‌شود. قرار گرفتن در معرض محیط رحمی، برای رشد و طول‌شدگی رویان لازم است.

بازسازی و واکاوی شبکه: در بررسی حاضر، شبکه بازسازی شده شامل ۶۰ گره و ۱۸۸ یال با میانگین $6/267$ گره مجاور به ازای هر گره بود. همچنین ضریب خوشه‌بندی (Clustering Coefficient) برابر با $0/612$ و قطر ۷ بود. نمودار مربوط به توزیع درجه آزادی گره‌ها در شکل ۲ ارائه شده است. با در نظر گرفتن ویژگی‌های شبکه‌های تصادفی و شبکه‌هایی با مقیاس آزاد (Scale-Free) (Barabási and Bonabeau, 2003) و با مشاهده شکل و توزیع درجه آزادی گره‌های مربوط، این شکل نشانگر شبکه بازسازی شده دارای مقیاس آزاد است. این شکل اطمینان از غیرتصادفی بودن شبکه بازسازی شده اصلی را نشان می‌دهد. همچنین توزیع شاخص مجاورهای سهمیم (Shared Neighbors) مربوط به شبکه بازسازی شده در شکل ۳ نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، فراوانی گره‌ها با افزایش تعداد گره‌های مجاور سهمیم کاهش پیدا کرده است.

در بررسی حاضر بعد از بازسازی شبکه، برای واکاوی هر چه بهتر شبکه، ماژول‌های مهم و معنی‌دار شناسایی شدند. در بررسی ماژول‌های شبکه بازسازی شده، در مجموع نه ماژول شناسایی شدند که از این بین، شمار

