

eman ta zabal zazu



Universidad  
del País Vasco

Euskal Herriko  
Unibertsitatea



ZTF-FCT

Zientzia eta Teknologia Fakultatea  
Facultad de Ciencia y Tecnología



Gradu Amaierako Lana / Trabajo Fin de Grado  
Biokimika eta Biologia Molekularra Gradua / Grado en Bioquímica y Biología Molecular

# Hautetsitako gune genomikoen analisia Sasi- ardia arrazan: gene gakoen identifikazioa/ Análisis de regiones genómicas bajo selección en la raza ovina Sasi-ardi: identificación de genes candidatos

Egilea/Autor:  
Maialen Igartua Ayerbe  
Zuzendaria/Director/a:  
Dr. Andone Estonba  
Dr. Otsanda Ruiz

© 2015, Maialen Igartua Ayerbe

Leioa, 2015eko ekainaren 22a /Leioa, 22 de junio de 2015

## Aurkibidea

<b>1. Sarrera</b> .....	<b>1</b>
<b>2. Material eta metodoak</b> .....	<b>4</b>
2.1. Abiapuntuko datuak.....	4
2.2. <i>Quantitative Trait Loci-en (QTL)</i> eta geneen bilaketa identifikaturiko CCR gune genomikoetan.....	4
2.3. Gene ontologia (GO) analisia .....	5
2.4. Bilaketa bibliografikoa.....	5
<b>3. Emaitzak eta eztabaida</b> .....	<b>5</b>
<b>4. Ondorioak</b> .....	<b>10</b>
<b>5. Bibliografia</b> .....	<b>11</b>

## 1. SARRERA

Ehizatetik animaliak etxekotzera pasatzeak izugarritzko aldaketa ekarri zuen gizakiaren bizimoduan zein laborantzan. Batez ere, gizakion bizitzeko ohiturak aldatu ziren, bizitza nomada bat izatetik sedentario bat izatera pasatuz adibidez. Honek guztiak gizarte oso baten garapena ekarri zuen, populazioaren hazkuntza eta hedapena sustatuz.

Testuinguru honetan hasi zen ardien etxekotzea ere, duela 11 000 urte gutxi gorabehera, Ilgora Emankorrean (Zeder, 2008). Bazka-animalia guztien artetik, ardia izan zen etxekotu zen lehena. Izan ere, gizakiok komeni bezala erabili ahal izateko neurria du, eta erraz moldatzen da klima aldakorreko inguruneetara zein elikadura urriko jan-neurrietara. Hasieran, batik bat, haragia lortzeko erabili zuten, gutxi gorabehera duela 4000-5000 urte arte, non artile eta esne produkzioak garrantzia gehiago hartu zuen animalia hauengan (Chessa et al., 2009).

Etxekotze prozesu honen ondorioz hainbat arraza ezberdin garatu dira ardi espeziean, honen dibertsitate fenotipikoa izugarri handitu delarik (Andersson, 2012). Dibertsitate fenotipiko hau arraza ezberdinen genoman ere islatzen da (Vitti et al., 2013). Izan ere, ezaugarri konkretu baten aldeko hautespen positiboak, ezaugarri horren erantzule den *locus* batean alelo onuragarriaren frekuentzia igoaraziko du populazio konkretu batean. Gainera, kasu batzuetan, alelo hau bera finkatzera iritsi daiteke, hau da, populazioan %100eko frekuentzia izatera heldu. Maiztasun igoera hau gertatzearekin batera, alelo onuragarri horri *linkage disequilibrium*-aren (*LD*) bidez lotuta dauden alelo "neutroen" frekuentzia ere jaitsi egingo da, hauek ez baitira modu independentean bereziko (The International HapMap Consortium, 2005). Honen eraginez, gune horren aldakortasun genetikoa jaitsi egingo da populazio osoan, nolabait alelo onuragarriaren maiztasun igoerak inguruko neutroak herrestan eramanda. Herrestan eramate honi, *Hitchhiking efektua* deritzogu (Smith & Haigh, 2009), eta sortuko den aldakortasun genetiko urriko guneari *selective sweep*-a (Vitti et al., 2013).

Gaur egungo teknologiek datu genetiko kantitate handiak eskuratzeko aukera ematen digute. Honenbestez, espezieen genoman zeharreko *selective sweep* guneak detektatzea posible dugu, eta bide batez, gune genomiko hauek eta bertan kokatzen diren geneak fenotipo ezberdinekin lotzea ere. Orokorrean hitz eginda, eta kontutan izanik lehenago azaldutako hautespenaren efektua genoman, hiru hurbilketa ezberdin erabiltzen dira hautespen hau pairatu duten gune genomikoak identifikatzeko: (1) frekuentzia alelikoen aldakortasunean oinarrituriko metodoak, (2) *LD*-an oinarrituriko metodoak eta (3) populazioen arteko ezberdintzapenean oinarritzen direnak (Vitti et al., 2013).

Frekuentzian oinarritutako metodoei dagokienez, parametro estatistiko erabiliena heterozigositatea (H) da. Etxekotze prozesua pairatu izan duten espezieen genoma aztertzen duten hainbat lan aurkitu ditzakegu parametro honetan oinarrituak, besteak beste (Rubin et al., 2012; Axelsson et al., 2013). Parametro honek dibertsitate nukleotidikoa neurtzen du, tarte genomiko batean kokatzen diren *loci*-entzako indibiduo heterozigoto kopurua homozigotoen kopuruarekin alderatuz. Honela, heterozigositatea baxua denean (homozigositate altua) gene genomiko horretan dibertsitate nukleotidiko baxua dugula esan dezakegu, eta, beraz, bertan *selective sweep* bat egon daitekeela iradoki dezakegu, hau da, aztertutako gene genomikoan hautespen positiboa izan dela.

Bestalde, Tajimaren D (D) parametroa ere oso erabilia izaten da (Tajima, 1989). Tajimaren D-ak aztertutako *loci*-entzat binakako indibiduen arteko ezberdintasunak hartu eta gene genomiko horretan dauden *loci* kopuru totalarekin alderatzen ditu. Honenbestez, geroz eta D balio baxuagoak izan (negatiboagoak), hautespen positiboa egon dela esan nahi du (Vitti et al., 2013).

