



RESEARCH PAPER

OPEN ACCESS

A comparative analysis of gene co-expression networks in the diacylglycerol acyltransferase (DGAT) gene family in cattle and humans

A. Nasr Esfahani¹, S. Ansari Mahyari^{2*}, M. Ghaderi-Zefrehei^{3**}

1. Department of Agriculture, Payame Noor University, Tehran, Iran

2. Department of Animal Science, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

3. Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Yasouj University, Yasouj, Iran

(Received: 15-01-2025 – Revised: 24-02-2025 – Accepted: 09-03-2025 – Available online: 30-03-2025)

Abstract

Introduction: The diacylglycerol acyltransferase (*DGAT*) gene family, particularly *DGAT1* and *DGAT2*, is crucial in determining milk fat content, which affects both the nutritional quality and market value of dairy products. *DGAT* enzymes catalyze the final step of triglyceride synthesis, a key process in lipid metabolism. Understanding the genetic basis of milk fat synthesis is vital for improving dairy production efficiency and improving milk's health benefits. However, gaps in cattle-specific gene expression data, especially regarding complex traits like milk fat synthesis and disease resistance, hinder genetic improvement efforts. Mastitis, a common and costly dairy cattle disease, may be genetically linked to milk fat synthesis pathways, though these interactions remain unclear. To address this, our study used a comparative genomics approach, analyzing gene expression data from both cattle and humans to explore the association between *DGAT* genes and mastitis. This research aimed to reveal genetic networks that could inform breeding strategies to boost milk quality, production efficiency, and animal health.

Materials and methods: To conduct this comparative analysis, two gene expression datasets were retrieved from the GEO/NCBI database: GSE24560 for cattle and GSE51874 for humans. These datasets were selected based on their relevance to mastitis and the availability of high-quality gene expression data. The datasets underwent rigorous preprocessing to ensure data quality and comparability. Differentially expressed genes (DEGs) were identified using the LIMMA package in the R environment, which employs linear models to assess differential expression. Clustering and principal component analysis (PCA) were performed to identify patterns and reduce dimensionality in the gene expression data, facilitating the identification of co-expressed gene modules. Co-expression networks were constructed and visualized using the WGCNA (Weighted Gene Co-expression Network Analysis) package, which is designed to identify modules of highly correlated genes and relate them to external traits. Functional enrichment analysis of the resulting networks was conducted using Enrichr, a comprehensive gene set enrichment analysis tool. This analysis helped identify biological processes and pathways associated with the DEGs, providing insights into the functional roles of the identified gene modules.

Results and discussion: In the human dataset, *DGAT1*, *DGAT2L6*, and *MOGAT1* were identified as hub genes, indicating their central role in the co-expression networks. These genes are known to be involved in lipid metabolism and triglyceride synthesis, supporting their relevance to milk fat content. In the cattle dataset, *IL1B* and *CXCL6* emerged as hub genes, highlighting their potential role in the inflammatory response associated with

* Corresponding author: s.ansari@cc.iut.ac.ir

** Corresponding author: mgahderi@yu.ac.ir



mastitis. Gene ontology (GO) analysis revealed a strong association with lipid metabolism, particularly in the synthesis and metabolic processes of acyl glycerols and triglycerides. The most significantly enriched biological processes included the biosynthetic process of acyl glycerol (GO:0046463), the biosynthetic process of monoacyl glycerol (GO:0006640), and the biosynthetic process of triglyceride (GO:0019432), all of which exhibited low *P*-values, indicating statistical significance. Despite these findings, the study did not establish a direct link between milk fat in humans and mastitis in cattle. This lack of a straightforward correlation highlights the complexity of genetic regulation across different species and biological contexts. While both datasets revealed hub genes and pathways associated with lipid metabolism and inflammation, the specific interactions and regulatory mechanisms appeared to be distinct. The number of modules created varied significantly between the cattle and human datasets. In the cattle dataset, the co-expression network analysis identified several modules that were enriched for genes involved in immune response and inflammation, reflecting the primary focus on mastitis. In contrast, the human dataset modules were more diverse, including pathways related to lipid metabolism, cell signaling, and general metabolic processes. This variability suggests that while there are shared genetic pathways, the organization and regulation of these pathways differ between species. The discussion of extracting conserved modules was inconclusive, further emphasizing the intricate nature of genetic networks. Conserved modules are groups of genes that maintain their co-expression patterns across different species or conditions, indicating fundamental biological processes. However, identifying such modules between cattle and humans proved challenging due to the differences in gene expression profiles and the specific biological contexts of milk fat synthesis and mastitis. This inconclusiveness underscores the need for more nuanced comparative analyses that account for species-specific adaptations and the multifaceted nature of genetic regulation. Moreover, the study's findings suggest that while there are shared genetic pathways involved in lipid metabolism and inflammation, the specific regulatory mechanisms governing these pathways may differ between cattle and humans. For instance, the hub genes identified in the cattle dataset, such as *IL1B* and *CXCL6*, are known for their roles in the inflammatory response, which is crucial in the context of mastitis. In contrast, the human dataset highlighted genes like *DGATI*, *DGAT2L6*, and *MOGATI*, which are more directly involved in lipid synthesis and metabolism. This difference indicates that the regulatory networks controlling milk fat synthesis and mastitis resistance in cattle may have evolved unique features that are not fully captured by human genetic data.

Conclusions: From a systems biology standpoint, the identification of hub genes provides important insights into the regulatory genetic networks underlying milk production and its association with mastitis. These findings offer a foundation for the development of targeted breeding strategies aimed at improving milk quality and reducing mastitis incidence in cattle. Notably, hub genes such as *DGATI*, *DGAT2L6*, and *MOGATI* in humans, and *IL1B* and *CXCL6* in cattle, represent promising candidates for further functional validation through experimental approaches, including gene knockout and overexpression studies. The co-expression networks and gene modules identified herein establish a framework for future investigations into the broader genetic architecture governing these complex traits, particularly concerning immune response, metabolic regulation, and cell signaling pathways. Future research integrating multi-omics data, such as genomics, transcriptomics, proteomics, and metabolomics, as well as comparative genomics analyses across mammalian species, may uncover additional regulatory mechanisms and evolutionary adaptations relevant to milk production and disease resistance in cattle.

Keywords: Gene expression, Diacylglycerol acyltransferase, Bovine genome, Hub genes, Gene network

Conflicts of interest: The authors declare no conflicts of interest.

Funding: The authors received no specific funding for this project.

How to cite this article:

Nasr Esfahani, A., Ansari-Mahiari, S., & Ghaderi-Zefrehei, M. (2025). A comparative analysis of gene co-expression networks in the diacylglycerol acyltransferase (DGAT) gene family in cattle and humans. *Animal Production Research*, 14(1), 19-37. doi: 10.22124/ar.2025.29572.1879



تجزیه و تحلیل مقایسه‌ای شبکه‌های هم‌بیان ژنی خانواده دی آسیل گلیسرول آسیل ترانسفراز (DGAT) در گاو و انسان

عفت نصر اصفهانی^۱، سعید انصاری‌مهیار^{۲*}، مصطفی قادری‌زفره‌ئی^۳

۱- گروه کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

۲- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

۳- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۰/۲۶ - تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۱۲/۰۶ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۲/۱۹ - تاریخ انتشار برخط: ۱۴۰۴/۰۱/۱۰)

چکیده

شناسایی ژن‌های هاب مرتبط با خانواده ژن‌های دی آسیل گلیسرول آسیل ترانسفراز (DGAT) در گاوهای شیری برای درک زیست‌سامانه تولید شیر حیاتی است، زیرا این ژن‌ها مستقیماً بر میزان چربی شیر و کیفیت اسیدهای چرب تأثیر می‌گذارند. این پژوهش با هدف شناسایی ژن‌ها و ماژول‌های ژنی مرتبط با خانواده DGAT و ورم پستان در گاو انجام شد. به‌عبارتی دیگر، پژوهش حاضر با هدف شناسایی ژن‌های هاب مرتبط با خانواده DGAT در انسان و بررسی پتانسیل آن‌ها به‌عنوان ژن‌های مرتبط با ورم پستان در گاو انجام شد. هدف اصلی، شناسایی ژن‌های کلیدی در سوخت و ساز چربی بود که ممکن است در شبکه‌های ژنی مرتبط با ورم پستان نیز نقش داشته باشند. در این راستا، به‌دلیل محدودیت داده‌های بیان ژنی مرتبط با DGAT در گاو، از داده‌های بیان ژنی گونه انسان (GSE51874) و گاو (GSE24560) استفاده شد. پس از پیش‌پردازش داده‌ها، ژن‌های متفاوت بیان شده (DEGs) استخراج و با استفاده از روش‌های خوشه‌بندی، تحلیل مؤلفه‌های اصلی (PCA) و شبکه‌سازی هم‌بیانی (WGCNA) تحلیل شدند. غنی‌سازی زیستی با ابزار Enrichr انجام شد. در داده‌های انسان، ژن‌های *DGAT1*، *DGAT2L6* و *MOGAT1* به‌عنوان ژن‌های هاب شناسایی شدند، در حالی که در داده‌های گاو، *IL1B* و *CXCL6* به‌عنوان ژن‌های هاب برجسته شدند. تجزیه و تحلیل هستی‌شناسی ژن‌ها نشان‌دهنده ارتباط قوی با سوخت و ساز لیپید، به‌ویژه در ساخت و سوخت و ساز آسیل گلیسرول‌ها و تری‌گلیسیریدها بود. فرآیندهای زیستی غنی شده شامل بیوسنتز آسیل گلیسرول (GO:0046463)، مونوآسیل گلیسرول (GO:0006640) و تری‌گلیسیرید (GO:0019432) بودند. با این حال، هیچ شواهد قاطعی مبنی بر اینکه ژن‌های DGAT انسانی مستقیماً در ایجاد یا پیشرفت ورم پستان در گاو نقش دارند، یافت نشد. نتایج این پژوهش می‌تواند به شناسایی ژن‌های کاندید جدید برای بررسی بیشتر در زمینه ورم پستان در گاو کمک کند. این پژوهش، بینش‌هایی در مورد شبکه‌های ژنتیکی تنظیم‌کننده تولید شیر و ورم پستان ارائه می‌دهد و می‌تواند به توسعه راهبردهای پرورشی هدفمند کمک کند.

واژه‌های کلیدی: بیان ژن، دی آسیل گلیسرول آسیل ترانسفراز، ژنوم گاو، ژن‌های هاب، شبکه ژنی

* نویسنده مسئول: s.ansari@cc.iut.ac.ir، نویسنده مسئول: mgahderi@yu.ac.ir

مقدمه

خانواده ژنی *GAT*، به‌ویژه ژن *DGATI*، به‌عنوان یک نامزد مهم در تأثیرگذاری بر محتوای چربی شیر گاو شناخته شده است. ژن *DGATI*، آنزیم دی‌آسیل گلیسرول O-آسیل ترانسفراز را کد می‌کند که برای تولید تری‌گلیسرید در غده پستانی، حیاتی است. تغییرات توالی DNA در این ژن، مانند چندشکلی *K232A*، با تغییرات در محتوای چربی شیر مرتبط بوده است (Winter et al., 2002; Kharrati et al., 2020; Li et al., 2020; Koopaei et al., 2012). علاوه بر این، ژن‌های دیگری مانند *FASN* با محتوای چربی شیر مرتبط هستند (Bouwman et al., 2014; Roy et al., 2006). پژوهش‌های همبستگی ژنومی گسترده نیز ژن‌های کاندیدای متعدد مرتبط با پروفیل یا نیم‌رخ اسید چرب در شیر را شناسایی کرده‌اند که بر معماری ژنتیکی پیچیده صفات چربی شیر تأکید دارند (Palombo et al., 2018; Cruz et al., 2019). ژن‌های دیگر مرتبط با ترکیب اسیدهای چرب شیر، از جمله *SCD*، *FASN* و *MGST1*، شناسایی شده‌اند که در سوخت و ساز لیپیدها نیز نقش دارند (Palombo et al., 2018; Cruz et al., 2019). تعامل این ژن‌ها در خانواده *GAT* و چندشکلی‌های آن‌ها، پتانسیل اصلاح نژادی انتخابی برای افزایش کیفیت شیر در گاوهای شیری را برجسته می‌کند (Marchitelli et al., 2013). شناسایی و انتخاب آلل‌های خاص مرتبط با محتوای بالاتر چربی شیر، مانند واریانت *K232A* در *DGATI*، می‌تواند کیفیت کلی شیر را بهبود بخشد (Thaller et al., 2003; Sun et al., 2009). استفاده از نشانگرهای مولکولی منجر به بهبود صفات محتوای چربی و پروتئین در شیر می‌شود (Liu et al., 2020; Mou et al., 2024).