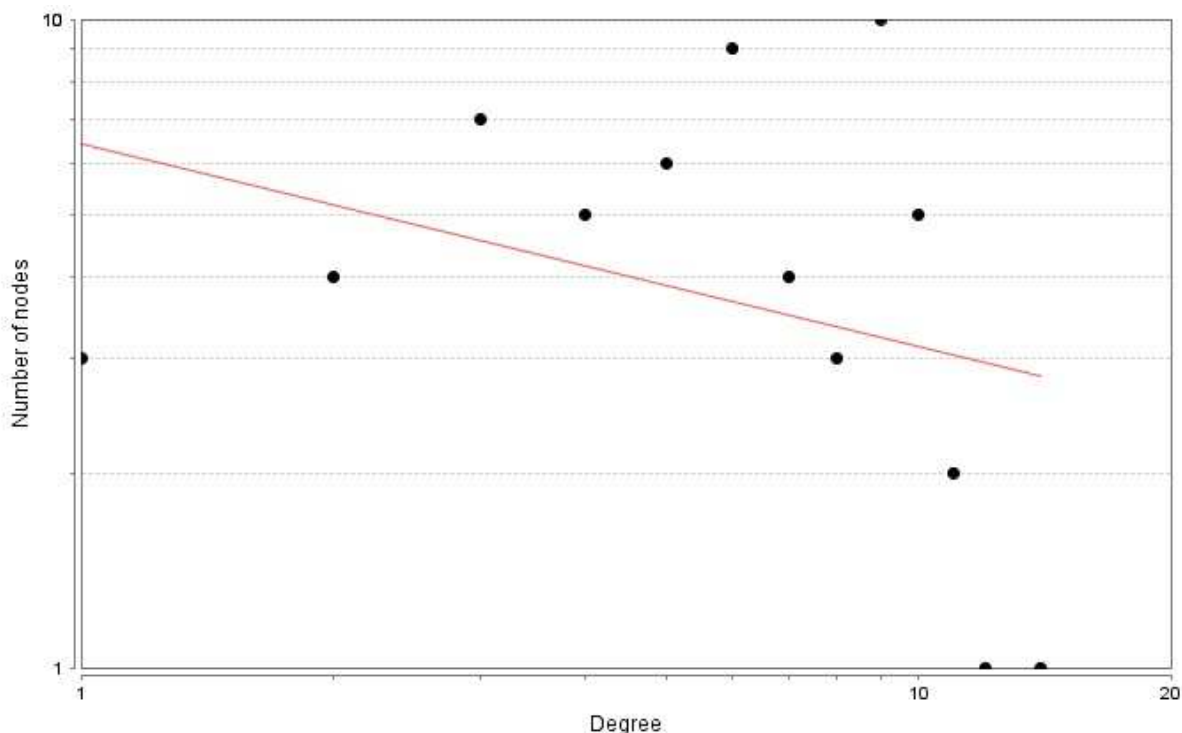


Fig. 2. Degree of freedom distribution related to reconstructed main network

شکل ۲- توزیع درجه آزادی گره‌های مربوط به شبکه بازسازی شده اصلی

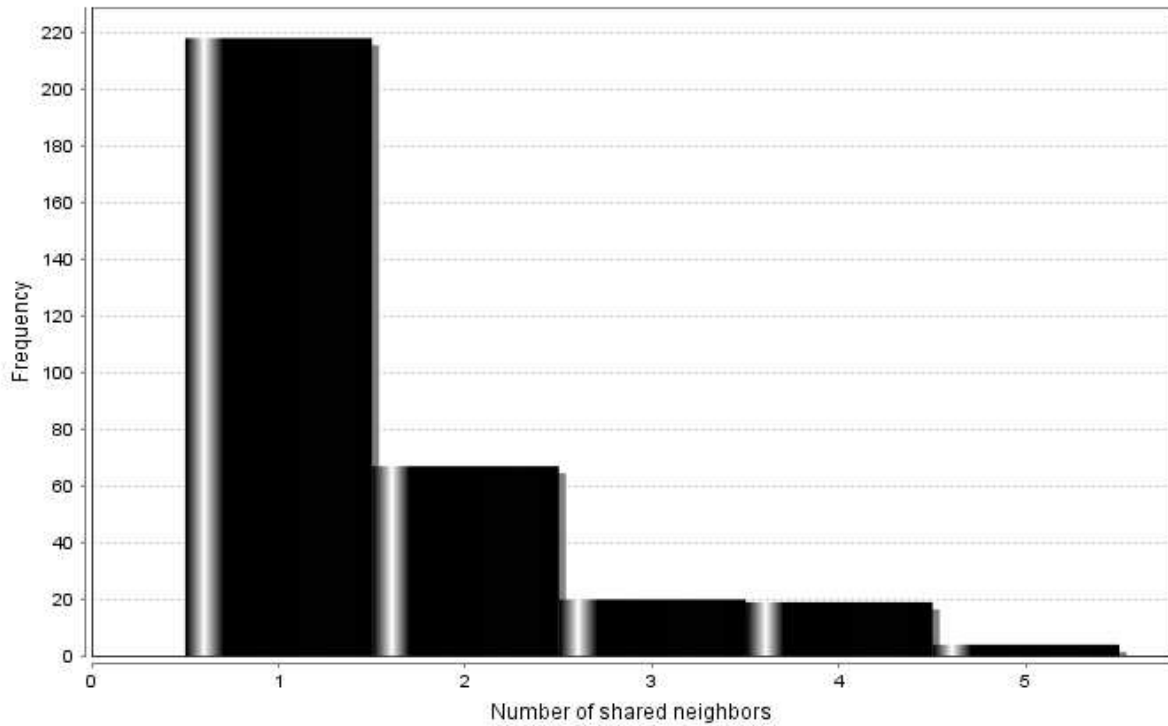


Fig. 3. Distribution of shared neighbors index in main reconstructed network
 شکل ۳- توزیع شاخص مجاورهای سهمیم در شبکه بازسازی شده اصلی

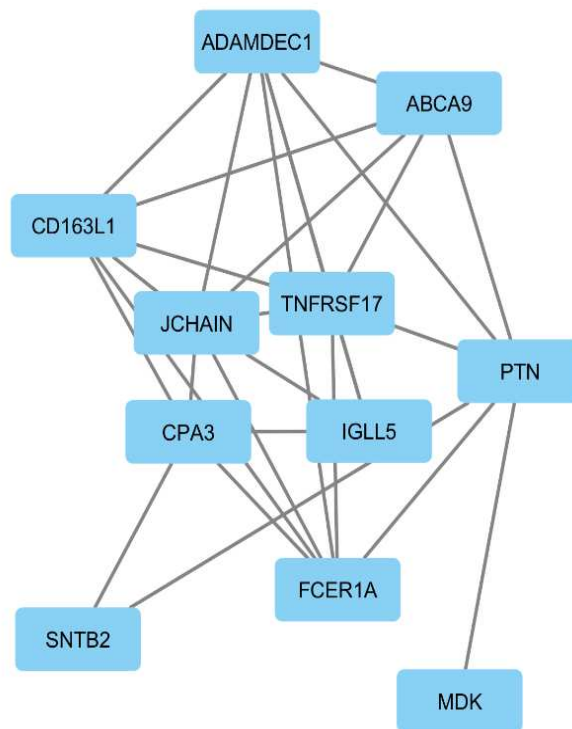


Fig. 4. Module 4 for reconstructed main network
 شکل ۴- ماژول شماره ۴ از شبکه بازسازی شده اصلی

آنتی‌اکسیدان عمل می‌کند و نقش مهمی در هموستازی برخی از فلزات در سلول دارد.