Honez gain, LD-ean oinarritutako metodoak ditugu. Jakina da hautetsitako alelo bat LD nabari batean mantentzen dela bere inguruko *hitchhiker* aleloekin, errekonbinazioak efektu hau suntsitu arte (Smith & Haigh, 2009). Honenbestez, aleloak eta berari loturiko alelo konbinaketa honek haplotipo bat osatzen du. Beraz, LD-a oso sendo eta hedatua duten eskualde genomikoak bilatu ditzakegu hautespen islada izan daitezkeenak (haplotipo luzeak, hain zuzen ere) (Vitti et al., 2013).

Azkenik, populazioen arteko ezberdintzapenean oinarritutako metodoak ditugu. Izan ere, populazio ezberdinek ingurumen-presio ezberdinak pairatzen dituzte, eta beraz, presioaren arabera, horretara egokitzeko garaturiko ezaugarriak ezberdinak izango dira. Honenbestez, *locus* konkretu bateko alelo bat hautetsia bada populazio batean, bere frekuentzia gainontzeko populazioekiko desberdintzen joango da. Populazioen arteko ezberdintzapenean oinarritutako metodoen artean, gehien erabiltzen den metodoa Wright-en fixapen indizea ( $F_{ST}$ ) da (Holsinger & Weir, 2009).  $F_{ST}$ -ak aleloen frekuentzien bariantzak konparatzen ditu populazioen artean. Honenbestez,  $F_{ST}$ -aren balio altuak baditugu, ezberdintasun nabari bat egongo dela identifikatu dezakegu, eta hautespena adieraziko digu. Bestalde, balio baxuak baditugu, konparatzen diren taldeak homogeenak direla esan nahi du, beraz, bi aukera izango genituzke: ez dela hautespenik egon, edo hautespen berdina egon dela bi populazioetan.

Hiru metodo ezberdin hauek, hau da; frekuentzia alelikoetan oinarritutako metodoak, LD-ean oinarritutako metodoak eta populazioen arteko ezberdintzapenean oinarritutakoak konbinatu egin daitezke. Are gehiago, gaur egun oso ohikoa da jatorri ezberdina duten hainbat parametro konbinatzea potentzia eta erresoluzio espazial gehiago emateko helburuarekin (Vitti et al., 2013).

Honela, informazio osagarria biltzea eta positibo faltsuak gutxitzea lortzen da (Carlson et al., 2005).

Azaldutako testuinguru honetan Andone Estonba doktoreak zuzentzen duen ikerketa taldeak ardi espeziearen etxekotze eta hautespen artifizial prozesuek espeziearen genomak izandako efektua aztertzen lan egiten du hautetsitako gune genomikoak identifikatzeko helburuarekin. Konkretuki, Latxa eta Sasi-ardi arrazen genomak azterketan datzan proiektu bat aurrera eramaten ari dira. Aurkezturiko lan honetan, Sasi-ardiaren genomari buruz arituko gara.

Sasi-ardia batez ere Gipuzkoa eta Nafarroan bizi da; Leizaran haranean, Ezkurrako eta Urumeako ibai inguruetan, Malderrekan. Horiez gain, Bizkaiako Durangaldean eta Aragoiko Cinco Villas-en ere aurkitu izan dira. Abelazkuntza estentsiboz hazten den arraza bat da. Larreko ardia da, askatasun osoz mendian bizi dena, artaldean ibiltzeko joerarik gabe, gutxi gorabehera 8-9 hilabetez. Beraz, arraza gogor eta arina da, eta baldintza erdi basatietan bizirautean dute mendian, askotan oso leku sastrakatsu eta nekezetan. Honengatik, sarritan ia artzainen zaintzarik gabe moldatzen dira irauteko.

Neurriz txikiak izaten dira, eta bai ar zein emeek adarrak dituzte. Dena den, arren adarrak hobeto garatuta egoten dira, espiral itxurarekin. Pigmentazio hori edo gorrixka izaten dute, buru eta gorputzadarretan orbain uniformeak dituztelarik. Artileari dagokionez, kolore txurikoa izaten da, eta nahiko landugabea zein lakarra. Ardi helduek gutxi gorabehera 30-35kg inguru izaten dituzte eta ahari helduek aldiz 40-50kg. Batez ere haragiaren produkzioarako ustiatzen dira eta azken urteotan gainera, bere balio ekonomikoa izugarri hazi da; artzain asko haragiaren alde aurretiko enkarguak egiten hasi dira. Hala eta guztiz ere, gaur egun desagertzeko arriskuan dagoen arraza bat da (FAO, 2007), orohar beraien kopurua oso txikia baita. Sasi-ardia babes berezia behar duten arraza autonomoen taldean dago sailkatua, Espainiako abere-arrazen katalogo ofizialean.

Honenbestez, lan honen helburua aipaturiko proiektuaren barnean Sasi-ardia arrazan detektatu diren hautetsitako gune genomiko horietan sakontzea da. Gune horietako bakoitza zer nolako fenotipoekin lotu daitezkeen eta euren barnean fenotipo horrekin loturiko geneak identifikatzen saiatuko gara datu-base ezberdinak erabiliz. Lorturiko emaitzak gai honen inguruko orain arteko bibliografiarekin ere kontrastatuko dira. Gune genomiko hauen azterketa sakon honen ondorioz, etorkizun baterako azterketa genetikoaren oinarri izan daitezkeen emaitzak lor daitezke, hautespen artifizial eta hobetze programen diseinurako zuzenduak, besteak beste.

## 2. MATERIAL ETA METODOAK

### 2.1. Abiapuntuko datuak

Sarreran aipatu bezala, lan hau Sasi-ardi eta Latxa ardi arrazen genomaren hautespenean aztarnak detektatzera zuzenduriko proiektu handiagoaren parte da, eta hola izanda, proiektu horretan burututako analisi estatistikoetan lortutako emaitzak ditu abiapuntutzat, kasu honetan, Sasi-ardi arrazari dagozkionak.

Proiektuaren helburuak lortzeko Sasi-ardi arrazaren 25 indibiduen genomaren osoa sekuentziatu da (Whole Genome Resequencing) "pool" batean. Sekuentziazioa Illumina teknologiarekin burutu da (2x100 nt) 46 Gb datu lortu direlarik. Behin genomaren sekuentziatuta, Sarrera atalean azaldu diren Tajimaren D-a (D) eta heterozigositatea (H) kalkulatu dira genomaren zehar, 50 kb-ko mugituri 200kb-ko leihoak, edo gune genomikoak, erabiliz. Gune bakoitzeko D eta H balioak izanda esangarritzat edo "Convergent Candidate Region"-tzat (CCR) jo dira parametro bietarako balioak  $< -6$  zeukaten guneak. Denetara, 30 CCR identifikatu dira Sasi-ardi arrazaren genomaren zehar OAR2, OAR3, OAR4, OAR5, OAR6, OAR7, OAR8, OAR10, OAR11, OAR13, OAR15, OAR18, OAR19, OAR20, OAR21, OAR22 eta OAR24 kromosometan kokatuta.