از نظر اقتصادی، بهینه‌سازی ترکیب شیر از راه انتخاب ژنتیکی می‌تواند به‌طور بالقوه سودآوری برای دامداران را افزایش دهد، زیرا محتوای بالاتر چربی و پروتئین در شیر می‌تواند قیمت‌های بهتری در بازار داشته باشد (Koopaei et al., 2019; Kharrati et al., 2012). علاوه بر این، تغییرات ژنتیکی می‌تواند بر نیم‌رخ اسید چرب شیر تأثیر بگذارد (Ghavi Hossein-Zadeh, 2021)، که برای سلامت مصرف‌کننده و پذیرش محصول مهم است و دامداران را در تولید شیر با ترکیبات چربی سالم‌تر راهنمایی می‌کند (Carvajal et al., 2016). به‌طور کلی، بهره‌برداری از این

بینش‌های ژنتیکی می‌تواند منجر به شیوه‌های پرورش گاو شیری کارآمدتر و سودآورتر شود. به‌عنوان مثال، واریانت *K232A* برای انتخاب حیوانات با احتمال تولید شیر با محتوای چربی بالاتر مورد استفاده قرار گرفته است (Thaller et al., 2003; Liu et al., 2020). انتخاب ژنومی رویکرد دیگری برای شناسایی چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی (SNPs) مرتبط با صفات شیر است. این SNPs می‌توانند در برنامه‌های اصلاح نژادی برای انتخاب حیوانات با پتانسیل ژنتیکی بالاتر استفاده شوند (Li et al., 2014; Ghavi Hossein-Zadeh, 2024; Mou et al., 2024). علاوه بر این، ارزیابی‌های ژنتیکی منظم با استفاده از برآورد ارزش ارثی و راهبردهای دورگه‌گیری نیز برای ترکیب ژن‌های مطلوب از نژادهای مختلف برای بهبود صفات تولید شیر استفاده شده است (Szyda and Komisarek, 2007; Čítek et al., 2020). اجرای راهبردهای اصلاح نژادی مبتنی بر یافته‌های ژنتیکی در پرورش گاو شیری با چالش‌های متعددی مواجه است. یکی از موانع مهم، پیچیدگی ژنتیکی صفات تولید شیر، مانند محتوای چربی و پروتئین است که چندژنی بوده و تحت تأثیر چندین ژن قرار دارند. این پیچیدگی، پیش‌بینی نتایج را تنها بر اساس واریانت‌های ژنی منفرد مانند *DGATI* و *FASN* دشوار می‌کند (Bouwman et al., 2014; Mou et al., 2024). علاوه بر این، هزینه فناوری‌های ژنومی، از جمله انتخاب ژنومی پیشرفته و انتخاب با کمک نشانگر، معمولاً بالا است و این امر، پذیرش گسترده این راهبردها را با محدودیت جدی مواجه می‌کند (Čítek et al., 2020; Liu et al., 2020). اصلاح نژاد برای محتوای چربی بالاتر ممکن است همیشه با تقاضای بازار همسو نباشد و منجر به خطرات اقتصادی احتمالی شود (Kharrati Koopaei et al., 2012; Carvajal et al., 2016). علاوه بر این، نگرانی‌های اخلاقی و نظارتی مربوط به دستکاری و انتخاب ژنتیکی می‌تواند مانع از پذیرش برخی از روش‌های اصلاح نژادی شود (Thaller et al., 2003).

در این راستا، تحلیل همزمان داده‌های بیان ژنی (البته نه فقط برای یک بافت و صفت) در گونه‌های مختلف، می‌تواند اجرای برنامه اصلاح نژادی را اندکی بهبود بخشد، چرا که توجه به سطح ترانسکریپتوم می‌تواند نقش عملکردی زیستی ژنوم مورد بحث را بهتر بازتاب دهد. در این راستا، ماژول‌های ژنی ترانسکریپتومی و استخراج ژن‌های هاب

گرفته شد از داده‌های بیان ژنی گونه انسان، که فایل حاشیه‌نویسی بهتری دارد و ارتباط بیشتری با خانواده ژنی *GAT* دارد، استفاده شود. سپس، تلاش شد که آزمایش بیان ژنی در گونه گاو، جستجو و استخراج شود که از نظر طرح آزمایش و نگاه کاربردی به آزمایش گونه انسانی نزدیک باشد. در این رستا، با استفاده از بسته GEOquery متکی به R، دو آزمایش بیانی ژنی با شماره دسترسی GSE24560 مربوط به گونه گاو و آزمایش با شماره دسترسی GSE51874 مربوط به گونه انسان از پایگاه GEO پیاده‌سازی شدند. آزمایش بیان ژنی گونه گاو شامل ۸۸ نمونه بود که با استفاده از پلتفرم GPL2112 بررسی شده بودند. آزمایش گونه انسان دارای ۲۸ نمونه بود که از پلتفرم GPL6104 استفاده شده بود. فایل‌های حاشیه‌نویسی هر دو داده از GEO پیاده‌سازی شدند و برای نگاشت ID کاوشگرها به اسامی ژنی استفاده شدند. سپس، داده‌ها با استفاده از توابع موجود در محیط برنامه‌نویسی R پردازش شدند (فایل ضمیمه ۱). مقادیر گمشده از ماتریس بیان ژنی هر یک از آزمایش‌ها حذف شدند. سپس، داده‌ها به مقیاس $\log_2$ تبدیل شدند تا نرمال‌سازی و توزیع داده‌ها بهینه شود. ژن‌هایی که واریانس بیان آن‌ها صفر بود، به‌عنوان داده‌های غیرفعال حذف شدند زیرا این ژن‌ها، اطلاعات مفیدی برای تحلیل فراهم نمی‌کنند. برای شناسایی ژن‌های متفاوت بیان شده DEGs، از بسته LIMMA در R استفاده شد. یک مدل خطی متناظر با طرح آزمایش در گونه‌های گاو و انسان، طراحی شد تا تفاوت‌های بیان ژن‌ها بین گروه‌های شاهد و تیمار به‌دست آید. برای شناسایی متفاوت بیان شده، از $\text{adjusted } p\text{-value}$ کمتر از ۰/۰۵ به‌عنوان آستانه استفاده شد. پیش از ایجاد شبکه ژنی، از روش PCA (که به‌طور پیش‌فرض در هسته اصلی R قرار دارد) برای کاهش ابعاد و مصورسازی توزیع نمونه‌ها استفاده شد و نمودار Scree Plot (در مقاله نشان داده نشد ولی محاسبه شد) برای نمایش واریانس توجیه شده به‌وسیله مؤلفه‌ها تهیه شد. برای استخراج شبکه ژنی هم‌بیانی، همبستگی بین ژن‌ها با استفاده از ضریب پیرسون محاسبه شد. ماتریس همبستگی تولید شد که شامل تمام ژن‌ها بود. سپس، یک آستانه برابر با ۰/۳ اعمال شد تا ژن‌هایی با همبستگی پایین حذف شوند و ماتریس اتصال ایجاد شود. با استفاده از بسته‌های igraph و ggraph در محیط R، گراف شبکه همبستگی ساخته شد. در این شبکه، گره‌ها نمایانگر ژن‌ها

دارای نقش کلیدی هستند. ماژول‌های ژنی ترانسکریپتومی به گروهی از ژن‌ها اشاره دارند که به‌طور همزمان و در پاسخ به شرایط خاص زیستی یا محیطی فعال می‌شوند و این امر می‌تواند به شناسایی صفات مطلوبی مانند تولید شیر و مقاومت به بیماری‌ها کمک کند. از سوی دیگر، ژن‌های هاب به‌عنوان ژن‌هایی با نقش مرکزی در شبکه‌های زیستی شناخته می‌شوند و شناسایی آن‌ها می‌تواند اطلاعات ارزشمندی برای اصلاح نژاد فراهم کند. ژن‌های هاب ترانسکریپتومی، ژن‌هایی هستند که در شبکه‌های هم‌بیانی ژنی دارای اتصالات بسیار زیادی هستند و نقش‌های کلیدی در تنظیم بیان ژنی و عملکردهای زیستی دارند. استخراج ژن‌های هاب ترانسکریپتومی خانواده ژنی *DGAT* و ارتباط آن با اصلاح نژاد گاو شیری، یک موضوع پیچیده و جذاب است. خانواده ژنی *DGAT*، که شامل ژن‌هایی مانند *DGAT1* و *DGAT2* می‌شود، در ساخت تری‌گلیسریدها و تنظیم تولید چربی در شیر گاو نقش مهمی دارند. ژن‌های *DGAT* به‌دلیل نقش کلیدی در تنظیم تولید چربی، هدف مهمی برای اصلاح نژاد هستند. هدف از پژوهش حاضر، استخراج ژن‌های هاب و ماژول‌های ژنی خانواده *GAT* ژنوم گونه انسان و امکان‌سنجی نقش آنان به‌عنوان ژن‌های هاب در بررسی ورم پستان در گونه گاو بود. تا به حال، هیچ مدرک قاطع و علمی مبنی بر ارتباط مستقیم بین چربی شیر در گاو و ورم پستان وجود ندارد. با این حال، مطالعات قبلی نشان داده‌اند که ورم پستان در گاوهای شیری با تغییرات گسترده ترانسکریپتومی همراه است. در مطالعاتی با استفاده از داده‌های میکروآرای و ژنوم انسان، شبکه‌ای از بیومارکرهای مرتبط با ورم پستان ناشی از *استافیلوکوکوس اورئوس* شناسایی شدند (Ghaderi-Zefrehei et al., 2017). با این حال، چربی شیر در گاو ممکن است ترکیبات مختلفی از اسیدهای چرب شامل اسیدهای چرب اشباع شده و غیراشباع داشته باشد. برخی از اسیدهای چرب، مانند اسیدهای چرب امگا-۳، از نظر تأثیرات ضدالتهابی (ورم پستانی) و ضدسرطانی مورد توجه هستند.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش، آزمایش بیان ژنی که اختصاصاً در ارتباط با خانواده ژنی *GAT* گونه گاو بود، در پایگاه GEO پیدا نشد (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>) و لذا تصمیم

بودند و یال‌ها نمایانگر روابط همبستگی بین ژن‌ها با مقادیر بیش از آستانه بودند. از الگوریتم *k-means* برای خوشه‌بندی ژن‌ها و تعیین الگوهای بیان مشابه استفاده شد و تعداد خوشه‌ها با استفاده از روش *elbow* تعیین شد.