در تحقیق حاضر، ABCA9 به عنوان یکی از ژن‌های مهم در شبکه مرتبط با طویل‌شدگی رویان شناسایی شد. این ژن، ژنی از خانواده انتقال‌دهنده‌های جعبه اتصال ATP است. ABC شامل پروتئین‌های غشایی است. مواد داخل و خارج سلولی شامل تولیدات مرتبط با سوخت و ساز، چربی‌ها و استروئید و داروها به وسیله این انتقال‌دهنده جابجا می‌شوند (Deen *et al.*, 2001). بیان این ژن در زمان ایجاد ماکروفاژ از مونوسیت‌ها افزایش می‌یابد و با ورود کلسترول کاهش می‌یابد (Piehler *et al.*, 2002). بدین ترتیب، برخی از ژن‌ها علاوه بر نقش ترشح و انتقال مایع مجرای رحمی، در پاسخ ایمنی رویان در طول رشد و طویل‌شدگی به آن کمک می‌کنند. از جمله ژن‌های مهم دیگری که در پاسخ ایمنی مادری در زمان رشد و طویل‌شدگی رویان شناسایی شدند، ژن موسوم به TNFRSF17 بود. پروتئین کد شده به وسیله این ژن عضوی از خانواده گیرنده TNF (Tumor necrosis factor alpha) است، که این گیرنده معمولاً در لنفوسیت‌های نوع B بیان می‌شود و نقش مهمی در تکوین و پاسخ سلول‌های نوع B ایفاء می‌کند. علاوه بر این، در پاسخ ایمنی مربوط به جفت نیز دخالت دارد (Langat *et al.*, 2008). FCER1A زیر واحد آلفای پروتئین گیرنده اپسیلون ایمونوگلوبولین را کد می‌کند و نقش مهمی در پاسخ ایمنی ایفاء می‌کند. این ژن در انسان به عنوان ژنی مهم در آبستنی گزارش شده است، ولی تاکنون گزارشی از این ژن و نقش آن در آبستنی گاوهای شیری ارائه نشده است. یکی از نقش‌های مهم این ژن به همراه چندین ژن دیگر در انسان، پاسخ ایمنی مادر در آبستنی و جلوگیری از زایمان زودرس است (Enquobahrie *et al.*, 2009; Mittal *et al.*, 2015). علاوه بر این ژن که در تحقیق حاضر به عنوان ژنی مهم شناسایی شد، ژن‌های CD163L1 و PTN نیز شناسایی شدند که می‌توانند به عنوان ژن‌های مسئول پاسخ ایمنی در فرآیند طویل‌شدگی رویان نقش داشته باشند. CD163L1 برخی از پروتئین‌های غشایی را ترشح می‌کند و معمولاً در سلول‌های مرتبط با سامانه ایمنی حضور دارد. علاوه بر این، در تنظیم تعامل پروتئین-پروتئین و اتصال لیگاند نقش دارد. PTN نیز که با نام HB-GAM یا HARP

مولکول‌های مورد نیاز برای رشد و طویل‌شدگی رویان به وسیله سلول‌های مجرای و غده‌ای (Luminal and glandular epithelial cells (LE & GE cells) اندومتريوم رحمی ترشح و منتقل می‌شوند (Bazer, 1975). این ترشحات (ULF) برخی از مولکول‌ها از جمله چربی، پروتئین و یون‌ها را شامل می‌شوند که برای رشد و طویل‌شدگی رویان ضروری هستند. بنابراین منطقی است که ژن‌های تنظیم‌کننده تولید و ترشح مایع مجرای رحمی از جمله ژن‌های مهم در طویل‌شدگی رویان باشند. علاوه بر این، پروژسترون یک نیاز اساسی برای این منظور است چون اثر آن بر طویل‌شدگی رویان به طور غیرمستقیم و به واسطه تغییر ترانسکریپتوم اندومتريوم و در نهایت تغییر ترکیب مایع مجرای رحمی اعمال می‌شود (Garret *et al.*, 1988). بدین ترتیب، رویان حین طویل‌شدگی مقادیر بالایی از اینترفرون-تاو در مجرای رحمی تولید خواهد کرد که با افزایش نرخ آبستنی همراه است (Mann *et al.*, 2006).