### 2.2. *Quantitative Trait Loci (QTL)* eta geneen bilaketa identifikaturiko CCR gune genomikoetan:

Abiapuntutzat ditugun CCR bakoitzean zein *QTL* zegoen identifikatzen saiatu gara. Honetarako, *SheepQTL* datu-basea (<http://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/OA/index>) erabili da (Hu et al., 2013). Datu base honetan ardiari dagozkien *QTL* ezberdinak biltegiratzen dira, eta *QTL* bakoitzari buruzko informazioa ere ematen du. Kasu honetan, CCR bakoitzarentzat, hark barneratzen dituen eta gainjartzen diren *QTL* guztiak bilatu dira, eta honako datuak jaso: beraien identifikazio kodigoa, ezaugarri klasea, mota eta izena, gene hautagaia (hala izatekotan), eta *QTL*aren koordinatuak Mbp-tan.

Jarraian, Ensembl-en Biomart baliabidea erabiliz (<http://www.ensembl.org/biomart/>), identifikatutako CCRen guneetan zein gene dauden aurkitu dira modu sistematiko batean. Honetarako, lehenik eta behin "Ensembl Genes 79" datu-basea aukeratu da, eta honen barnean *Ovis aries* espezieari dagozkion datu multzoa (Oar\_v3.1) hautatu. Jarraian, honako iragazkiak ezarri ziren software-ak ematen dituen emaitzen taularako: genearen ID-a, koordinatuak (bp-tan), asoziatutako genearen izena, deskribapena eta gene ontologiako kodigoa (*GO Term Accession*), izena (*GO Term Name*) eta deskribapen laburra (*GO Term Definition*).

### 2.3. Gene ontologia (GO) analisia

Gene ontologiako analisien helburua GO kategoria guztietatik zeintzuk dauden estatistikoki gainadierazita jakitea izan da. Honetarako, analisiak DAVID Bioinformatics Resources 6.7 softwarearekin egin dira (<http://david.abcc.ncifcrf.gov/>), bertako “*Functional annotation clustering*” tresnarekin (Huang et al., 2009). Analisi hau gure CCRen barneko gene guztietan oinarritu da. Honetarako, *Bos taurus* espezieko geneak hartu dira hondo bezala, izan ere, espezie honetako gene hautagai gehiago daude mapeatuak *Ovis aries* espeziekoak baino. Honez gain, gure geneei zegozkien Ensembl-eko (<http://www.ensembl.org/>) behi geneen identifikazio kodigo guztiak jaitsi dira azterketa modu egokian burutu ahal izateko. Tresna honek *cluster* ezberdinetan biltzen ditu emandako geneak, euren *GO Term*-etan oinarrituz. *Cluster* bakoitza esangarritzat hartzeko, *enrichment t-score*-a 1,3koa edo handiagoa izan behar du eta *GO Term* talde bakoitzak *cluster*-aren barnean daukan P-balioa  $< 0,05$  (Lv et al., 2014).

### 2.4. Bilaketa bibliografikoa

Lan honetarako abiapuntutzat ditugun CCR-ak aurretik gai honen inguruan publikaturiko ikerketa lanekin kontrastatu dira. Honetarako, Pubmed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>) bidezko bilaketak egin dira. Bilaketa hauen helburua, besteen lanetan identifikatu diren gune hautatu esangarriak aurkitzea izan da, eta ea gurekin bat etortzen diren edo ez begiratzea. Bilaturiko terminoak honakoak izan dira: “Selection signatures in sheep”, “Selective sweep in sheep”, “(candidate gene[Title/Abstract]) AND sheep”, “Genome wide association analysis in sheep” eta “Genome wide association study in sheep”, besteak beste.

## 3. EMAITZAK ETA EZTABAIDA

Esan bezala, lan honetan Sasi-ardi arrazaren genomaz zehar kokaturiko 30 CCR aztertu ditugu (OAR2, OAR3, OAR4, OAR5, OAR6, OAR7, OAR8, OAR10, OAR11, OAR13, OAR15, OAR18, OAR19, OAR20, OAR21, OAR22 eta OAR24 kromosometan kokatuak). 30 gune kromosomiko hauetatik 28tan *QTL* bat edo gehiago aurkitu dira. Aurreko 30 CCR guneen analisia **1. Taulan** deskribatzen da, dagozkien *QTL*-ak eta geneak erakutsiz. Gune hauetan kokaturiko *QTL*-ei dagokiez, datu-basean dauden denetarik *QTL* motak aurkitu dira, baina gehien errepikatzen dena haragiarena da, 30 CCR-etatik 20 haragiarekin erlazionatuta daudelarik. Hala ere, baliteke errepikatze hau datu-basean gehien dagoen *QTL* mota delako izatea.

Honez gain, 30 CCR-tatik 26 gunek generen bat zuten barnean Biomart-en arabera. Gune bakoitzeko 0 eta 11 gene bitartean aurkitu dira, soilik 4 CCR gune aurkitu direlarik generik gabe.