نتایج و بحث

شبکه ژنی، تعاملات ژنتیکی را روشن می‌کند و نحوه ارتباط *DGAT1* و سایر ژن‌ها مانند *MGST1*، *SCD*، *FASN* را در تنظیم ساخت چربی شیر مشخص می‌کند. با آشکار کردن ژن‌های تنظیمی کلیدی و فاکتورهای رونویسی، داده‌های ترانسکریپتومی می‌توانند ژن‌ها و مسیرهای جدیدی را کشف کنند و دانش محققین را در مورد پایه ژنتیکی صفات چربی شیر گسترش دهند. شکل‌های ۱ تا ۸، تفاوت بیان ژن‌ها را در آزمایش گونه انسانی (GSE51874) نشان می‌دهند. ژن‌های مهم و شناخته شده در این خانواده ژنی، تفاوت بارز و معنی‌داری بین دو گروه تیمار و شاهد را نشان داده‌اند. به‌طور کلی، DEGs در یک آزمایش می‌توانند در درک ساز و کار بیماری، هدف قرار دادن داروها و پژوهش‌های بنیادی روی موضوع مورد نظر، حایز اهمیت باشند. لازم است خاطر نشان شود که در بیشتر مواقع، DEGs به‌عنوان ژن‌های هاب در شبکه‌های ژنی مشخص نمی‌شوند، زیرا این دو مفهوم از نظر زیستی و تحلیلی متفاوت هستند. DEGs در شرایط مختلف، سطح بیان خود را تغییر می‌دهند، در حالی که ژن‌های هاب در شبکه‌های ژنی دارای تعداد زیادی ارتباط با ژن‌های دیگر هستند و ممکن است نقش کلیدی در تنظیم و کنترل شبکه‌های ژنی داشته باشند (Barabási and Oltvai, 2004). ژن‌های هاب معمولاً در تنظیم و کنترل شبکه‌های ژنی نقش دارند و ممکن است سطح بیان خود را در شرایط مختلف تغییر ندهند، در حالی که DEGs ممکن است در پاسخ به تحریک‌های خاص، سطح بیان خود را تغییر دهند (Han et al., 2004). تحلیل DEGs معمولاً بر اساس تغییرات در سطح بیان ژن‌ها در شرایط مختلف انجام می‌شود، در حالی که تحلیل شبکه‌های ژنی بر اساس ارتباطات بین ژن‌ها انجام می‌شود (Langfelder and Horvath, 2008). شبکه‌های ژنی ممکن است در شرایط مختلف تغییر کنند و ژن‌هایی که در یک شرایط خاص به‌عنوان هاب شناخته می‌شوند، ممکن است در شرایط دیگر چنین نقشی نداشته باشند (Ideker and Krogan, 2012).

تحلیل مؤلفه‌های اصلی (PCA) اعمال شده بر داده‌های بیان ژن برای گونه انسان در شکل ۹ نشان داده شده است. این شکل، پراکندگی توزیع نمونه‌ها را بر اساس دو مؤلفه اصلی اول نشان می‌دهد که بیشترین واریانس در مجموعه داده را در بر می‌گیرند. هر نقطه نشان‌دهنده یک نمونه فردی است که بر اساس تخصیص خوشه تعیین شده به‌وسیله خوشه‌بندی *K-means*، با رنگ کدگذاری شده است. جداسازی متمایز خوشه‌ها در امتداد محورهای مؤلفه اصلی نشان می‌دهد که پروفایل‌های بیان ژن نمونه‌ها در هر خوشه بیشتر شبیه به یکدیگر هستند تا نمونه‌های موجود در خوشه دیگر. این تجسم نه تنها اثربخشی PCA را در کاهش ابعاد داده‌های پیچیده بیان ژن برجسته می‌کند، بلکه کاربردی بودن خوشه‌بندی *K-means* را در شناسایی گروه‌های معنی‌دار در داده‌ها نشان می‌دهد که می‌تواند در کشف الگوهای زیستی زیربنایی و تسهیل تجزیه و تحلیل‌های بیشتر ژنتیکی و فنوتیپی موثر باشد. ارتباط بین این ژن‌ها نشان‌دهنده تنظیم مشترک بالقوه و روابط عملکردی است و بینش‌هایی را در مورد ساز و کارهای مولکولی زیربنایی الگوهای بیان ژن مشاهده شده ارائه می‌دهد. این تجزیه و تحلیل شبکه نه تنها ژن‌های تنظیمی کلیدی را شناسایی می‌کند، بلکه چارچوبی را برای پژوهش‌های بیشتر در مورد نقش‌ها و برهم‌کنش آن‌ها در زمینه زیستی گسترده‌تر ارائه می‌دهد. جداول ۱ و ۲ به ترتیب اطلاعات مربوط به ژن‌های مختلف و خوشه‌بندی آنها و همچنین، مشخصات تکمیلی مانند درجه و نوع هاب یا غیر هاب را مشخص می‌کند. این نتایج مبنایی برای تحلیل‌های بیشتر در مورد ساختار و ویژگی‌های ژن‌ها قرار می‌گیرد. جدول ۱ نشان می‌دهد که آیا هر ژن در خوشه مربوطه خود معنی‌دار است یا خیر (بله/خیر). ژن‌ها به سه خوشه مجزا طبقه‌بندی می‌شوند: خوشه ۱: شامل *DGAT1*، *MOGAT3* و *MOGAT2* است که در آن، *DGAT1* و *MOGAT2* به‌عنوان معنی‌دار مشخص شده‌اند. خوشه ۲: شامل *DGAT2L3* و *MOGAT1* است که در آن، *MOGAT1* به‌عنوان معنی‌دار شناسایی شده است. خوشه ۳: شامل *DGAT2L6*، *DGAT2L4* و *DGAT2* است که در آن، *DGAT2L6* به‌عنوان معنی‌دار ذکر شده است.

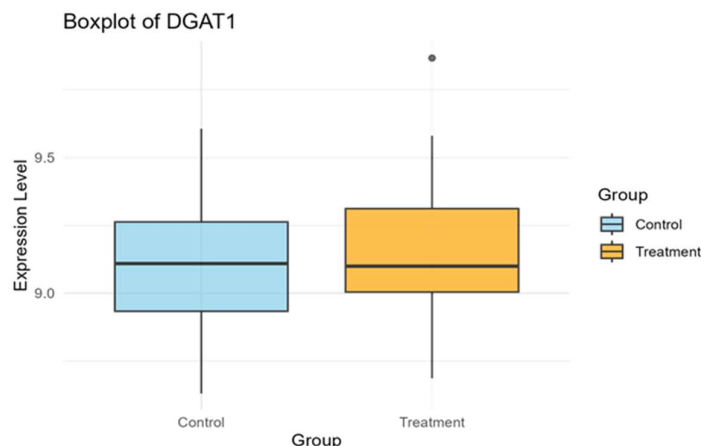


Fig. 1. Box plot showing the expression levels of the *DGAT1* gene in two groups: control (blue) and treatment (yellow). The y-axis represents gene expression, with a slightly higher median expression in the treatment group compared to the control group. The interquartile range (IQR) and whiskers indicate greater variability and spread in *DGAT1* expression within the treatment group. Notably, an outlier in the treatment group shows exceptionally high gene expression in one sample. Overall, the data suggest that the treatment may increase *DGAT1* gene expression and enhance its variability (using data from GSE51874).

شکل ۱- نمودار جعبه‌ای، سطوح بیان ژن *DGAT1* را در دو گروه نشان می‌دهد: شاهد (آبی) و تیمار (زرد). محور y بیان ژن را نشان می‌دهد، با میانه بیان اندکی بالاتر در گروه تیمار نسبت به گروه شاهد. دامنه بین چارکی (IQR) و سبیلکها گستردگی بیشتر و تغییرات بیشتر در بیان *DGAT1* را در گروه تیمار نشان می‌دهند. به‌طور قابل توجهی، یک نمونه پرت در گروه تیمار وجود دارد که بیان ژن بسیار بالایی را در یک نمونه نشان می‌دهد. در کل، داده‌ها نشان می‌دهند که تیمار ممکن است بیان ژن *DGAT1* را افزایش داده و تغییرات آن را بیشتر کند (با استفاده از داده‌های GSE51874).

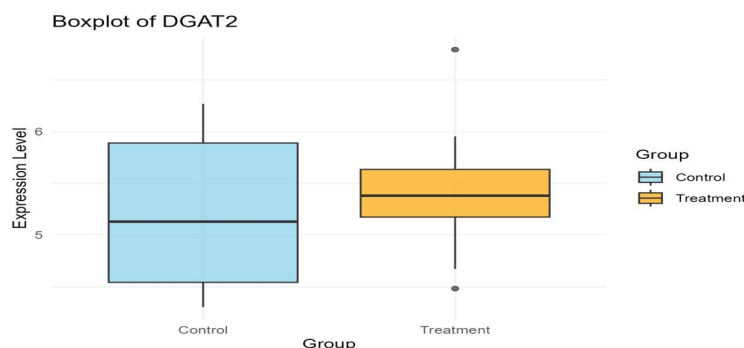


Fig. 2. Box plot showing the expression levels of the *DGAT2* gene in two groups: control (blue) and treatment (yellow). The y-axis represents gene expression, with a significantly higher median expression in the treatment group compared to the control group. The interquartile range (IQR) in the treatment group is narrower, indicating less variability in *DGAT2* expression within this group. Additionally, the treatment group contains outliers, suggesting that some samples exhibit exceptionally high expression levels. Overall, the data indicate that the treatment significantly increases *DGAT2* gene expression while reducing its variability (using data from GSE51874).

شکل ۲- نمودار جعبه‌ای، سطوح بیان ژن *DGAT2* را در دو گروه نشان می‌دهد: شاهد (آبی) و تیمار (زرد). محور y بیان ژن را نشان می‌دهد، با میانه بیان ژن به‌طور قابل توجهی بالاتر در گروه تیمار نسبت به گروه شاهد. دامنه بین چارکی (IQR) در گروه تیمار باریک‌تر است، که نشان‌دهنده تغییرات کمتر در بیان *DGAT2* در این گروه است. علاوه بر این، گروه تیمار دارای نمونه‌های پرت است، که نشان می‌دهد برخی از نمونه‌ها دارای سطوح بیان بسیار بالایی هستند. در کل، داده‌ها نشان می‌دهند که تیمار به‌طور قابل توجهی بیان ژن *DGAT2* را افزایش می‌دهد و در عین حال، تغییرات آن را کاهش می‌دهد (با استفاده از داده‌های GSE51874).

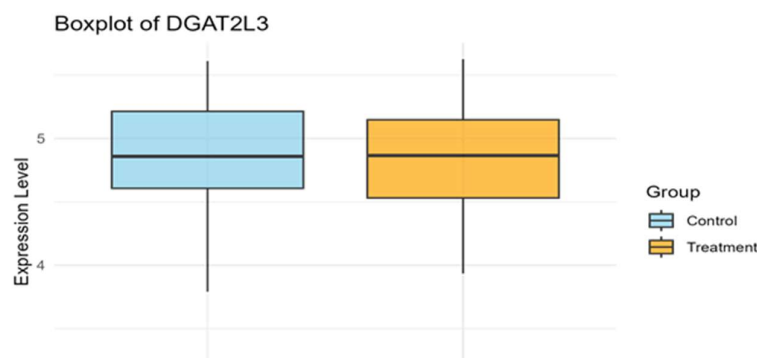


Fig. 3. Box plot showing the expression levels of the *DGAT2L3* gene in two groups: control (blue) and treatment (yellow). The y-axis represents gene expression, with a slightly higher median expression in the treatment group compared to the control group. The interquartile range (IQR) is similar between the two groups, indicating comparable variability in *DGAT2L3* expression. Notably, the treatment group contains an outlier with a lower expression level. Overall, the data suggest that the treatment may slightly increase *DGAT2L3* gene expression, with generally consistent variability between the groups (using data from GSE51874).