با بررسی نتایج تحقیق حاضر، مشخص شد که برخی از ژن‌های مهم و مرتبط با شروع طویل‌شدگی رویان، خانواده‌ای از پروتئین‌های موسوم به متالوپروتئازها (Metalloprotease) و متالوتیونین‌ها (Metallothionein) را کد می‌کنند. متالوپروتئازها و متالوتیونین‌ها، آنزیم‌های پروتئاز هستند که ساز و کار کاتالیزی آن‌ها شامل برخی از فلزات است و ظرفیت اتصال به برخی فلزات سنگین را دارا هستند (Thirumoorthy *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2007). از جمله مهم‌ترین این ژن‌ها که در شبکه بازسازی شده اصلی حضور داشتند ADAMDEC1، MT1E، CPA3 و MT1A بودند. ADAMDEC1 یک ژن مهم از متالوپروتئازها است که علاوه بر بیان در سلول‌های دندریتیک و ماکروفاژها و نقش مهم آن در پاسخ ایمنی، در موش به عنوان ژنی مهم در اوایل آبستنی شناخته شده است (Baran *et al.*, 2003). در تحقیق حاضر، این ژن به عنوان ژنی مهم در شبکه بازسازی شده اصلی شناسایی شد. CPA3 نیز یک متالوپروتئاز روی محسوب می‌شود و عضوی از کربوکسی پپتیدازها را کد می‌کند. این ژن در انسان به عنوان یک ژن مرتبط با تروفوبلاست شناسایی شده است (Duncan *et al.*, 2011). MT1A نیز یک ژن از خانواده متالوتیونین‌ها است. این ژن به عنوان

و در برخی موارد، این ATPase نقش انتقال آمینو فسفولیپیدها را دارد. با دقت در نتایج تحقیق حاضر می‌توان دریافت که ژن‌های موجود در ماژول‌های شناسایی شده، در شبکه بازسازی شده ژنی مرتبط با طول‌شدگی رویان، بیشتر مسئول تولید و ترشح مولکول‌های مورد نیاز مایع مجرای رحمی هستند. مجموعه این ترشحات (ULF) برای رشد و طول‌شدگی رویان ضروری است. برخی از این ژن‌ها نقش‌های متفاوتی را می‌توانند در فرآیند طول‌شدگی رویان ایفاء کنند.

نتیجه‌گیری کلی

در این بررسی، با ترکیب اطلاعات داده‌های بیان ژن، توان انجام تجزیه و واکاوی بالا برده شد. با ترکیب اطلاعات ریزآرایه و توالی‌یابی نسل بعدی با RNA-Seq، ژن‌ها و ماژول‌های مهم به طور موفقیت‌آمیزی شناسایی شدند که از بین این ژن‌ها، برخی نیز در لانه‌گزینی رویان نقش دارند. بیشتر ژن‌های درگیر در رشد و شروع طول‌شدگی رویان، در تولید و ترشح مولکول‌های مورد نیاز برای مایع مجرای رحمی نقش داشتند. همچنین برخی از ژن‌ها در تنظیم انرژی و استفاده از ATP در اندومتریوم و سایر بافت‌ها دخالت دارند. در تحقیق حاضر، ماژول‌های مهم و معنی‌دار مرتبط با رشد و طول‌شدگی رویان و همچنین ساز و کار مرتبط با این ژن‌ها شناسایی شدند. نتیجه اساسی و کلی تحقیق حاضر شامل شناسایی شمار ۶۰ گره و ۱۸۸ یال در شبکه بازسازی شده اصلی و شمار چهار ماژول مهم و عملکردی است که با ژن‌های دخالت‌کننده در رشد، طول‌شدگی، تولید اجزای مایع مجرای رحمی، پاسخ ایمنی و غیره مرتبط هستند. در تحقیق حاضر، گروه مهمی از ژن‌های کد کننده پروتئین‌های موسوم به متالوپروتئازها و متالوتیونین‌ها شناسایی شدند که نقش مهمی در اوایل طول‌شدگی رویان می‌توانند داشته باشند.