CCR	CHR	Hasiera (kb)	Amaiera (kb)	Sheep QTLdb		Biomart	
				QTL kop.	QTL mota	Geneen izenak	GO Term kop.
1	2	28400	28650	7	Produkzioa, haragia, esnea, kanpo ezaugarriak	<i>BICD2, IPPK, CENPP, ECM2</i>	27
2	2	219400	219650	8	Produkzioa, haragia, esnea	<i>CTDSP1, VIL1, USP37, RQCD1, PLCD4, ZNF142, BCS1L, RNF25, STK36</i>	126
3	3	44250	44500	7	Produkzioa, haragia, esnea, artilea	<i>UGP2, WDPCP</i>	30
4	3	182650	183050	3	Haragia, osasuna, artilea	<i>AMN1, METTL20</i>	4
5	4	35150	35400	2	Produkzioa, artilea	-	-
6	4	47000	47200	1	Artilea	<i>CDHR3, SYPL1</i>	11
7	4	63050	63250	1	Artilea	<i>BBS9</i>	7
8	4	101750	101950	1	Artilea	<i>TRIM24</i>	31
9	5	107200	107500	0	-	<i>WDR36</i>	11
10	6	24650	24950	6	Produkzioa, haragia, osasuna	<i>H2AFZ, DNAJB14, LAMTOR3, DAPP1</i>	35
11	6	44750	45000	6	Produkzioa, haragia, osasuna	<i>ZCCHC4, ANAPC4, SLC34A2</i>	26
12	6	48300	48500	6	Produkzioa, haragia, osasuna	-	-
13	7	42000	42250	3	Artilea, haragia	<i>NID2</i>	14
14	8	7950	8300	3	Haragia, osasuna	-	-
15	8	31900	32250	3	Haragia, osasuna	<i>POPDC3, LIN28B</i>	18
16	8	62700	63150	5	Osasuna, haragia, esnea	<i>TNFAIP3, PERP, ARFGEF3</i>	64
17	8	90100	90300	1	Esnea	<i>PHF10, TCTE3, ERMARD</i>	3
18	10	42200	42850	8	Haragia, osasuna, kanpo ezaugarriak, ugalkortasuna	-	0
19	11	18300	18550	8	Produkzioa, haragia, osasuna, esnea	<i>EVI2B, OMG, NF1</i>	81
20	13	48900	49150	1	Haragia	<i>PPP1CC</i>	16
21	13	49600	50650	1	Haragia	<i>HAO1, ADRA1D, SMOX, RNF24, PANK2</i>	46
22	15	16950	17150	0	-	<i>SLC35F2, RAB39A, CUL5</i>	26
23	18	32200	32450	10	Produkzioa, haragia, esnea, osasuna, ugalkortasuna, artilea	<i>PTPN9, SIN3A, MAN2C1, NEIL1, COMMD4, C15orf39</i>	77
24	19	29600	29800	1	Haragia	-	-
25	20	15050	15300	7	Esnea, ugalkortasuna	<i>TSPO2, APOBEC2, OARD1, NFYA, TREML1, TREML2, TREML1</i>	65
26	20	18350	18700	9	Osasuna, haragia, esnea, ugalkortasuna	<i>SUPT3H</i>	10
27	20	50100	50500	1	Esnea	<i>GMDS</i>	21
28	21	42300	42500	19	Produkzioa, osasuna, haragia	<i>PYGM, SF1, MAP4K2, MEN1, CDC42BPG, EHD1, ATG2A, PPP2R5B, GPHA2, C11orf85</i>	137
29	22	22050	22250	6	Osasuna	<i>NFKB, PSD, CUEDC2, ?, PITX3, GBF1</i>	50
30	24	10250	10500	5	Produkzioa, haragia, esnea, ugalkortasuna	<i>TXNDC11, ZC3H7A, SNN</i>	6

**1. Taula:** Aurreko taulan, CCR-etan ditugun QTL motak, CCR-aren eskualdean bertan aurkitzen diren geneak eta gene horiei dagozkien GO Term kopurua daude. Urdinez Sasi-ardian adierazgarri izateaz gain, ardi Latxan ere adierazgarriak diren guneak. CHR = kromosoma. Kop. = Kopurua.



Bestalde, azterturiko CCR bakoitzean kokatzen diren gene ezberdinek *GO Term* ezberdinekin duten erlazioa aztertu da. *GO Term*-en analisiaren arabera, *cluster* esangarri bakarra identifikatzen da (**2. Taula**). *Cluster* honetan biltzen diren *GO Term* esangarriak ioien loturarekin erlazionatzen dira orokorrean. *GO Term* hauek dituzten geneak CCR2, CCR8, CCR11, CCR13, CCR15, CCR17, CCR20, CCR21, CCR23, CCR25, CCR28 eta CCR30etan aurkitzen dira. Gune horietan kokaturiko *QTL*-ei erreparatuz gero, badirudi *cluster* honetan biltzen diren geneek haragiaren ezaugarriekin zerikusia izan dezaketela, gehien nabarmentzen den *QTL* mota delako. Gene horien artetik *PPP1CC* (*protein phosphatase 1, catalytic subunit, gamma isozyme*) azpimarratzekoa izan daiteke. Izan ere, aurrerago eztabaidatua izango den bezala, gene hau muskulu eskeletikoaren indarraren gene hautagaitzat deskribatua izan da gizakietan (Windelinckx et al., 2011). Beraz, muskuluarekin daukan erlazioa kontutan izanik, onargarria izango litzateke ere bere eragina ardien haragiaren zenbait ezaugarrietan. Hala ere, analisi funtzionalak beharko lirateke esandakoa baieztatzeko.

Cluster (enrichment score)	GO Term	Description	Genes	P value
A (1,88)	GO:0046872	metal ion binding	<i>VIL1, NID2, EHD1, SLC34A2, PLCD4, PPP1CC, MAN2C1, TRIM24, SF1, LIN28B, NEIL1, APOBEC2, CDC42BPG, ZC3H7A, PHF10, RNF24, RNF25</i>	1.2E-3
	GO:0043169	cation binding	<i>VIL1, NID2, EHD1, SLC34A2, PLCD4, PPP1CC, MAN2C1, TRIM24, SF1, LIN28B, NEIL1, APOBEC2, CDC42BPG, ZC3H7A, PHF10, RNF24, RNF25</i>	1.3E-3
	GO:0043167	ion binding	<i>VIL1, NID2, EHD1, SLC34A2, PLCD4, PPP1CC, MAN2C1, TRIM24, SF1, LIN28B, NEIL1, APOBEC2, CDC42BPG, ZC3H7A, PHF10, RNF24, RNF25</i>	1.5E-3
	GO:0008270	zinc ion binding	<i>MAN2C1, TRIM24, SF1, LIN28B, NEIL1, APOBEC2, CDC42BPG, ZC3H7A, PHF10, RNF24, RNF25</i>	8.6E-3
	GO:0046914	transition metal ion binding	<i>PPP1CC, MAN2C1, TRIM24, SF1, LIN28B, NEIL1, APOBEC2, CDC42BPG, ZC3H7A, PHF10, RNF24, RNF25</i>	1.4E-2

**2. Taula:** estatistikoki gainadierazita dauden *GO* terminoak. U = uniprot key words, IPR = Interpro ID, SM = Smart ID, GO = Gene ontologia.