شکل ۳- نمودار جعبه‌ای، سطوح بیان ژن *DGAT2L3* را در دو گروه نشان می‌دهد: کنترل (آبی) و تیمار (زرد). محور y بیان ژن را نشان می‌دهد، با میانه بیان ژن اندکی بالاتر در گروه تیمار نسبت به گروه شاهد. دامنه بین چارکی (IQR) بین دو گروه مشابه است، که نشان‌دهنده تغییرات قابل مقایسه در بیان *DGAT2L3* است. به‌طور قابل توجهی، گروه تیمار دارای یک نمونه پرت با سطح بیان پایین‌تر است. در کل، داده‌ها نشان می‌دهند که تیمار ممکن است بیان ژن *DGAT2L3* را اندکی افزایش دهد، با تغییرات عموماً ثابت بین گروه‌ها (با استفاده از داده‌های GSE51874).

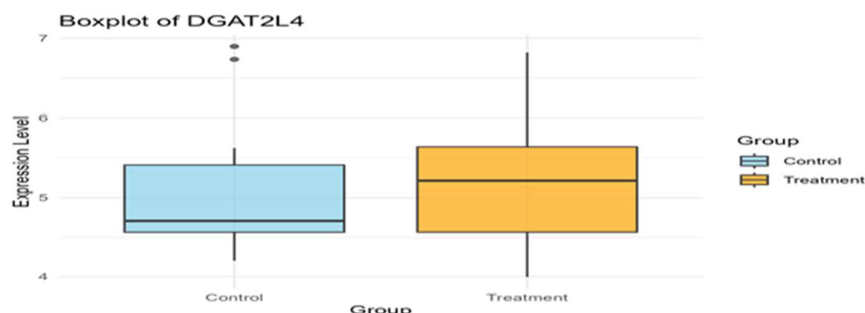


Fig. 4. Box plot showing the expression levels of the *DGAT2L4* gene in two groups: control (blue) and treatment (yellow). The y-axis represents gene expression, with a higher median expression in the treatment group compared to the control group. The interquartile range (IQR) is wider in the control group, indicating greater variability in *DGAT2L4* expression within this group. Notably, the control group contains outliers with exceptionally high expression levels. Overall, the data suggest that the treatment increases *DGAT2L4* gene expression while reducing its variability (using data from GSE51874).

شکل ۴- نمودار جعبه‌ای، سطوح بیان ژن *DGAT2L4* را در دو گروه نشان می‌دهد: شاهد (آبی) و تیمار (زرد). محور y بیان ژن را نشان می‌دهد، با میانه بیان ژن بالاتر در گروه تیمار نسبت به گروه شاهد. دامنه بین چارکی (IQR) در گروه شاهد، گسترده‌تر است که نشان‌دهنده تغییرات بیشتر در بیان *DGAT2L4* در این گروه است. به‌طور قابل توجهی، گروه شاهد دارای نمونه‌های پرت با سطوح بیان بسیار بالایی است. در کل، داده‌ها نشان می‌دهند که تیمار، بیان ژن *DGAT2L4* را افزایش می‌دهد و در عین حال، تغییرات آن را کاهش می‌دهد (با استفاده از داده‌های GSE51874).

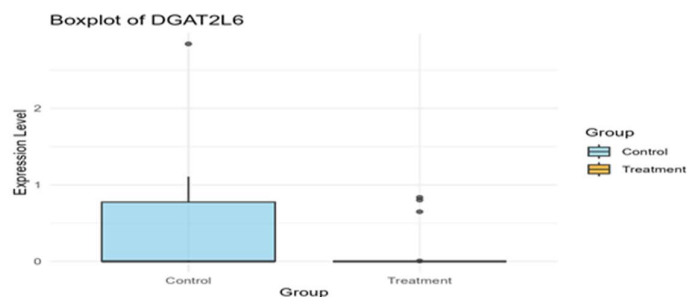


Fig. 5. Box plot showing a significant reduction in the expression levels of the *DGAT2L6* gene in the treatment group compared to the control group. The y-axis represents gene expression. The median expression in the control group is approximately 0.5, with an interquartile range (IQR) from 0 to 1 and notable outliers, including one sample exceeding 2. In contrast, the treatment group shows a median expression close to 0, with a much narrower IQR and fewer, less extreme outliers. This indicates that the treatment significantly reduces *DGAT2L6* gene expression and decreases variability among samples, highlighting the substantial impact of the treatment on gene expression regulation (using data from GSE51874).

شکل ۵- نمودار جعبه‌ای، کاهش قابل توجهی در سطوح بیان ژن *DGAT2L6* در گروه تیمار نسبت به گروه شاهد را نشان می‌دهد. محور y بیان ژن را نشان می‌دهد. میانه بیان ژن در گروه شاهد تقریباً برابر با ۰/۵ است، با دامنه بین چارکی (IQR) از ۰ تا ۱ و نمونه‌های پرت قابل توجه، از جمله یک نمونه فراتر از ۰/۲. در مقابل، گروه تیمار میانه بیان ژن نزدیک به ۰ را نشان می‌دهد، با IQR بسیار باریک‌تر و تعداد کمتر و کمتر شدید نمونه‌های پرت. این نشان می‌دهد که تیمار به‌طور قابل توجهی بیان *DGAT2L6* را کاهش می‌دهد و تغییرات بین نمونه‌ها را کاهش می‌دهد، که نشان‌دهنده تأثیر قابل توجه تیمار بر تنظیم بیان ژن است (با استفاده از داده‌های GSE51874).

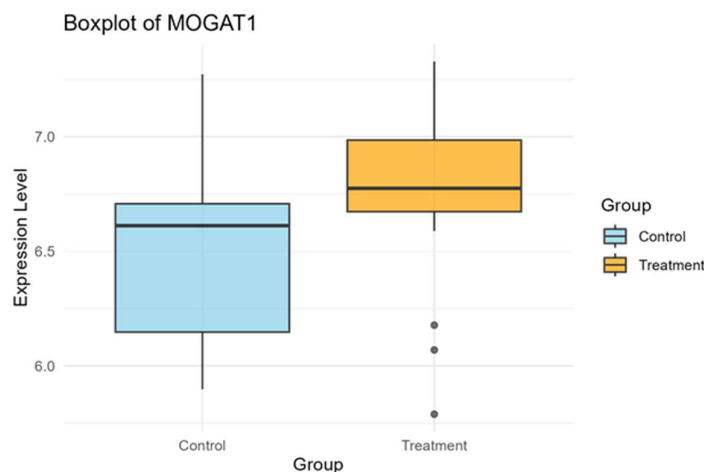


Fig. 6. Box plot showing the expression levels of the *MOGAT1* gene in two groups: control and treatment. The y-axis represents gene expression. The control group shows a median expression slightly above 6.5, with an interquartile range (IQR) of approximately 6.2 to 6.7 and whiskers extending up to around 7.0. In contrast, the treatment group exhibits a higher median expression close to 7.0, with a narrower IQR ranging from approximately 6.8 to 7.2 and whiskers of similar spread. Both groups display outliers below the lower whiskers. These findings suggest that the treatment increases the median expression of *MOGAT1* and reduces variability among samples, indicating a significant upregulating effect of the treatment on *MOGAT1* expression (using data from GSE51874).

شکل ۶- نمودار جعبه‌ای، سطوح بیان ژن *MOGAT1* را در دو گروه نشان می‌دهد: شاهد و تیمار. محور y بیان ژن را نشان می‌دهد. گروه شاهد، میانه بیان ژن اندکی بالاتر از ۶/۵ را نشان می‌دهد، با دامنه بین چارکی (IQR) از حدود ۶/۲ تا ۶/۷ و سیلیک‌هایی که تا حدود ۷ امتداد می‌یابند. در مقابل، گروه تیمار، میانه بیان ژن بالاتری نزدیک به ۷ را نشان می‌دهد، با IQR باریک‌تر از حدود ۶/۸ تا ۷/۲ و سیلیک‌هایی با گستردگی مشابه. هر دو گروه، نمونه‌های پرت زیر سیلیک‌های پایینی را نشان می‌دهند. این نشان می‌دهد که تیمار، میانه بیان ژن *MOGAT1* را افزایش می‌دهد و تغییرات بین نمونه‌ها را کاهش می‌دهد که نشان‌دهنده اثر قابل توجه افزایش بیان *MOGAT1* به‌وسیله تیمار است (با استفاده از داده‌های GSE51874).

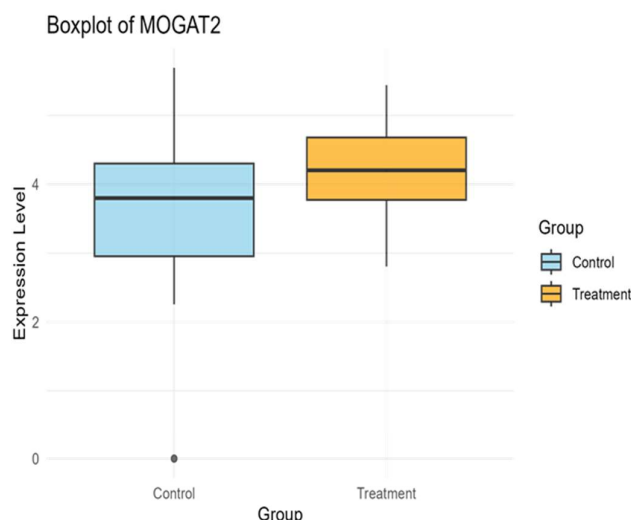


Fig. 7. Box plot showing the expression levels of the *MOGAT2* gene in two groups: control and treatment. The y-axis represents gene expression. The control group shows a median expression slightly below 4, with an interquartile range (IQR) of approximately 3 to 4.5 and whiskers extending up to around 5. Notably, there is an outlier near 0. In contrast, the treatment group exhibits a higher median expression close to 4.5, with a narrower IQR ranging from approximately 4 to 5 and whiskers of similar spread. These findings suggest that the treatment increases the median expression of *MOGAT2* and reduces variability among samples, indicating an upregulating effect of the treatment on *MOGAT2* expression (using data from GSE51874).

شکل ۷- نمودار جعبه‌ای، سطوح بیان ژن *MOGAT2* را در دو گروه شاهد و تیمار نشان می‌دهد. محور y بیان ژن را نشان می‌دهد. گروه شاهد، میانه بیان ژن اندکی پایین‌تر از ۴ را نشان می‌دهد، با دامنه بین چارکی (IQR) از حدود ۳ تا ۴/۵ و سبیلک‌هایی که تا حدود ۵ امتداد می‌یابند به‌طور قابل توجهی، یک نمونه پرت نزدیک به ۰ وجود دارد. در مقابل، گروه تیمار، میانه بیان ژن بالاتری نزدیک به ۴/۵ را نشان می‌دهد، با IQR باریک‌تر از حدود ۴ تا ۵ و سبیلک‌هایی با گستردگی مشابه. این نشان می‌دهد که تیمار، میانه بیان ژن *MOGAT2* را افزایش می‌دهد و تغییرات بین نمونه‌ها را کاهش می‌دهد، که نشان‌دهنده اثر افزایش بیان *MOGAT2* به‌وسیله تیمار است (با استفاده از داده‌های GSE51874).