شناخته می‌شود (Schulte and Wellstein, 1997)، می‌تواند در ایمنی نقش ایفاء کند. پروتئین کد شده به وسیله ژن PTN، عامل رشد متصل به هپارین را دارا است. این پروتئین، نقش‌های مهمی در رشد سلولی، مهاجرت، رگ‌زایی (Angiogenesis) و زنده‌مانی دارد. بنابراین با توجه به یافته‌های تحقیق حاضر انتظار می‌رود این ژن در رشد و مهاجرت رویان داخل رحمی و زنده‌مانی آن نقش مهمی داشته باشد. از جمله ژن‌های مهم که در تحقیق حاضر به عنوان ژن‌های دخیل در طول‌شدگی رویان شناسایی شدند و نقش مستقیمی در آن داشتند ژن MTPN است. این ژن بر خلاف انسان که نقش‌های مهم دیگری از جمله در توسعه سلول‌های قلبی و مخچه و تکثیر نورون‌های عصبی مرتبط دارد، در گاوهای شیری به عنوان یکی از ژن‌های مهم در ایجاد و حفظ آبستنی و نیز تکثیر سلول‌های تروفوبلاست و تشکیل جفت شناسایی شده است (Ishiwata *et al.*, 2003). این ژن نقش مهمی در تنظیم رشد رشته‌های آکتین دارد و به همین ترتیب نقش مهمی را در فرآیند طول‌شدگی رویان می‌تواند داشته باشد.

ژن LIMS2 (ساختارهای شبه آنتی‌ژنی LIM و سلول‌های مرده) ژنی است که با ژن LIMS1 برای اتصال به اینترگرین وابسته به کیناز، رقابت می‌کند. همولوگ این ژن در رحم موش، موسوم به Pinch1 و Pinch2 شناسایی شده است (Braun *et al.*, 2003). Pinch1 و Pinch2 در چسبندگی‌های موضعی سلولی نقش دارند. بدین ترتیب ژن LIMS2 نیز در اندومتریوم گاو، برای ایجاد پذیرش رحمی و اتصال به واحدهای اینترگرین بیان شده در اپیتلیوم رحمی و در چسبندگی‌های سلولی نقش دارد (MacIntyre *et al.*, 2002). برخی از ژن‌ها در تأمین انرژی مربوط به رشد و شروع طول‌شدگی می‌توانند نقش داشته باشند. ATP10A ژنی است که به عنوان ژن معنی‌دار مهم در این زمینه شناسایی شده است. پروتئین کد شده به وسیله این ژن از گروه خانواده ATPase است،

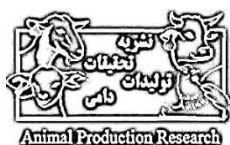
فهرست منابع

- Andrews S. 2010. FastQC: a quality control tool for high throughput sequence data. Available online at: <http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc>.
- Barabási A. L. and Bonabeau E. 2003. Scale-free networks. *Scientific American*, 288(5): 60-69.
- Baran N., Kelly P. A. and Binart N. 2003. Decysin, a new member of the metalloproteinase family, is regulated by prolactin and steroids during mouse pregnancy. *Biology of Reproduction*, 68(5): 1787-1792.