Sarrera atalean aipatu bezala, Sasi-ardi arrazan detektaturiko CCR gune hauek proiektu handiagobaten emaitzak dira. Izan ere, proiektu horretan Latxa arraza ere aztertzen ari dira Andone Estonbaren ikerketa taldean. Hau honela izanik, eta nahiz eta Latxa arrazari dagozkion emaitzak lan honetan ez aurkeztu, jakin badakigu hemen azterturiko 30 CCR guneen artean 10 gune Latxa arrazan ere esanguratsuak direla (**1 Taulan** adieraziak): OAR2, OAR3, OAR5, OAR8, OAR10, OAR13, OAR18 eta OAR20 kromosometan kokatuak hain zuzen ere. Sasi-ardi eta Latxa arrazek amankomunean aurkezten dituzten gune hautatu hauek, espeziean orokorrean emandako etxekotze-prozesuaren isladapena izan daitezke, edo behintzat, bi arraza hauetan emandako

gertaeren aztarnak. Hauen artean agian esanguratsuenak CCR3 (OAR3), CCR20 eta CCR21 (OAR13), CCR23 (OAR18) eta CCR26 (OAR20) kromosometan kokatzen direnak izan daitezke:

- **CCR20 (OAR13: 48.90-49.15 Mbp) eta CCR21 (OAR13: 49.60-50.65 Mbp):** Bi CCR hauek hain gertu egonda, CCR bakartzat hartu daitezke. Gune genomiko honetan, haragiarekin erlazonaturiko *QTL* bat aurkitu da ardi espeziean (Cavanagh et al., 2010), konkretuki, gorputzeko muskuluekin eta pisuarekin zerikusia duena. Izan ere, gune honekin erlazonatuta bi gene interesgarri kokatzen dira. Alde batetik, lehenago aipaturiko *PPP1CC* genea dago. Gene hau buztan lodia eta buztan mehea duten ardiak alderatuta identifikatu den gune genomiko baten gene hautagai bezala deskribatua izan da (Wei et al., 2015). Bestetik, *BMP2* (*bone morphogenetic protein 2*) genea dugu. Gene hau indibiduen hainbat ezaugarri morfologikoekin erlazonatua izan da etxe-abere ezberdinetan (Fan et al., 2011; Johnsson et al., 2012). Ardien kasuan ere, gene hau barneratzen duten hautetsitako gune genomikoak identifikatzen dituzten ikerketa lanak ere baditugu (Kijas et al. 2012; Fariello et al., 2014). Sasi-ardi arrazan arreta jarritz gero, bi CCR hauen identifikazioa arraza honen haragi ekoizpenarekin erlaziona daiteke.
- **CCR26 (OAR20: 18.35-18.70 Mbp):** CCR honetan hainbat ezaugarri ezberdinekin erlazonatzen diren *QTL*-ak aurkitu ditugu, **1. Taulan** isladatzen den bezala. Hauetatik bik, animalien osasunarekin lotura daukate (Lantier et al., 2012; Davies et al., 2006). Are gehiago, CCR honen barnean *SUPT3H* (*suppressor of Ty 3 homolog*) genea kokatzen da, zeina alde aurretik *ovine lentivirus* (OvLV) birusaren suszeptibilitatearekin erlazonaturik dagoela deskribatu den ardi espeziean (White et al., 2012). Hau jakinik, aipaturiko *QTL*-aren gene hautagaia izan daiteke.
- **CCR23 (OAR18: 32.20-32.45 Mbp):** CCR honetan ere hainbat ezaugarri desberdinen *QTL*-ak deskribatuak izan dira. Hautatik, agian, aipagarrienak izan daitezke parasitoen erresistentziarekin erlazonaturiko bat (Marshall et al., 2013) eta hazkuntzarekin erlazonaturiko beste bat (Raadsma et al., 2009). Izan ere, CCR honetatik gertu, bi ezaugarri hauekin erlaziona daitekeen nematodoekiko erresistentzia eta gorputzaren pisuarekin asoziatutako SNP (*single nucleotide polymorphism*) bat aurkitu izan da, ardi eskoziarretan oinarritutako ikerketa lan batean (Riggio et al., 2013). SNP hau *PML* (*promyelocytic leukemia*) genean kokatzen da, eta gene hau, behietan papiloma birusaren infekzioarekin erlazonatuta dagoela ikusi da (Day et al., 2004). Osasunarekin duen erlazio horretan oinarriturik, baliteke osasunarekin erlazonatutako *QTL*-aren gene hautagaia *PML* izatea.

- **CCR3 (OAR3: 44.25-44.50 Mbp):** CCR hau aurretik egindako ikerketatan ere aurkitu izan da, klimari asoziatuak (Lv et al., 2014). Bere identifikazioa lan honetan, Sasi-ardi eta Latxa arrak bertako klimara egokitzearen isla izan daiteke. Bestalde, Biomart tresnaren bidez bi gene identifikatu ditugu gene honetan: *UGP2 (UDP-glucose pyrophosphorylase 2)* eta *WDPCP (WD repeat containing planar cell polarity effector)*. *UGP2* karbohidratoen konbertsioaz arduratzen den entzima bat da, eta txerria bezalako etxe-abereetan egindako ikerketen arabera, bere eragina etxekotzean oraindik ez dago argi (Yu et al., 2014). *WDPCP* geneak ziliogenesisian eta zelulen polaritatean eragiten duen arren (Saari et al., 2015), kasu honetan ere ez da aurkitu etxe-abereetan izan dezakeen eraginik. Gene hauen funtzioak egokitze honekin erlazionatzeko, beraz, analisi funtzionalak egin beharko lirateke.

Orokorrean hartuta, beraz, Sasi-ardi eta Latxa arrazek amankomunean agertzen dituzten CCR gene hautatuak, alde batetik, indibiduoaren morfologiarekin zerikusia dutela esan daiteke, eta bestetik, osasunarekin ere erlazionatu daitezkeela nagusiki.