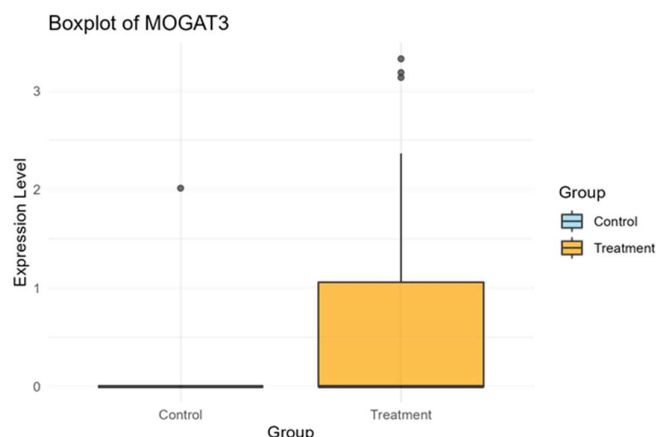


Fig. 8. Box plot showing the expression levels of the *MOGAT3* gene in two groups: control and treatment. The y-axis represents gene expression. The control group shows a median expression close to 0, with minimal variability and one outlier around 2. In contrast, the treatment group exhibits a higher median expression near 1, with an interquartile range (IQR) of approximately 0.5 to 1.5 and whiskers extending up to around 3, along with several outliers. These findings suggest that the treatment significantly increases the median expression of *MOGAT3* and enhances variability among samples, indicating a notable upregulating effect of the treatment on *MOGAT3* expression (using data from GSE51874).

شکل ۸- نمودار جعبه‌ای، سطوح بیان ژن *MOGAT3* را در دو گروه شاهد و تیمار نشان می‌دهد. محور y بیان ژن را نشان می‌دهد. گروه شاهد، میانه بیان ژن نزدیک به ۰ را نشان می‌دهد، با تغییرات بسیار کم و یک نمونه پرت در حدود ۲. در مقابل، گروه تیمار، میانه بیان ژن بالاتری نزدیک به ۱ را نشان می‌دهد، با دامنه بین چارکی (IQR) از حدود ۰/۵ تا ۱/۵ و سبیلک‌هایی که تا حدود ۳ امتداد می‌یابند، همراه با چندین نمونه پرت. این نشان می‌دهد که تیمار به‌طور قابل توجهی میانه بیان ژن *MOGAT3* را افزایش می‌دهد و تغییرات بین نمونه‌ها را افزایش می‌دهد، که نشان‌دهنده اثر افزایش بیان قابل توجه *MOGAT3* به‌وسیله تیمار است (با استفاده از داده‌های GSE51874).

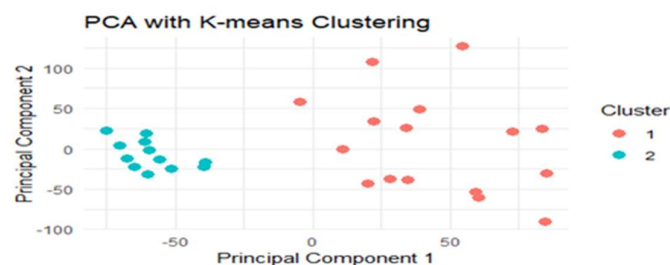


Fig. 9. The resulting from PCA analysis on human data. This network illustrates the relationships between genes based on their correlations. Nodes represent genes, and edges (connecting lines) indicate high correlations between them. The color of the nodes is determined by their status (hub or non-hub), and the size of the nodes reflects their degree of connectivity. This analysis is useful for identifying key genes and understanding the interactions between them.

شکل ۹- نمودار حاصل از انجام PCA روی داده‌های گونه انسان. این شبکه، ارتباط بین ژن‌ها را بر اساس همبستگی بین آنها نشان می‌دهد. گره‌ها نماینده ژن‌ها و لبه‌ها (خطوط اتصال) نشان‌دهنده همبستگی بالا بین آنها هستند. رنگ گره‌ها بر اساس وضعیت آنها (هاب یا غیر هاب) تعیین شده است، و اندازه گره‌ها نشان‌دهنده درجه اتصال (Degree) است. این تحلیل برای شناسایی ژن‌های کلیدی و ارتباطات بین آنها مفید است.

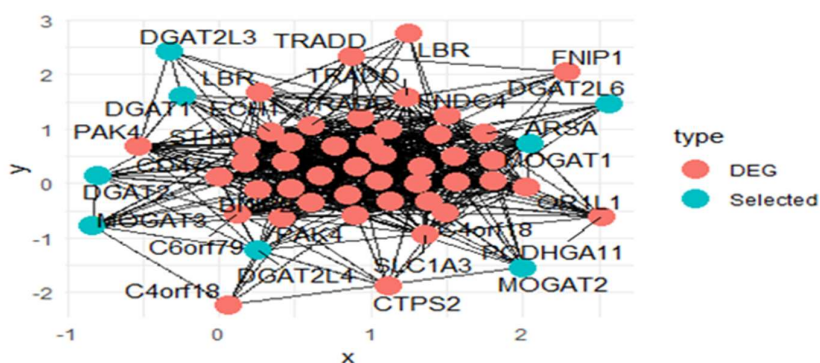


Fig. 10. Schematic of a weighted gene co-expression network constructed on human data. The figure presents the results of a weighted gene co-expression network analysis (WGCNA) applied to gene expression data. The network visualization depicts genes as nodes, with edges representing co-expression relationships weighted by their correlation strength. Nodes are color-coded to distinguish differentially expressed genes (DEGs), shown in red, from a subset of selected genes, highlighted in turquoise. A dense cluster of DEGs is observed at the center of the network, indicating strong co-expression relationships among these genes. Notable genes such as *TRADD*, *LBR*, and *FNIP1* occupy prominent positions, suggesting their potential roles as hub genes in this network. The selected genes, including *DGAT2L3*, *DGAT1*, and *MOGAT2*, are dispersed throughout the network, reflecting their diverse interactions with DEGs.

شکل ۱۰- شمایی از شبکه هم‌بیانی ژن وزن‌دار ایجاد شده روی کل داده گونه انسان. شکل، نتایج تحلیل شبکه هم‌بیانی ژن وزن‌دار (WGCNA) اعمال شده بر داده‌های بیان ژن را نشان می‌دهد. تجسم شبکه ژن‌ها به‌عنوان گره‌ها نشان داده شده است، با لبه‌هایی که روابط هم‌بیانی را با وزن‌های قدرت همبستگی خود نشان می‌دهند. گره‌ها با رنگ کدگذاری شده‌اند تا بین DEGs، که به رنگ قرمز نشان داده شده‌اند، و زیرمجموعه‌ای از ژن‌های انتخاب شده، که به رنگ فیروزه‌ای برجسته شده‌اند، تمایز قائل شوند. در مرکز، شبکه خوشه‌ای متراکم از DEGs وجود دارد که نشان‌دهنده روابط هم‌بیانی قوی بین این ژن‌ها است. ژن‌های قابل توجهی مانند *TRADD*، *LBR* و *FNIP1* در موقعیت برجسته‌ای قرار دارند که نشان‌دهنده نقش بالقوه آن‌ها به‌عنوان ژن‌های هاب در این شبکه است. ژن‌های انتخاب شده، از جمله *MOGAT2*، *DGAT1* و *DGAT2L3*، در سراسر شبکه پراکنده شده‌اند که نشان‌دهنده تعاملات متنوع آن‌ها با DEGs است.

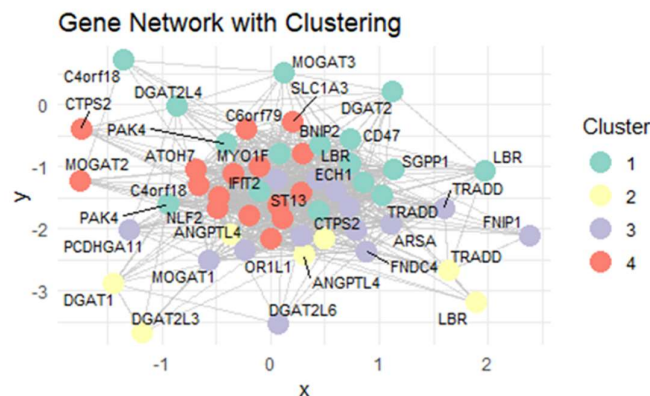


Fig. 11. Weighted gene co-expression network among modules (clusters) along with genes in each module. Figure depicts a gene network resulting from WGCNA, with clustering applied to gene expression data. The network visualization represents genes as nodes, with edges indicating co-expression relationships, and highlights the clustering of genes into distinct groups. Nodes are color-coded based on their cluster assignment, with four identified clusters shown in turquoise, yellow, purple, and red. The central cluster, primarily in turquoise, represents a dense interconnection of genes, indicating strong co-expression relationships. Notable hub genes such as *TRADD*, *LBR*, and *FNIPI* occupy prominent positions within this cluster, underscoring their potential significance in the network. Other clusters, though less densely connected, still exhibit meaningful interactions, with genes like *MOGAT2*, *DGAT1*, and *MOGAT3* appearing across different clusters, reflecting their diverse roles and interactions within the network.

شکل ۱۱- شبکه هم‌بیانی ژن وزن‌دار بین ماژول‌ها (خوشه‌ها) همراه با ژن‌های هر ماژول. شکل، یک شبکه ژنی حاصل از WGCNA با اعمال خوشه‌بندی بر داده‌های بیان ژن را نشان می‌دهد. تجسم شبکه ژن‌ها را به عنوان گره‌ها نشان می‌دهد، با لبه‌هایی که روابط هم‌بیانی را نشان می‌دهند، و خوشه‌بندی ژن‌ها را به گروه‌های مجزا برجسته می‌کند. گره‌ها بر اساس تخصیص خوشه خود با رنگ کدگذاری شده‌اند، با چهار خوشه شناسایی شده و با رنگ‌های فیروزه‌ای، زرد، بنفش و قرمز نشان داده شده‌اند. خوشه مرکزی، عمدتاً به رنگ فیروزه‌ای، نشان‌دهنده ارتباطات متراکم بین این ژن‌ها است که نشان‌دهنده روابط هم‌بیانی قوی است. ژن‌های هاب قابل توجهی مانند *TRADD*، *LBR* و *FNIPI* در موقعیت برجسته‌ای در این خوشه قرار دارند که اهمیت بالقوه آن‌ها را در شبکه تأکید می‌کند. خوشه‌های دیگر، اگرچه به‌طور کمتر متراکمی متصل هستند، اما هنوز تعاملات معناداری را نشان می‌دهند، با ژن‌هایی مانند *MOGAT3* و *DGAT1*، *MOGAT2* که در خوشه‌های مختلف ظاهر می‌شوند، که نشان‌دهنده نقش‌ها و تعاملات متنوع آن‌ها در شبکه است.

Gene Network with Hubs Highlighted

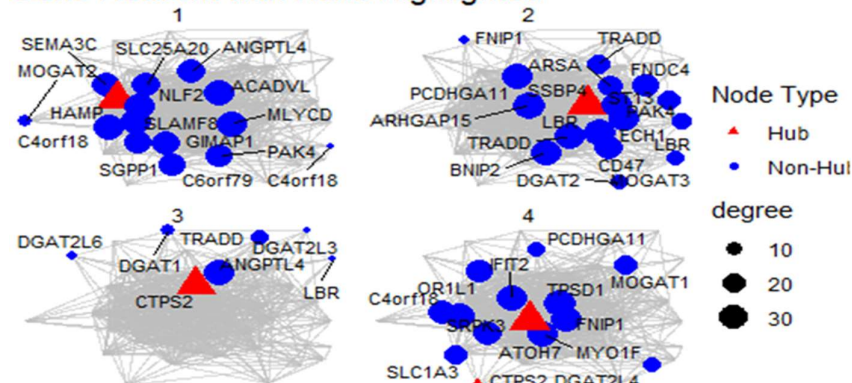


Fig. 12. Weighted gene co-expression network within a module (cluster). Figure presents the results of WGCNA performed on gene expression data, highlighting key gene networks and their hubs. The analysis identified four distinct gene modules, each displayed in separate panels labeled 1 to 4. Within these modules, nodes represent individual genes, and their size reflects the degree of connectivity (ranging from 10 to 30 connections). Hub genes, which are centrally located in the network and likely play vital roles in the biological processes under investigation, are marked with red triangles, while non-hub genes are represented by blue circles. Notable hub genes include *HAMP* in module 1, *LRPI* in module 2, *CTPS2* in module 3, and *ATOH7* in module 4.