- Barrett T., Troup D. B., Wilhite S. E., Ledoux P., Rudnev D., Evangelista C., Kim I. F., Soboleva A., Tomaszewski M. and Edgar R. 2006. NCBI GEO: mining tens of millions of expression profiles—database and tools update. *Nucleic Acids Research*, 35(suppl. 1): D760-D765.
- Bauersachs S., Ulbrich S. E., Gross K., Schmidt S. E., Meyer H. H., Wenigerkind H., Vermehren M., Sinowatz F., Blum H. and Wolf E. 2006. Embryo-induced transcriptome changes in bovine endometrium reveal species-specific and common molecular markers of uterine receptivity. *Reproduction*, 132(2): 319-331.
- Bauersachs S., Ulbrich S. E., Reichenbach H. D., Reichenbach M., Büttner M., Meyer H. H., Spencer T. E., Minten M., Sax G., Winter G. and Wolf E. 2012. Comparison of the effects of early pregnancy with human interferon, alpha 2 (IFNA2), on gene expression in bovine endometrium. *Biology of Reproduction*, 86(2): 46.
- Bazer F. W. 1975. Uterine protein secretions: Relationship to development of the conceptus 1. *Journal of Animal Science*, 41(5), 1376-1382.
- Betteridge K. J. and Fléchon J. E. 1988. The anatomy and physiology of pre-attachment bovine embryos. *Theriogenology*, 29(1): 155-187.
- Binelli M., Scolari S. C., Pugliesi G., Van Hoeck V., Gonella-Diaza A. M., Andrade S. C., Gasparin G. R. and Coutinho L. L. 2015. The transcriptome signature of the receptive bovine uterus determined at early gestation. *PLoS One*, 10(4): e0122874.
- Boivin J., Bunting L., Collins J. A. and Nygren K. G. 2007. International estimates of infertility prevalence and treatment-seeking: potential need and demand for infertility medical care. *Human Reproduction*, 22(6): 1506-1512.
- Bolger A. M., Lohse M. and Usadel B. 2014. Trimmomatic: A flexible trimmer for Illumina Sequence Data. *Bioinformatics*, 30(15): 2114-2120.
- Braun A., Bordoy R., Stanchi F., Moser M., Unter Kostka G., Ehler E., Brandau O. and Fässler R. 2003. PINCH2 is a new five LIM domain protein, homologous to PINCH and localized to focal adhesions. *Experimental Cell Research*, 284(2): 237-248.
- Brazma A., Parkinson H., Sarkans U., Shojatalab M., Vilo J., Abeygunawardena N., Holloway E., Kapushesky M., Kiemer P., Lara G. G., Oezcimen A., Rocca-Serra P. and Sansone S. A. 2003. ArrayExpress—a public repository for microarray gene expression data at the EBI. *Nucleic Acids Research*, 31(1): 68-71.
- Dean M., Hamon Y. and Chimini G. 2001. The human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily. *Journal of Lipid Research*, 42(7): 1007-1017.
- Del Carratore F., Jankevics A., Eisinga R., Heskes T., Hong F. and Breitling R. 2017. RankProd 2.0: a refactored bioconductor package for detecting differentially expressed features in molecular profiling datasets. *Bioinformatics*, 33(17): 2774-2775.
- Diskin M. G. and Morris D. G. 2008. Embryonic and early foetal losses in cattle and other ruminants. *Reproduction in Domestic Animals*, 43: 260-267.
- Diskin M. G., Murphy J. J. and Sreenan J. M. 2006. Embryo survival in dairy cows managed under pastoral conditions. *Animal Reproduction Science*, 96(3-4): 297-311.
- Duncan W. C., Shaw J. L., Burgess S., McDonald S. E., Critchley H. O. and Horne A. W. 2011. Ectopic pregnancy as a model to identify endometrial genes and signaling pathways important in decidualization and regulated by local trophoblast. *PLoS One*, 6(8): e23595.
- Edgar R., Domrachev M. and Lash A. E. 2002. Gene expression omnibus: NCBI gene expression and hybridization array data repository. *Nucleic Acids Research*, 30(1): 207-210.
- Enquobahrie D. A., Williams M. A., Qiu C., Muhie S. Y., Slentz-Kesler K., Ge Z. and Sorenson T. 2009. Early pregnancy peripheral blood gene expression and risk of preterm delivery: a nested case control study. *BMC Pregnancy and Childbirth*, 9(1): 56.
- Forde N., Spencer T. E., Bazer F. W., Song G., Roche J. F. and Lonergan P. 2009. Effect of pregnancy and progesterone concentration on expression of genes encoding for transporters or secreted proteins in the bovine endometrium. *Physiological Genomics*, 41(1): 53-62.
- Forde N., Beltman M. E., Duffy G. B., Duffy P., Mehta J. P., O'gaora P., Roche J. F., Lonergan P. and Crowe M. A. 2011. Changes in the endometrial transcriptome during the bovine estrous cycle: effect of low circulating progesterone and consequences for conceptus elongation. *Biology of Reproduction*, 84(2): 266-278.
- Forde N., Duffy G. B., McGettigan P. A., Browne J. A., Mehta J. P., Kelly A. K., Mansouri-Attia N., Sandra O., Loftus B. J., Crowe M. A., Fair T., Roche J. F., Lonergan P. and Evans A. C. O. 2012. Evidence for an early endometrial response to pregnancy in cattle: both dependent upon and independent of interferon tau. *Physiological Genomics*, 44(16): 799-810.
- Garrett J. E., Geisert R. D., Zavy M. T. and Morgan G. L. 1988. Evidence for maternal regulation of early conceptus growth and development in beef cattle. *Journal of Reproduction and Fertility*, 84(2): 437-446.