Bestalde, **1. Taulan** agertzen diren beste 20 CCRak Sasi-ardi arrazaren hautespen aztarna espezifikotzat jo daitezkeela esan genezake. Hauen artean aipagarrienak CCR10 (OAR6), CCR19 (OAR11), CCR24 (OAR19) eta CCR29 (OAR22) kromosometan kokatzen direnak izan daitezke:

- **CCR29 (OAR22: 22.05-22.25 Mbp):** Gune hau barnean hartzen zuen *selective sweep* zabalago bat deskribatua izan da alde aurretik ardi espeziean (Gutiérrez-Gil et al., 2014). Gune horretan, *SCD (Stearoyl-CoA desaturase)* eta *CHUK (conserved helix-loop-helix ubiquitous kinase)* geneak kokatzen dira. *CHUK* bularreko minbizietako tumoretan aurkitu izan da, eta bularreko zelula epitelialen zatitzean erregulatzailer lanak egiten dituela ikusi da saguekin egindako lan batean (Cao et al., 2007). Gainera, gure CCRan identifikatu diren 6 *QTL*etatik bat mastitisarekin erlazionaturik dago (Raadsma et al., 2009), ugatz guruinen inflamazioarekin alegia. *QTL* honen erantzulea izan daiteke, beraz, *CHUK* genea. *SCD* genea aldiz, esnearen produkzioarekin (Alim et al., 2012) eta gantz azidoen konposizioarekin (Moioli et al., 2007) erlazionatuta dagoela ikusi da behiekin eginiko ikerketetan. Gutiérrez-Gil-ek (2014) bi geneak esne-ardian identifikatu zituen arren, Sasi-ardia ez dagoenez esne-produkziara bideratuta, kasu honetan bietatik, soilik, *CHUK* geneagatik jaso dela hautespen seinalea pentsa daiteke. Bestalde, badaude CCR gene honetan hautespen aztarnak ere aurkitu dituzten beste ikerketa lanak, beti ere, ardi espeziean. (Fariello et al., 2014; Zhang et al.). Lan hauetan beste bi gene aipatzen dituzte gene hautagaitzat: , *CNNM2 (cyclin and CBS domain divalent metal cation transport*

*mediator 2*) eta *PITX3* (*paired-like homeodomain 3*). Dena den, momentuz ez da gene hauen funtzioa etxekotze edo hautespen artifizialarekin erlazionatu.

- **CCR24 (OAR19: 29.60-29.80 Mbp):** CCR honen inguruan aurretik ere hautetsitako guneak deskribatuak izan dira ardian (Kijas et al., 2012; Zhang et al., 2013; Fariello et al., 2014; Li et al., 2014). Autore hauek melanozitoen garapenean parte hartzen duen *MITF* (*microphthalmia-associated transcription factor*) genea aipatzen dute hautespen aztarna horren erantzuletzat. Gene hau pigmentazioarekin erlazionatua dagoela ikusi da beste hainbat etxe-abereetan (Hayes et al., 2010; Wang et al., 2014).
- **CCR19 (OAR11: 18.30-18.55 Mbp):** Gune honetan Biomart bidez identifikatu diren hiru geneen artean, *NF1* (*neurofibromin 1*) genea aldeztu aurretik ardi espeziean deskribatu diren hautetsitako guneetan kokatzen da (Kijas et al., 2012; Fariello et al., 2014). Gene honek Ras bidezko seinale transdukzio bide metabolikoan erregulazio negatiboa eragiten du. Honenbestez, minbizian eta neurofibromatosi kasu partikularretan eragina dauka (Sanchez-Ortiz et al., 2014). Zelula barneko seinaleztapenean daukan garrantziagatik, gene honetako mutazioek eragin fenotipiko asko izan ditzake, beraz, ardi arrazak hautespenaren presiora egokitzeko izan dezakeen funtzioa ezagutzeko analisi funtzionalak beharko lirateke.
- **CCR10 (OAR6: 24.65-24.95 Mbp):** CCR honetatik 200kb-tara gutxi gorabehera, ardien aurpegiko ekzemarekin erlazionatutako *selective sweep* bat identifikatu da (Phua et al., 2014). CCR honekin erlazionatutako *QTL*ei erreparatuz gero, gainera, identifikaturiko 6 *QTL*-tatik bat osasunari dagokiona da (Duncan et al., 2007), zehazki, aurpegiko ekzema pairatzeko suszeptibilitatearekin erlazionaturikoa. Beraz, bat dator bibliografian aurkitutakoarekin.

Orohar, askotariko emaitzak aurkitu dira Sasi-ardi arrazari dagozkion CCR-etan. Emaitza guztietatik, pigmentazioari eta osasunari dagozkion ezaugarriekin zerikusia duten CCR-ak identifikatu dira, besteak beste. Sasi-ardian osasuna hautetsia izateak zentzua dauka, izan ere, mendian denbora asko pasatzen dute solte, eta beraz, garrantzitsua da biziraupenerako immunitate-sistema ongi garatzea.

## 4. ONDORIOAK

Aurkeztan den lan hau Sasi-ardi arrazaren etxekotze prozesuaren ondorioak aztertzen dituen orain arteko lehen lana da, hautespenaren eragina pairatu duten gune genomikoen lehen ikuspegi orokorra delarik.

Ardi Latxarekin amankomunean dauden azterturiko 10 CCR-en artean, indibiduen morfologia, osasuna eta klimarekin erlazionatuta dauden guneak aurkitu ditugu, agian bertako eremuetara egokitze-prozesuaren islada izan daitezkeenak. Bestalde, soilik Sasi-ardia arrazaren 20 CCR espezifikoetatik nabarmenenak pigmentazioari eta osasunari dagozkionak izango lirateke.

Ageriko azalpenik aurkezten ez dituzten CCR guneak sakonkiago aztertu beharko lirateke. Izan ere, sasi-ardia oso arraza espezifikoa eta tokikoa denez, ez da harrizkoa arraza honen gune genomiko hautatu asko aldeztetik deskribatuak ez izatea. Ezagumendu falta honek gune hauetan kokatzen diren geneen azterketa sakonagoa behartzen du, asoziazio analisi edo analisi funtzionalen bidez, nolabait gene hauek hautatua izan zitekeen ezaugarri fenotipikoren batekin erlazionatzeko. Hala ere, ezin daiteke baztertu zenbait CCR gune positibo faltuak izatea.

Orohar, lan honen bidez lorturiko informazioa Sasi-ardi arrazan etorkizun bateko azterketa genetikoen oinarri izan daiteke, eta are gehiago, hautespen artifizial eta hobetze programen diseinurako ere baliagarria gerta liteke.