شکل ۱۲- شبکه هم‌بیانی ژن وزن‌دار درون ماژول (خوشه). شکل، نتایج تحلیل WGCNA انجام شده روی داده‌های بیان ژن را نشان می‌دهد که شبکه‌های ژنی کلیدی و هاب‌های آن‌ها را برجسته می‌کند. این تجزیه و تحلیل، چهار ماژول ژنی مجزا را شناسایی کرده است که هر کدام در پتل‌های جداگانه با برجسته ۱ تا ۴ نشان داده شده‌اند. در این ماژول‌ها، گره‌ها نشان‌دهنده ژن‌های فردی هستند و اندازه آن‌ها نشان‌دهنده میزان اتصال (از ۱۰ تا ۳۰ اتصال) است. ژن‌های هاب، که در مرکز شبکه قرار دارند و احتمالاً نقش‌های حیاتی در فرآیندهای زیستی مورد بررسی ایفا می‌کنند، با مثلث‌های قرمز مشخص شده‌اند، در حالی که ژن‌های غیر هاب به‌صورت دایره‌های آبی نشان داده شده‌اند. ژن‌های هاب قابل توجه شامل *HAMP* در ماژول ۱، *LRPI* در ماژول ۲، *CTPS2* در ماژول ۳ و *ATOH7* در ماژول ۴ هستند.

ایجاد شده است که بر استفاده از وزن‌های اتصال به‌جای اتصالات دودویی برای درک بهتر تعاملات ژنی تأکید دارد (Zhang and Horvath, 2005). روش‌شناسی و کاربردهای WGCNA با جزئیات بیشتری تشریح شده است و بر پتانسیل آن در شناسایی زیست‌نشانه‌های نامزد و اهداف درمانی از راه ارتباط داده‌های بیان ژن با صفات فنوتیپی تأکید شده است (Ferlic, 2016). علاوه بر این، کاربرد WGCNA در شناسایی شبکه‌های ژنی مرتبط با مقاومت به بیماری در گندم نشان داده شده است که برای پژوهش‌های سلامت دام نیز مرتبط است (Sari et al., 2019). با استفاده از WGCNA، ژن‌ها و مسیرهای کلیدی مرتبط با هایپرلیپیدمی کشف شده‌اند و کاربرد آن در درک صفات متابولیکی قابل اعمال بر دام نشان داده شده است (Miao et al., 2018). این پژوهش‌ها به‌طور جمعی کاربرد گسترده WGCNA را در کشف پایه‌های ژنتیکی صفات مختلف و جنبه‌های سلامت در دام نشان می‌دهند و در نتیجه، پیشرفت اصلاح ژنتیکی و راهبردهای پرورش را تسهیل می‌کنند. تحلیل WGCNA به‌عنوان ابزاری قدرتمند در علوم دامی ظهور کرده است که تسهیل‌کننده شناسایی ماژول‌های ژنی کلیدی و ژن‌های هاب مرتبط با صفات مهم است. به‌عنوان مثال، از WGCNA برای بررسی شبکه‌های ژنتیکی زیربنایی رنگ گوشت سینه مرغ استفاده شده است و ژن‌های حیاتی دخیل در فعالیت میتوکندری و اکسیداسیون لیپید آشکار شده‌اند (Guo et al., 2023). به‌طور مشابه، برای بررسی تنظیم ژنتیکی محتوای اینوزین مونوفسفات (IMP) در عضله سینه بزرگ مرغ از WGCNA استفاده شده است و ماژول‌های ژنی و ژن‌های هاب معنی‌داری شناسایی شده‌اند که بر سطوح IMP تأثیر می‌گذارند (He et al., 2024).

جدول ۲ هشت ژن را فهرست می‌کند که هر کدام با یک خوشه خاص، درجه (تعداد اتصالات)، مرتبط هستند و به-عنوان "غیر هاب" طبقه‌بندی می‌شوند. ژن‌های *MLYCD* و *SLAMF6* هر دو در خوشه ۱، به‌ترتیب دارای درجه ۳۵ و ۳۴ هستند که نشان‌دهنده اتصال بالا در شبکه است، اما به‌عنوان هاب طبقه‌بندی نمی‌شوند. *ARSA* و *ECH1* هر دو در خوشه ۲، به‌ترتیب دارای درجه ۳۶ و ۲۴ هستند که آن‌ها نیز به‌عنوان هاب شناسایی نشده‌اند. به‌طور مشابه، *DGAT2L3* و *SLC25A20* و *FND4* در خوشه ۲ و *LBR* در خوشه ۳، درجات مختلفی از اتصال را نشان می‌دهند، اما هاب نیستند. این تجزیه و تحلیل، بینش‌هایی را در مورد ساختار شبکه ارائه می‌دهد و ژن‌هایی با اتصال قابل توجه را برجسته می‌کند که علیرغم اینکه هاب نیستند، ممکن است هنوز نقش‌های مهمی را در خوشه‌های مربوطه خود ایفا کنند و در نتیجه به درک کلی تعاملات ژنی و پیامدهای عملکردی بالقوه کمک کنند. در نتایج ارائه شده در جدول ۲، مشاهده می‌شود که ژن‌های مختلف بر اساس خوشه‌بندی و ویژگی‌های آن‌ها دسته‌بندی شده‌اند. به‌عنوان مثال، ژن‌هایی که در خوشه ۱ قرار دارند شامل *DGAT1* و *MOGAT3* هستند. برخی از ژن‌ها مانند *DGAT2L6* و *SLC16A6* به‌عنوان ژن‌های هاب شناسایی شده‌اند که نقش مهمی در شبکه‌های زیستی دارند. داده‌های تکمیلی در جدول ۲ می‌توانند برای بررسی الگوهای پیچیده‌تر مورد استفاده قرار گیرد. شبکه‌های ژنی گونه گاو و انسان که با استفاده از روش WGCNA ایجاد شده‌اند، از نظر توپولوژی مقایسه شدند (شکل‌های ۱۰ تا ۱۲). تحلیل WGCNA به-عنوان روشی متنوع و قدرتمند در علوم دامی شناخته شده است که امکان بررسی صفات ژنتیکی پیچیده و جنبه‌های سلامت را فراهم می‌کند. چارچوبی کلی برای WGCNA

جدول ۱- اطلاعات خوشه‌بندی ژن‌ها

Table 1. Gene clustering information

Gene name	Cluster	Hub
<i>DGAT1</i>	First	yes
<i>DGAT2L3</i>	Second	No
<i>MOGAT3</i>	First	No
<i>DGAT2L6</i>	Third	yes
<i>DGAT2L4</i>	Third	No
<i>MOGAT1</i>	Second	yes
<i>DGAT2</i>	Third	No
<i>MOGAT2</i>	First	No

جدول ۲- مشخصات تکمیلی ژن‌ها

Table 2. Supplementary characteristics of genes

Gene	Cluster	Degree	Type
<i>MLYCD</i>	First	35	Non-Hub
<i>ECH1</i>	Second	36	Non-Hub
<i>LBR</i>	Third	6	Non-Hub
<i>ARSA</i>	Second	24	Non-Hub
<i>FNDC4</i>	Second	25	Non-Hub
<i>SLAMF8</i>	First	34	Non-Hub
<i>SLC25A20</i>	First	30	Non-Hub
<i>DGAT2L3</i>	Third	6	Non-Hub

سامانه ایمنی و فرآیندهای التهابی هستند. ژن *IL1B* پروتئین اینترلوکین ۱ بتا (*IL-1β*) را کد می‌کند، که یک سیتوکین پروالتهابی است و در پاسخ به التهاب و عفونت ترشح می‌شود. *IL-1β* باعث افزایش ترشح سایر سیتوکین‌های پروالتهابی و جذب سلول‌های ایمنی به محل التهاب می‌شود. این سیتوکین همچنین در فعال‌سازی سلول‌های ایمنی مانند لنفوسیت‌های T و ماکروفاژها نقش دارد و باعث افزایش تولید آنتی‌بادی و تقویت پاسخ ایمنی ثانویه می‌شود. بیش‌فعالی *IL-1β* می‌تواند در بروز بیماری‌های خودایمنی مانند آرتریت روماتوئید و بیماری التهابی روده نقش داشته باشد. ژن *CXCL6* پروتئین کموکین را کد می‌کند، که یک کموکین است و باعث جذب نوتروفیل‌ها و سایر سلول‌های ایمنی به محل التهاب می‌شود. *CXCL6* در فرآیندهای التهابی مانند عفونت‌های باکتریایی و ویروسی نقش دارد و باعث افزایش ترشح سایر سیتوکین‌های پروالتهابی و تقویت پاسخ التهابی می‌شود. بیش‌فعالی *CXCL6* می‌تواند در بروز بیماری‌های التهابی مزمن مانند بیماری التهابی روده و آسم نقش داشته باشد. همچنین، هر دو ژن *IL1B* و *CXCL6* در رشد و گسترش تومورها نقش دارند زیرا با افزایش تکثیر سلولی و تشکیل عروق جدید در تومورها مرتبط هستند. در نتیجه، هر دو ژن دارای نقش‌های مهمی در سامانه ایمنی و فرآیندهای التهابی هستند و بیش‌فعالی آن‌ها می‌تواند باعث بروز بیماری‌های التهابی و خودایمنی شود، در حالی که کمبود آن‌ها می‌تواند باعث ضعف سامانه ایمنی و آسیب‌پذیری بیشتر در برابر عفونت‌ها شود.

تجزیه و تحلیل ژن هستی‌شناسی (GO) مجموعه ژنی در جدول ۳ ارائه شده است. ارتباط قوی با سوخت و ساز لیپید، به‌ویژه در ساخت و فرآیندهای متابولیسمی آسیل گلیسرول‌ها و تری‌گلیسیریدها نشان داده شده است. مهمترین

علاوه بر این، WGCNA برای بررسی عوامل ژنتیکی مؤثر بر افت چکه در گوشت خوک به‌کار رفته است و ژن‌های کاندید مرتبط با صفات کیفیت گوشت کشف شده‌اند (Zhao et al., 2020). در ارتباط با داده‌های گونه گاو با شماره دسترسی GSE24560، ژن‌های زیر به‌صورت DEGs ظاهر شدند: ژن‌های *DGAT2*، *MOGAT2* و *MGAT4A* که مرتبط با سوخت‌وساز چربی بودند. ژن *DGAT2* که در مسیر ساخت تری‌گلیسیرید نقش دارد (این تفاوت بیان ممکن است به‌دلیل تلاش سلول‌ها برای بازسازی لیپیدهای غشایی در پاسخ به التهاب باشد)، ژن *MGAT4A* که یک عامل رونویسی مرتبط با رشد و بقای سلول‌ها است و ممکن است نشان‌دهنده اثر بازدارنده این باکتری بر تمایز سلولی باشد، ژن *GATA4* که در مقایسه بین گروه‌های شاهد و بیمار تغییر معنی‌داری نداشت، اما در برخی نمونه‌ها، افزایش جزئی مشاهده شد که می‌تواند با آثار محیطی مرتبط باشد، و ژن‌های *GATA4* و *GAT* که در ارتباط با تنظیم ژنتیکی و تمایز سلولی بودند. کاهش بیان *GATA4* در بیمار *E. coli* ممکن است با تغییرات رونویسی ناشی از تنش سلولی مرتبط باشد. این موضوع با کاهش رشد و بقای سلولی در شرایط التهابی سازگار است. در کل، تحلیل‌ها نشان داد که پاسخ بیان ژن در بیمار با *Staphylococcus aureus* شدیدتر از *E. coli* است. این موضوع ممکن است به تفاوت در ساختار دیواره سلولی و عوامل بیماری‌زایی این دو باکتری مرتبط باشد.