- Geisert R. D., Brookbank J. W., Michael Roberts R. and Bazer F. W. 1982. Establishment of pregnancy in the pig: II. Cellular remodeling of the porcine blastocyst during elongation on day 12 of pregnancy. *Biology of Reproduction*, 27(4): 941-955.
- Gray C. A., Taylor K. M., Ramsey W. S., Hill J. R., Bazer F. W., Bartol F. F. and Spencer T. E. 2001. Endometrial glands are required for preimplantation conceptus elongation and survival. *Biology of Reproduction*, 64(6): 1608-1613.
- Guillomot M. 1995. Cellular interactions during implantation in domestic ruminants. *Journal of Reproduction and Fertility*, 49: 39-51.
- Hafez E. S. E. and Hafez B. 2013. *Reproduction in farm animals*. John Wiley & Sons.
- Hue I., Degrelle S. A. and Turenne N. 2012. Conceptus elongation in cattle: genes, models and questions. *Animal Reproduction Science*, 134(1-2): 19-28.
- Ishiwata H., Katsuma S., Kizaki K., Patel O. V., Nakano H., Takahashi T., Imai K., Hirasawa A., Shiojima S., Ikawa H., Suzuki Y., Tsujimoto G., Izaike Y., Todoroki J. and Hashizume K. 2003. Characterization of gene expression profiles in early bovine pregnancy using a custom cDNA microarray. *Molecular Reproduction and Development*, 65(1): 9-18.
- Jensen L. J., Kuhn M., Stark M., Chaffron S., Creevey C., Muller J., Doerks T., Julien P., Roth A., Simonovic M., Bork P. and von Mering C. 2008. STRING 8—a global view on proteins and their functional interactions in 630 organisms. *Nucleic Acids Research*, 37(suppl. 1): D412-D416.
- Kim D., Langmead B. and Salzberg S. L. 2015. HISAT: a fast spliced aligner with low memory requirements. *Nature Methods*, 12(4): 357.
- Langat D. L., Wheaton D. A., Platt J. S., Sifers T. and Hunt J. S. 2008. Signaling pathways for B cell-activating factor (BAFF) and a proliferation-inducing ligand (APRIL) in human placenta. *The American Journal of Pathology*, 172(5): 1303-1311.
- Lonergan P. 2011. Influence of progesterone on oocyte quality and embryo development in cows. *Theriogenology*, 76(9): 1594-1601.
- MacIntyre D. M., Lim H. C., Ryan K., Kimmins S., Small J. A. and MacLaren L. A. 2002. Implantation-associated changes in bovine uterine expression of integrins and extracellular matrix. *Biology of Reproduction*, 66(5): 1430-1436.
- Mann G. E., Fray M. D. and Lamming G. E. 2006. Effects of time of progesterone supplementation on embryo development and interferon- τ production in the cow. *The Veterinary Journal*, 171(3): 500-503.
- Mittal A., Pachter L., Nelson J. L., Kjærsgaard H., Smed M. K., Gildengorin V. L., Zoffmann V., Hetland M. L., Jewell N. P., Olsen J. and Jawaheer D. 2015. Pregnancy-induced changes in systemic gene expression among healthy women and women with rheumatoid arthritis. *PloS One*, 10(12): e0145204.
- Mondal S. and Prakash B. S. 2002. Comparison of luteal function between cows and buffaloes during estrous cycle. *Indian Journal of Dairy Science*, 55(3): 142-144.
- Montejo J., Zuberi K., Rodriguez H., Bader G. D. and Morris Q. 2014. GeneMANIA: Fast gene network construction and function prediction for Cytoscape. *F1000Research*, 3: 153.
- Morris D. G., Grealy M., Leese H. J., Diskin M. G. and Sreenan J. M. 2001. Cattle embryo growth, development and viability, Teagasc.
- Nepsuz T., Yu H. and Paccanaro A. 2012. Detecting overlapping protein complexes in protein-protein interaction networks. *Nature Methods*, 9(5): 471.
- Nyman S., Gustafsson H. and Berglund B. 2018. Extent and pattern of pregnancy losses and progesterone levels during gestation in Swedish Red and Swedish Holstein dairy cows. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 60(1): 68.
- Pertea M., Pertea G. M., Antonescu C. M., Chang T. C., Mendell J. T. and Salzberg S. L. 2015. StringTie enables improved reconstruction of a transcriptome from RNA-seq reads. *Nature Biotechnology*, 33(3): 290
- Piehler A., Kaminski W. E., Wenzel J. J., Langmann T. and Schmitz G. 2002. Molecular structure of a novel cholesterol-responsive A subclass ABC transporter, ABCA9. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 295(2): 408-416.
- Ribeiro E. S., Galvão K. N., Thatcher W. W. and Santos J. E. P. 2012. Economic aspects of applying reproductive technologies to dairy herds. *Animal Reproduction*, 9(3): 370-387.
- Ritchie M. E., Phipson B., Wu D., Hu Y., Law C. W., Shi W. and Smyth G. K. 2015. Limma powers differential expression analyses for RNA-sequencing and microarray studies. *Nucleic Acids Research*, 43(7): e47-e47.
- Rodriguez-Martinez H., Hultgren J., Båge R., Bergqvist A. S., Svensson C., Bergsten C., Lidfors L., Gunnarsson S., Algers B., Emanuelson U., Berglund B., Andersson G., Håård M., Lindhé B., Stålhammar H. and Gustafsson H. 2008. Reproductive performance in high-producing dairy cows: can we sustain it under current practice. *IVIS Reviews in Veterinary Medicine*, 1(108): 1-23.