## 5. BIBLIOGRAFIA

- Alim, M. A., Fan, Y. P., Wu, X. P., Xie, Y., Zhang, Y., Zhang, S. L., Sun D.X., Zhang Y., Zhang Q., Liu L., Guo, G. (2012). Genetic effects of stearoyl-coenzyme A desaturase (SCD) polymorphism on milk production traits in the Chinese dairy population. *Molecular Biology Reports*, 39(9), 8733–40. doi:10.1007/s11033-012-1733-6
- Andersson, L. (2012). How selective sweeps in domestic animals provide new insight into biological mechanisms. *Journal of Internal Medicine*, 271(1), 1–14. doi:10.1111/j.1365-2796.2011.02450.x
- Axelsson, E., Ratnakumar, A., Arendt, M.-L., Maqbool, K., Webster, M. T., Perloski, M., Liberg O., Arnemo J.M., Hedhammar A., Lindblad-Toh, K. (2013). The genomic signature of dog domestication reveals adaptation to a starch-rich diet. *Nature*, 495(7441), 360–4. doi:10.1038/nature11837
- Cao, Y., Luo, J.-L., Karin, M. (2007). IkkappaB kinase alpha kinase activity is required for self-renewal of ErbB2/Her2-transformed mammary tumor-initiating cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(40), 15852–7. doi:10.1073/pnas.0706728104
- Carlson, C. S., Thomas, D. J., Eberle, M. A., Swanson, J. E., Livingston, R. J., Rieder, M. J., Nickerson, D. A. (2005). Genomic regions exhibiting positive selection identified from dense genotype data. *Genome Research*, 15(11), 1553–65.
- Cavanagh, C. R., Jonas, E., Hobbs, M., Thomson, P. C., Tammen, I., Raadsma, H. W. (2010). Mapping Quantitative Trait Loci (QTL) in sheep. III. QTL for carcass composition traits derived from CT scans and aligned with a meta-assembly for sheep and cattle carcass QTL. *Genetics, Selection, Evolution : GSE*, 42, 36.
- Chessa, B., Pereira, F., Arnaud, F., Amorim, A., Goyache, F., Mainland, I., Kao RR., Pemberton JM., Beraldi D., Stear MJ., Alberti A., Pittau M., Iannuzzi L., Banabazi MH., Kazwala RR., Zhang

- YP.,Arranz JJ.,Ali BA.,Wang Z.,Uzun M.,Dione MM.,Olsaker I.,Holm LE.,Saarma U.,Ahmad S.,Marzanov N.,Eythorsdottir E.,Holland MJ.,Ajmone-Marsan P.,Bruford MW.,Kantanen J.,Spencer TE., Palmarini, M. (2009). Revealing the history of sheep domestication using retrovirus integrations. *Science (New York, N.Y.)*, 324(5926), 532–6.
- Davies, G., Stear, M. J., Benothman, M., Abuagob, O., Kerr, A., Mitchell, S., Bishop, S. C. (2006). Quantitative trait loci associated with parasitic infection in Scottish blackface sheep. *Heredity*, 96(3), 252–8.
- Day, P. M., Baker, C. C., Lowy, D. R., & Schiller, J. T. (2004). Establishment of papillomavirus infection is enhanced by promyelocytic leukemia protein (PML) expression. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(39), 14252–14257. doi:10.1073/pnas.0404229101
- Duncan, E. J., Dodds, K. G., Henry, H. M., Thompson, M. P., & Phua, S. H. (2007). Cloning, mapping and association studies of the ovine ABCG2 gene with facial eczema disease in sheep. *Animal Genetics*, 38(2), 126–31.
- Fan, B., Onteru, S. K., Du, Z.-Q., Garrick, D. J., Stalder, K. J., & Rothschild, M. F. (2011). Genome-wide association study identifies Loci for body composition and structural soundness traits in pigs. *PLoS One*, 6(2), e14726.
- Fariello, M.-I., Servin, B., Tosser-Klopp, G., Rupp, R., Moreno, C., San Cristobal, M., Boitard, S. (2014). Selection signatures in worldwide sheep populations. *PLoS One*, 9(8), e103813. doi:10.1371/journal.pone.0103813
- FAO (Food and Agriculture Organisation of the United Nations) (2007). <http://dad.fao.org/>
- Gutiérrez-Gil, B., Arranz, J. J., Pong-Wong, R., García-Gámez, E., Kijas, J., Wiener, P. (2014). Application of selection mapping to identify genomic regions associated with dairy production in sheep. *PLoS One*, 9(5), e94623. doi:10.1371/journal.pone.0094623
- Hayes, B. J., Pryce, J., Chamberlain, A. J., Bowman, P. J., Goddard, M. E. (2010). Genetic architecture of complex traits and accuracy of genomic prediction: coat colour, milk-fat percentage, and type in Holstein cattle as contrasting model traits. *PLoS Genetics*, 6(9), e1001139.
- Holsinger, K. E., Weir, B. S. (2009). Genetics in geographically structured populations: defining, estimating and interpreting F(ST). *Nature Reviews. Genetics*, 10(9), 639–50.
- Hu, Z.-L., Park, C. a, Wu, X.-L., Reecy, J. M. (2013). Animal QTLdb: an improved database tool for livestock animal QTL/association data dissemination in the post-genome era. *Nucleic Acids Research*, 41(Database issue), D871–9. doi:10.1093/nar/gks1150
- Huang, D. W., Sherman, B. T., Lempicki, R. A. (2009). Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources. *Nature Protocols*, 4(1), 44–57.
- Johnsson, M., Gustafson, I., Rubin, C.-J., Sahlqvist, A.-S., Jonsson, K. B., Kerje, S., Ekwall O., Kämpe O., Andersson L., Jensen P., Wright, D. (2012). A sexual ornament in chickens is affected by pleiotropic alleles at HAO1 and BMP2, selected during domestication. *PLoS Genetics*, 8(8), e1002914.
- Kijas, J. W., Lenstra, J. a, Hayes, B., Boitard, S., Porto Neto, L. R., San Cristobal, M., Servin B., McCulloch R., Whan V., Gietzen K., Paiva S., Barendse W., Ciani E, Raadsma H., McEwan J., Dalrymple, B., International Sheep Genomics Consortium Members (2012). Genome-wide analysis of the world's sheep breeds reveals high levels of historic mixture and strong recent selection. *PLoS Biology*, 10(2), e1001258. doi:10.1371/journal.pbio.1001258