نتایج شبکه ژنی روی آزمایش GSE24560 نشان داد که ژن‌های *IL1B*، *CXCL6* و *MOGAT1* به‌عنوان ژن‌های برجسته شده به‌وسیله شبکه ژنی شناسایی شدند. در این میان، دو ژن *IL1B* و *CXCL6* به‌عنوان ژن‌های هاب تشخیص داده شدند (شکل ۱۳). این موضوع منطقی بود زیرا ژن‌های *IL1B* و *CXCL6* دارای نقش‌های کلیدی در

که این ژن‌ها ممکن است بر سطوح تری‌گلیسیرید در گردش، سطوح تری‌گلیسیرید کبد، درصد چربی بدن و مصرف اکسیژن تأثیر بگذارند. به‌طور کلی، این یافته‌ها بر نقش حیاتی مجموعه ژن در بیوسنتز و سوخت و ساز لیپید، با پیامدهای بالقوه برای سلامت متابولیک و عملکردهای فیزیولوژیکی تأکید می‌کنند. برای داده‌های گونه گاو، غنی-سازی معنی‌داری، با توجه به تعداد کم ژن‌ها در ماژول‌ها، مشاهده نشد (شکل ۱۴).

فرآیندهای زیستی غنی شده عبارتند از فرآیند بیوسنتزی آسید گلیسرول (GO:0046463)، فرآیند بیوسنتزی مونوآسید گلیسرول (GO:0006640) و فرآیند بیوسنتزی تری‌گلیسیرید (GO:0019432) که همگی مقادیر p و q بسیار پایینی را نشان می‌دهند. علاوه بر اهمیت آماری بالا، ژن‌ها در سوخت و ساز گلیسرولیپید و مسیرهای هضم و جذب چربی نقش دارند، همان‌طور که به‌وسیله تجزیه و تحلیل KEGG مشهود است. ارتباط فنوتیپی نشان می‌دهد

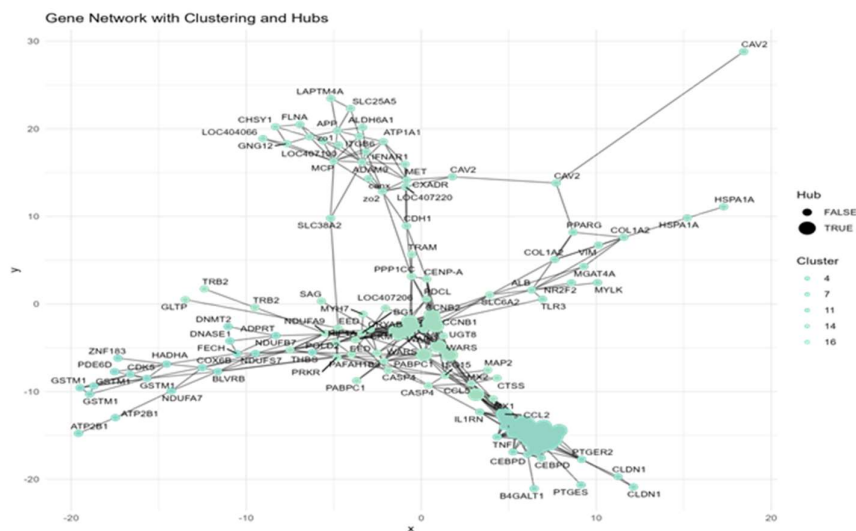


Fig. 13. Gene interaction network based on the correlation of genes with DEGs in bovine data. Larger nodes represent hub genes. In this Figure, genes identified as hubs are represented by larger and darker nodes. In the margin of the network, hub genes are labeled as "TRUE," while other genes are labeled as "FALSE." This gene network illustrates interactions among various genes in bovine mastitis, constructed using gene expression data. Each node in the network represents a gene, and connecting lines indicate gene interactions. Genes are divided into different clusters, represented by distinct colors, with each cluster containing genes that interact more closely with one another. Hub genes, depicted by larger and darker nodes, exhibit numerous interactions with other genes, highlighting their crucial role in the network. The positions of genes in the network are determined by mathematical calculations, and genes located closer to each other interact more frequently.

شکل ۱۳- شبکه برهم‌کنش ژنی بر اساس همبستگی ژن‌ها با DEGs در داده‌های گونه گاو. گره‌های بزرگ‌تر نشان‌دهنده ژن‌های هاب هستند. در شکل، ژن‌هایی که به‌عنوان هاب شناخته شدند، با نقاط بزرگ‌تر و رنگ تیره‌تر نشان داده شده‌اند. در قسمت حاشیه این شبکه، ژن‌های هاب با عنوان "TRUE" و ژن‌های دیگر با عنوان "FALSE" مشخص شدند. این شبکه ژنی نمایانگر تعاملات بین ژن‌های مختلف در ورم پستان گاو است که با استفاده از داده‌های بیان ژنی ایجاد شده است. هر نقطه در شبکه، یک ژن را نشان می‌دهد و خطوط متصل‌کننده بین نقاط نشان‌دهنده تعاملات ژنی هستند. ژن‌ها به خوشه‌های مختلف تقسیم شده‌اند که با رنگ‌های متفاوت نشان داده شده‌اند، هر خوشه شامل ژن‌هایی است که با یکدیگر تعامل نزدیک‌تری دارند. ژن‌هایی که به‌عنوان هاب شناخته می‌شوند، با نقاط بزرگ‌تر و رنگ تیره‌تر نشان داده شده‌اند و تعداد زیادی تعامل با ژن‌های دیگر دارند، که نشان‌دهنده نقش مهم آن‌ها در شبکه است. موقعیت ژن‌ها در شبکه بر اساس محاسبات ریاضی تعیین شده و ژن‌های نزدیک به هم بیشتر با یکدیگر تعامل دارند.



Fig. 14. The network diagram emphasizes the central role of *DGAT2L6*, *MOGAT1*, *MOGAT3*, *MOGAT2*, *DGAT1*, and *DGAT2* genes in lipid metabolism, underscoring their involvement in the biosynthesis and metabolism of acylglycerols, monoacylglycerols, and triglycerides. These genes are associated with key metabolic pathways, including glycerol lipid metabolism and retinol metabolism, and are linked to phenotypic traits such as reduced triglyceride levels, abnormal epidermal morphology, decreased body fat, and increased oxygen consumption. The interconnectedness of these genes with multiple biological processes and phenotypic traits highlights their importance in lipid metabolism and related physiological functions.

شکل ۱۴- نمودار شبکه‌ای، نقش مرکزی ژن‌های *DGAT1*، *MOGAT2*، *MOGAT3*، *DGAT2L6* و *DGAT1* را در سوخت و ساز لیپیدها در داده‌های گونه انسان نشان می‌دهد و بر مشارکت آن‌ها در بیوسنتز و سوخت و ساز آسیل گلیسرول‌ها، مونواسیل گلیسرول‌ها و تری گلیسیریدها تأکید می‌کند. این ژن‌ها با مسیرهای متابولیکی کلیدی، از جمله سوخت و ساز گلیسرول لیپید و رتینول، مرتبط هستند و با ویژگی‌های فنوتیپی مانند کاهش سطح تری گلیسیرید، ریخت‌شناسی غیرطبیعی اپیدرم، کاهش چربی بدن و افزایش مصرف اکسیژن مرتبط هستند. ارتباط متقابل این ژن‌ها با فرایندهای زیستی و ویژگی‌های فنوتیپی متعدد، اهمیت آن‌ها را در سوخت و ساز لیپیدها و عملکردهای فیزیولوژیکی مرتبط، برجسته می‌سازد.

بیشتر یال‌ها، کوتاه‌تر باشند در حالی که در شبکه انسان ممکن است طولانی‌تر باشند. ضریب خوشه‌ای، که نشان‌دهنده میزان احتمال اتصال همسایگان یک نقطه است، در شبکه گاو ممکن است به دلیل تعداد بیشتر ارتباط‌های ژنی، بالاتر باشد در حالی که در شبکه انسان ممکن است کمتر باشد. در نتیجه، مقایسه توپولوژی شبکه‌های ژنی گاو و انسان نشان داد که شبکه گاو، پیچیده‌تر و دارای تعاملات ژنی متعددی است در حالی که شبکه انسان، ساده‌تر و دارای تعداد کمتری اتصالات است. این تفاوت‌ها می‌تواند ناشی از تفاوت در گونه، شرایط محیطی، نوع بافت یا فرایندهای زیستی مورد مطالعه باشد. با این حال، هر دو شبکه نشان‌دهنده تعاملات ژنی در گونه‌های مختلف هستند و می‌توانند در تحقیقات ژنتیکی و زیستی مورد استفاده قرار گیرند.

شبکه ژنی گاو شامل تعداد بیشتری نقاط (ژن‌ها) و یال‌ها (اتصالات بین ژن‌ها) بود، که نشان‌دهنده تعاملات ژنی پیچیده‌تر و متعددتر در این گونه است. درجه هر نقطه، که تعداد یال‌هایی است که به آن نقطه متصل هستند، در شبکه گاو بالاتر بود و نشان‌دهنده وجود ژن‌های هاب با نقش مهم در شبکه است. این ژن‌ها با دایره‌های بزرگتر و رنگ سیاه نشان داده شده‌اند و ممکن است در فرایندهای زیستی مهم دخیل باشند. از سوی دیگر، شبکه ژنی انسان نیز شامل نقاط و یال‌هایی است، اما تعداد آن‌ها کمتر از شبکه گاو بود. درجه نقاط در شبکه انسان نیز نشان‌دهنده وجود ژن‌های هاب بود، اما تعداد آن‌ها کمتر از شبکه گاو بود. شبکه انسان به چندین خوشه تقسیم شده است، اما تعداد خوشه‌ها کمتر از شبکه گاو است. کوتاه‌ترین مسیرهای بین نقاط در شبکه گاو ممکن است به دلیل تعداد

جدول ۳- غنی‌سازی واژگان هستی‌شناسی ژنی و مسیرهای‌های متابولیکی برای ژن‌های با ارتباط بالا در داده گونه انسان
Table 3. Gene ontology enrichment and metabolic pathway analysis for highly associated genes in human data

Term	Library	P-value	q-value	Z-score	Combined score
Acylglycerol biosynthetic process (GO:0046463)	GO_Biological_Process_2021	3.18E-17	5.07E-16	3525	133900
Monoacylglycerol biosynthetic process (GO:0006640)	GO_Biological_Process_2021	4.41E-17	5.07E-16	16660	627400
Monoacylglycerol metabolic process (GO:0046462)	GO_Biological_Process_2021	4.20E-15	3.22E-14	3701	122500
Triglyceride biosynthetic process (GO:0019432)	GO_Biological_Process_2021	1.80E-14	1.03E-13	2561	81070
Triglyceride metabolic process (GO:0006641)	GO_Biological_Process_2021	7.26E-12	3.34E-11	664.7	17050
Glycerolipid metabolism	KEGG_2021_Human	1.24E-11	3.72E-11	593.3	14900
Fat digestion and absorption	KEGG_2021_Human	1.29E-09	1.93E-09	511.6	10470
Decreased circulating triglyceride level MP:0002644	MGI_Mammalian_Phenotype_Level_4_2021	0.0001254	0.006216	44.84	402.8
Abnormal epidermal layer morphology MP:0001216	MGI_Mammalian_Phenotype_Level_4_2021	0.0002616	0.006216	110.7	913.4
Decreased liver triglyceride level MP:0009356	MGI_Mammalian_Phenotype_Level_4_2021	0.0002876	0.006216	105.4	859.8
Decreased percent body fat/body weight MP:0005459	MGI_Mammalian_Phenotype_Level_4_2021	0.0003147	0.006216	100.6	811.5
Increased oxygen consumption MP:0005289	MGI_Mammalian_Phenotype_Level_4_2021	0.0005032	0.00795	79	600
Retinol metabolism	KEGG_2021_Human	0.02688	0.02688	42.48	153.6