- Schulte A. M. and Wellstein A. 1997. Pleiotrophin and related molecules. Bicknell R Lewis CE Ferrara N (Eds). Tumor Angiogenesis. Oxford University Press, Oxford, pp. 273-289.
- Shannon P., Markiel A., Ozier O., Baliga N. S., Wang J. T., Ramage D., Amin N., Schwikowski B. and Ideker T. 2003. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. *Genome Research*, 13(11): 2498-2504.
- Spencer T. E., Sandra O. and Wolf E. 2008. Genes involved in conceptus–endometrial interactions in ruminants: insights from reductionism and thoughts on holistic approaches. *Reproduction*, 135(2): 165-179.
- Spencer T. E. and Hansen T. R. 2015. Implantation and establishment of pregnancy in ruminants. In: Regulation of implantation and establishment of pregnancy in mammals (pp. 105-135). Springer.
- Sponchiado M., Gonella-Diaza A. M., Rocha C. C., Turco E. G. L., Pugliesi G., Leroy J. L. and Binelli M. 2019. The pre-hatching bovine embryo transforms the uterine luminal metabolite composition *in vivo*. *Scientific Reports*, 9(1): 8354.
- Thirumoorthy N., Kumar K. M., Sundar A. S., Panayappan L. and Chatterjee M. 2007. Metallothionein: an overview. *World Journal of Gastroenterology*, 13(7): 993.
- Wang R., Sens D. A., Garrett S., Somji S., Sens M. A. and Lu X. 2007. The resistance of metallothionein to proteolytic digestion: An LC-MS/MS analysis. *Electrophoresis*, 28(16): 2942-2952.



Research paper

Transcriptome profile of endometrium for growth and elongation of dairy cattle embryo

J. Jamdar Zonuzagh¹, M. Moradi Shahrabak^{2*}, A. Nejati-Javaremi²

1. Ph.D Student, Department of Animal Science, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

2. Professor, Department of Animal Science, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

(Received: 22-08-2019 – Accepted: 28-12-2019)

Abstract

In this study, transcriptome data were used to identify the genes involved in embryo elongation of dairy cattle and the inter-gene interactions to evaluate the important functional modules during this process. The growth, successful development, and survival of the embryo are the most important needs of the dairy industry. The majority of pregnancy loss occurs during the first weeks, especially at the embryonic elongation stage. Thus, in order to better understanding of the molecular basis of this process, we undertook the transcriptome profiling of endometrial cells of pregnant versus non-pregnant cows, during this period. After preprocessing and analysis of microarray and RNA-Seq data and combining the results, gene interactions were investigated using data mining approach. Finally, by comparison of the endometrial profiles, reconstruction of the network and search for important modules, we found four significant functional modules. The most important genes contained ANKRD54, ADAMDEC1, PTN, MT1A, LIMS2, MT1E, CPA3 and MTPN. According to this study, we suggest that identified modules can be used as markers for embryonic growth, elongation, development, secretion of uterine luminal fluid, immune response and embryo survival.

Keywords: Blastocyst, Gene network, Pregnant cow, Module

*Corresponding author: moradim@ut.ac.ir