- Lantier, I., Moreno, C. R., Berthon, P., Sallé, G., Pitel, F., Schibler, L., Gautier-Bouchardon A.V., Boivin R., Weisbecker J.L., François D., Bouix J., Cribiu E.P., Elsen J.M., Lantier, F. (2012). Quantitative trait loci for resistance to infection in sheep using a live Salmonella Abortusovis vaccine. *Animal Genetics*, 43(5), 632–5.
- Li, M.-H., Tiirikka, T., Kantanen, J. (2014). A genome-wide scan study identifies a single nucleotide substitution in ASIP associated with white versus non-white coat-colour variation in sheep (*Ovis aries*). *Heredity*, 112(2), 122–31. doi:10.1038/hdy.2013.83
- Lv, F.-H., Agha, S., Kantanen, J., Colli, L., Stucki, S., Kijas, J. W., Joost S., Li MH., Ajmone Marsan, P. (2014). Adaptations to climate-mediated selective pressures in sheep. *Molecular Biology and Evolution*, 31(12), 3324–43. doi:10.1093/molbev/msu264
- Marshall, K., Mugambi, J. M., Nagda, S., Sonstegard, T. S., Van Tassell, C. P., Baker, R. L., Gibson, J. P. (2013). Quantitative trait loci for resistance to *Haemonchus contortus* artificial challenge in Red Maasai and Dorper sheep of East Africa. *Animal Genetics*, 44(3), 285–95.
- Moioli, B., Contarini, G., Avalli, A., Catillo, G., Orrù, L., De Matteis, G., Masoero G., Napolitano, F. (2007). Short communication: Effect of stearyl-coenzyme A desaturase polymorphism on fatty acid composition of milk. *Journal of Dairy Science*, 90(7), 3553–8. doi:10.3168/jds.2006-855
- Phua, S. H., Brauning, R., Baird, H. J., Dodds, K. G. (2014). Identifying chromosomal selection-sweep regions in facial eczema selection-line animals using an ovine 50K-SNP array. *Animal Genetics*, 45(2), 240–7. doi:10.1111/age.12122
- Raadsma, H. W., Thomson, P. C., Zenger, K. R., Cavanagh, C., Lam, M. K., Jonas, E., Jones M., Attard G., Palmer D., Nicholas, F. W. (2009). Mapping quantitative trait loci (QTL) in sheep. I. A new male framework linkage map and QTL for growth rate and body weight. *Genetics, Selection, Evolution : GSE*, 41, 34.
- Riggio, V., Matika, O., Pong-Wong, R., Stear, M. J., Bishop, S. C. (2013). Genome-wide association and regional heritability mapping to identify loci underlying variation in nematode resistance and body weight in Scottish Blackface lambs. *Heredity*, 110(5), 420–9. doi:10.1038/hdy.2012.90
- Rubin, C.-J., Megens, H.-J., Martinez Barrio, A., Maqbool, K., Sayyab, S., Schwochow, D., Wang C., Carlborg Ö., Jern P., Jørgensen C.B., Archibald A.L., Fredholm M., Groenen M.A., Andersson, L. (2012). Strong signatures of selection in the domestic pig genome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(48), 19529–36. doi:10.1073/pnas.1217149109
- Saari, J., Lovell, M. A., Yu, H.-C., & Bellus, G. A. (2015). Compound heterozygosity for a frame shift mutation and a likely pathogenic sequence variant in the planar cell polarity—ciliogenesis gene WDPCP in a girl with polysyndactyly, coarctation of the aorta, and tongue hamartomas. *American Journal of Medical Genetics. Part A*, 167A(2), 421–7.
- Sanchez-Ortiz, E., Cho, W., Nazarenko, I., Mo, W., Chen, J., & Parada, L. F. (2014). NF1 regulation of RAS/ERK signaling is required for appropriate granule neuron progenitor expansion and migration in cerebellar development. *Genes & Development*, 28(21), 2407–20.
- Smith, J. M., Haigh, J. (2009). The hitch-hiking effect of a favourable gene. *Genetical Research*, 23(01), 23.
- Tajima, F. (1989). Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*, 123(3), 585–95.

- The International HapMap Consortium. (2005). A haplotype map of the human genome. *Nature*, 437(7063), 1299–320. doi:10.1038/nature04226
- Vitti, J. J., Grossman, S. R., Sabeti, P. C. (2013). Detecting natural selection in genomic data. *Annual Review of Genetics*, 47, 97–120. doi:10.1146/annurev-genet-111212-133526
- Wang, Z., Zhang, H., Yang, H., Wang, S., Rong, E., Pei, W., ... Wang, N. (2014). Genome-wide association study for wool production traits in a Chinese Merino sheep population. *PLoS One*, 9(9), e107101. Doi:10.1371/journal.pone.0107101
- Wei, C., Wang, H., Liu, G., Wu, M., Cao, J., Liu, Z., Liu R., Zhao F., Zhang L., Lu J., Liu C., Du, L. (2015). Genome-wide analysis reveals population structure and selection in Chinese indigenous sheep breeds. *BMC Genomics*, 16(1), 194. doi:10.1186/s12864-015-1384-9
- White, S. N., Mousel, M. R., Herrmann-Hoesing, L. M., Reynolds, J. O., Leymaster, K. a, Neibergs, H. L., Lewis G.S., Knowles, D. P. (2012). Genome-wide association identifies multiple genomic regions associated with susceptibility to and control of ovine lentivirus. *PLoS One*, 7(10), e47829. doi:10.1371/journal.pone.0047829
- Windelinckx, A., De Mars, G., Huygens, W., Peeters, M. W., Vincent, B., Wijmenga, C., Lambrechts D., Aerssens J., Vlietinck R., Beunen G., Thomis, M. A. I. (2011). Identification and prioritization of NUAK1 and PPP1CC as positional candidate loci for skeletal muscle strength phenotypes. *Physiological Genomics*, 43(17), 981–92.
- Yu, J. Y., Shao, S. M., Chen, K., Lei, M. G., & Xiong, Y. Z. (2014). Expression patterns and promoter activity analysis of UGP2 in pigs. *Genetics and Molecular Research : GMR*, 13(1), 1358–65. doi:10.4238/2014.February.28.8
- Zeder, M. A. (2008). Domestication and early agriculture in the Mediterranean Basin: Origins, diffusion, and impact. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(33), 11597–604. doi:10.1073/pnas.0801317105
- Zhang, L., Mousel, M. R., Wu, X., Michal, J. J., Zhou, X., Ding, B., Dodson M.V., El-Halawany N.K., Lewis G.S., Jiang, Z. (2013). Genome-Wide Genetic Diversity and Differentially Selected Regions among Suffolk, Rambouillet, Columbia, Polypay, and Targhee Sheep. *PLoS ONE*, 8(6). doi:10.1371/journal.pone.0065942