نتیجه‌گیری کلی

این پژوهش در زمره تحلیل‌های ترانسکریپتومی بین‌گونه‌ای گروه‌بندی می‌شود. تحلیل‌های ترانسکریپتومی بین‌گونه‌ای به پژوهشگران اجازه می‌دهد تا تفاوت‌ها و شباهت‌های ژنتیکی بین گونه‌ها را بررسی کنند و درک بهتری از عملکرد ژن‌ها و شبکه‌های ژنی در سطح بین‌گونه‌ای به‌دست آورند. با این حال، این روش دارای چندین نارسایی و محدودیت است. تفاوت‌های ژنتیکی و تکاملی بین گونه‌ها ممکن است منجر به اشتباهات در تطبیق داده‌ها شود. کیفیت و کمیت داده‌های ترانسکریپتومی بین گونه‌های مختلف ممکن است متفاوت باشد، که این مسئله تفسیر داده‌ها را دشوار می‌کند. تفسیر داده‌های ترانسکریپتومی بین گونه‌ای پیچیده است و نیاز به ابزارها و روش‌های تحلیلی پیشرفته دارد. فناوری‌های موجود برای توالی‌یابی و تحلیل ترانسکریپتوم ممکن است در برخی موارد کافی نباشند. تنوع زیستی گونه‌های مختلف ممکن است منجر به تفاوت‌های قابل توجهی در بیان ژن

شود، که این تنوع ممکن است تفسیر داده‌ها را دشوار کند. علاوه بر این، دسترسی به نمونه‌های زیستی از گونه‌های مختلف ممکن است با محدودیت‌های اخلاقی و قانونی مواجه شود، که این مسئله ممکن است بر تحقیقات تأثیر بگذارد. با وجود این محدودیت‌ها، تحلیل‌های ترانسکریپتومی بین گونه‌ای همچنان یک ابزار قدرتمند برای درک عملکرد ژن‌ها و شبکه‌های ژنی در سطح بین‌گونه‌ای است و پیشرفت‌های فناوری و روش‌های تحلیلی جدید می‌تواند به حل برخی از این محدودیت‌ها کمک کند. انتخاب گاو و انسان به‌عنوان مدل‌های تحقیق به دلایل متعددی صورت گرفته است. گاو به‌عنوان یک جانور اهمیت زیادی در صنعت شیر و گوشت دارد. ژن‌های مرتبط به تولید شیر و محتوای چربی آن در گاوها بسیار مهم هستند. بررسی ژن‌های خانواده *DGAT* در گاوها می‌تواند به بهبود کیفیت شیر و بهینه‌سازی تولید شیر کمک کند. از سوی دیگر، انسان نیز به‌عنوان یک مدل برای بررسی ژن‌های مرتبط با چاقی و بیماری‌های قلبی عروقی استفاده می‌شود.

ژن‌ها و ماژول‌های ژنی مرتبط با خانواده *DGAT* و بررسی ارتباط آن‌ها با ورم پستان در گاوها بود. به این منظور، اطلاعات ژنتیکی انسان به‌عنوان یک مدل مناسب برای بررسی ژن‌های مشابه در گاوها استفاده شده است. در نهایت، مشخص شد که ژن‌های هاب مربوط به گونه گاو، از خانواده *DGAT* نبوده که این می‌تواند به دلایل گفته شده در بخش بالا باشد.

ژن‌های خانواده *DGAT* در انسان نقش مهمی در سوخت و ساز لیپیدها دارند. اشتراکات ژنتیکی بین انسان و گاو امکان استفاده از اطلاعات ژنتیکی انسان برای بررسی ژن‌های کاندیدای ورم پستان در گاوها را فراهم می‌کند. بررسی گونه‌های دیگر ممکن است نیاز به اطلاعات ژنتیکی و ژنومی بیشتری داشته باشد که در حال حاضر در دسترس نیستند یا کمتر مستند شده‌اند. اهداف اصلی این مطالعه شناسایی

فهرست منابع

- Barabási, A.-L., & Oltvai, Z. N. (2004). Network biology: Understanding the cell's functional organization. *Nature Reviews Genetics*, 5(2), 101-113. doi: 10.1038/nrg1272
- Bouwman, A., Bovenhuis, H., Visker, M., & van Arendonk, J. (2014). Fine mapping of a quantitative trait locus for bovine milk fat composition on *Bos taurus* autosome 19. *Journal of Dairy Science*, 97(2), 1139-1149. doi: 10.3168/jds.2013-7197
- Carvajal, A., Huircán, P., & Manríquez, J. (2016). Milk fatty acid profile is modulated by DGAT1 and SCD1 genotypes in dairy cattle on pasture and strategic supplementation. *Genetics and Molecular Research*, 15(2). doi: 10.4238/gmr.15027057
- Čítek, J., Řehout, V., Hanušová, L., & Příbyl, J. (2020). Gene polymorphisms influencing yield, composition and technological properties of milk from Czech Simmental and Holstein cows. *Animal Bioscience*, 34(1), 2-11. doi: 10.5713/ajas.19.0520
- Cruz, V., López, B., & Gutiérrez, J. (2019). Genome-wide association study for milk fatty acids in Holstein cattle accounting for the DGAT1 gene effect. *Animals*, 9(11), 997. doi: 10.3390/ani9110997
- Ferlic, J., & Horvath, S. (2016). WGCNA: Weighted Gene Co-Expression Network Analysis. Semantic Scholar. Available at: <https://www.semanticscholar.org/paper/0f363871f09343763bbddb28967f1998569a0be4>
- Ghaderi-Zefrehei, M., Arjmand, F., Samadian, F., & Meamar, M. (2018). Extracting transcriptomic biomarker network in *Staphylococcus aureus* driven dairy cow's mastitis using human genome. *Animal Production Research*, 6(4), 1-12. doi: 10.22124/ar.2018.2751 [In Persian]
- Ghavi Hossein-Zadeh, N. (2021). A meta-analysis of heritability estimates for milk fatty acids and their genetic relationship with milk production traits in dairy cows using a random-effects model. *Livestock Science*, 244, 104388. doi: 10.1016/j.livsci.2020.104388
- Ghavi Hossein-Zadeh, N. (2024). An overview of recent technological developments in bovine genomics. *Veterinary and Animal Science*, 25, 100382. doi: 10.1016/j.vas.2024.100382
- Guo, X., Li, Y., & Zhang, Y. (2023). Identification of key modules and hub genes involved in regulating the color of chicken breast meat using WGCNA. *Animals*, 13(14), 2356. doi: 10.3390/ani13142356
- Han, J. D., Bertin, N., Hao, T., Goldberg, D. S., Berriz, G. F., Zhang, L. V., Dupuy, D., Walhout, A. J., Cusick, M. E., Roth, F. P., & Vidal, M. (2004). Evidence for dynamically organized modularity in the yeast protein-protein interaction network. *Nature*, 430(6996), 88-93. doi: 10.1038/nature02555
- He, X., Li, Y., & Zhang, Y. (2024). Explorations on key module and hub genes affecting IMP content of chicken pectoralis major muscle based on WGCNA. *Animals*, 14(3), 402. doi: 10.3390/ani14030402
- Ideker, T., & Krogan, N. (2012). Differential network biology. *Molecular Systems Biology*, 8(1), 565. doi: 10.1038/msb.2011.99
- Kharrati Koopaei, H., & Mehrabani-Yeganeh, H. (2012). Effect of DGAT1 variants on milk composition traits in Iranian Holstein cattle population. Semantic Scholar. Available at: <https://www.semanticscholar.org/paper/ce4114b3329f1588a3f006b0c6bc3a5748170e0c>
- Langfelder, P., & Horvath, S. (2008). WGCNA: An R package for weighted correlation network analysis. *BMC Bioinformatics*, 9(1), 1-18. doi: 10.1186/1471-2105-9-559
- Li, C., Sun, D., Zhang, S., & Liu, L. (2014). Genome-wide association study identifies 20 novel promising genes associated with milk fatty acid traits in Chinese Holstein. *PLoS One*, 9(9), e96186. doi: 10.1371/journal.pone.0096186
- Li, F., Li, C., & Chen, Y. (2020). DGAT1 K232A polymorphism is associated with milk production traits in Chinese cattle. *Animal Biotechnology*, 32(4), 427-431. doi: 10.1080/10495398.2020.1711769
- Liu, L., Li, C., & Sun, D. (2020). GWAS-based identification of new loci for milk yield, fat, and protein in Holstein cattle. *Animals*, 10(11), 2048. doi: 10.3390/ani10112048

- Marchitelli, C., & Crisà, A. (2013). Milk fatty acid variability: Effect of some candidate genes involved in lipid synthesis. *Journal of Dairy Research*, 80(2), 165-173. doi: 10.1017/S002202991300006X
- Miao, L., Zhang, Y., & Li, Y. (2018). Weighted gene co-expression network analysis identifies specific modules and hub genes related to hyperlipidemia. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 48(3), 1151-1163. doi: 10.1159/000491982
- Mou, M., Li, Y., & Zhang, Y. (2024). Detection of polymorphisms in FASN, DGAT1, and PPARGC1A genes and their association with milk yield and composition traits in river buffalo of Bangladesh. *Animals*, 14(13), 1945. doi: 10.3390/ani14131945
- Palombo, V., & Crisà, A. (2018). Genome-wide association study of milk fatty acid composition in Italian Simmental and Italian Holstein cows using single nucleotide polymorphism arrays. *Journal of Dairy Science*, 101(12), 11004-11019. doi: 10.3168/jds.2018-14413
- Roy, R., & Khatkar, M. (2006). Association of polymorphisms in the bovine FASN gene with milk-fat content. *Animal Genetics*, 37(3), 215-218. doi: 10.1111/j.1365-2052.2006.01434.x
- Sari, E., & Todorovska, E. (2019). Weighted gene co-expression network analysis unveils gene networks associated with the Fusarium head blight resistance in tetraploid wheat. *BMC Genomics*, 20(1). doi: 10.1186/s12864-019-6161-8
- Sun, D., Li, C., & Zhang, S. (2009). Effects of DGAT1 and GHR on milk yield and milk composition in the Chinese dairy population. *Animal Genetics*, 40(6), 997-1000. doi: 10.1111/j.1365-2052.2009.01945.x
- Szyda, J., & Komisarek, J. (2007). Statistical modeling of candidate gene effects on milk production traits in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 90(6), 2971-2979. doi: 10.3168/jds.2006-724
- Thaller, G., & Kühn, C. (2003). Effects of DGAT1 variants on milk production traits in German cattle breeds. *Journal of Animal Science*, 81(8), 1911-1918. doi: 10.2527/2003.8181911x
- Winter, A., & Krämer, W. (2002). Association of a lysine-232/alanine polymorphism in a bovine gene encoding acyl-CoA:diacylglycerol acyltransferase (DGAT1) with variation at a quantitative trait locus for milk fat content. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(14), 9300-9305. doi: 10.1073/pnas.142293799
- Zhao, X., Li, Y., & Zhang, Y. (2020). Weighted gene co-expression network analysis reveals potential candidate genes affecting drip loss in pork. *Animal Genetics*, 51(4). doi: 10.1111/age.13006