



Study of differential expression of ovarian duct tissue genes in the follicular phase associated with fertility in the goat using transcriptomics data

F. Esmaeili Lima¹, H. Moradi Shahrabak^{1*}, M. Gholami Tahoneh¹

1. Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

(Received: 15-04-2025 – Revised: 24-07-2025 – Accepted: 26-07-2025 – Available online: 03-09-2025)

Abstract

Introduction: High fertility of goats is a key economic trait that has a direct impact on production efficiency in the goat industry. Many goat breeds have one or two kids per litter, and as the number of kids per litter increases, the amount of meat, milk, and other related products increases in proportion. The oviduct, as the main route of gamete transmission, plays a key role in mammalian fertility and provides a suitable environment for oocyte maturation, sperm capacitation, fertilization, and early embryo transfer. The follicular phase, which is accompanied by an increase in follicle-stimulating hormone (FSH) levels and the growth of dominant follicles, is of particular importance because it plays an important role in oocyte maturation and fertility. Among the many types of gene expression data, RNA-seq data has a great advantage over other types of data due to its high throughput and inclusion of sequences of transcribed regions and coverage of all these regions. In recent years, computer capabilities have made it possible to analyze this volume of data in a timely and cost-effective manner. One of the advantages of using RNA-seq data is the identification of new genes. The study aimed to identify oviductal genes in two groups of goats, low fertility (birth of one kid) and high fertility (birth of two or more kids), and to analyze the ontology of index genes, metabolic pathways, and molecular processes involved in the foetal stage.

Materials and methods: To investigate gene expression patterns in oviduct tissue, RNA-seq data from 12 samples of 3-year-old female Yushang goats sequenced by China Agricultural University using the Illumina NovaSeq 6000 platform were used. The original SRA format files were converted to FASTQ format using SRA Toolkit v2.10.2 software. Data quality was assessed using FastQC v0.11.9 software and its graphical interface in a Java environment. Based on the quality assessment results, if necessary, paired-end data were corrected and cleaned using Trimmomatic v0.39 software. After cleaning, the data were again evaluated for quality with FastQC. To prepare the reference genome for alignment, its indexing was performed using Hisat2 v2.2.1 software, and then, using the same software, the cleaned reads were aligned to the reference genome. The SAM format outputs were converted to BAM format and sorted, indexed, and prepared for the next steps using the Samtools software package. Cufflinks v2.2.1 was used to assemble the transcriptomes, and after independent assembly of each sample, the transcriptome files generated were merged with the Cuffmerge software and converted into a single reference file. Finally, to display the results in the form of graphs and charts, the CummeRbund package was used in the R software environment, and gene ontology and biological pathway analyses related to differentially expressed genes were performed using the GENECARD (<https://www.genecards.org>) and DAVID (<https://david.ncifcrf.gov/>) databases.

Results and discussion: A total of 69,005 gene identifiers were detected across both groups, from which only those with a $|\log_2 \text{fold change}| \geq 3$ and $q\text{-value} < 0.05$ were selected as differentially expressed genes (DEGs),

* Corresponding author: hmoradis@ut.ac.ir



resulting in 22 candidate genes. The highest expression levels were observed in *LGALS15*, *LGALS16*, *UI*, and *XLOC_03533*. The most prominent gene in terms of expression difference between the two groups was *XLOC_019343*, which showed greater expression in the low-fertility group but remains uncharacterized in public databases. *XLOC_03533* was the most highly expressed gene in the high-fertility group, while *LGALS15*, *LGALS16*, and *UI* were dominant in the low-fertility group, with the largest expression disparities. These genes are implicated in critical reproductive processes such as endometrial remodeling, embryo implantation, placental formation, and structural and functional adaptations of the reproductive system.

Conclusions: 22 genes associated with high and low fertility were identified on the transcriptome of the samples, which played a role in processes such as pregnancy establishment, endometrial remodeling, embryo implantation and placenta formation, regulation of the pH of the fallopian tube for sperm entry, prevention of some placental diseases, pathological inflammatory response, structural and functional adaptation for reproductive processes, and regulation of the gestation period. The results of this study can provide additional information to understand the relationship between effective genes and their pathways on the effect of fertility rate in Yushang goats, which can be generalized to other goat breeds.

Keywords: Fertility, Goat, Transcriptomics data, Follicular phase, Ovarian duct

Ethics statement: This article does not contain any studies with human participants or animals performed by any of the authors.

Data availability statement: The data that support the findings of this study are available on request from the corresponding author.

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

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

How to cite this article:

Esmaeili Lima, F., Moradi Shahrabak, H., & Gholami Tahoneh, M. (2025). Study of differential expression of ovarian duct tissue genes in the follicular phase associated with fertility in the goat using transcriptomics data. *Animal Production Research*, 14(4), 47-58. doi: 10.22124/ar.2025.30377.1892



مطالعه بیان افتراقی ژن‌های بافت مجرای تخمدان در فاز فولیکولی مرتبط با باروری در بز با استفاده از داده‌های ترانسکریپتومی

فاطمه اسماعیلی لیما^۱، حسین مرادی شهراباک^{۱*}، میلاد غلامی طاحونه^۱

۱- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۱/۲۶ - تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۰۵/۰۲ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۵/۰۴ - تاریخ انتشار برخط: ۱۴۰۴/۰۶/۱۲

چکیده

تخمندان‌ها، اندام‌های تولیدمثلی مهمی در پستانداران ماده هستند که مستقیماً بر چرخه فعلی و توانایی‌های تولیدمثلی تأثیر می‌گذارند. هدف این پژوهش، شناسایی ژن‌های مرتبط با تخمدان در بز نژاد یونشانگ، شامل دو گروه با میزان باروری پایین و باروری بالا و تجزیه هستی‌شناسی ژن‌های شاخص به‌منظور شناسایی مسیرهای متابولیکی و فعالیت‌های مولکولی دخیل در مراحل آبستنی است. در این مطالعه، ترانسکریپتوم توالی mRNA ۱۲ نمونه از بافت مجرای تخمدان بزهای سه‌ساله نژاد بز سیاه یونشانگ از پایگاه اطلاعاتی NCBI استخراج و ذخیره شد. پیش‌پردازش داده‌ها با استفاده از نرم‌افزارهای FastQC و Trimmomatic انجام شد. تجزیه بیان افتراقی ژن‌ها با استفاده از بسته نرم‌افزاری Cufflinks و تجزیه هستی‌شناسی ژن‌ها با کمک پایگاه‌های داده DAVID و GENECARD صورت گرفت. در نهایت، ۶۹۰۰۵ شناسه ژن روی ترانسکریپتوم دو گروه شناسایی شد، تنها ژن‌هایی با $\log_2 \text{fold change} \geq \pm 3$ و $q\text{-value} < 0.05$ به‌عنوان ژن‌های شاخص، انتخاب شدند که شامل ۲۲ ژن بود. بیشترین میزان بیان در ژن‌های *U1*، *LGALS16*، *LGALS15* و *XLOC_03533* مشاهده شد. شاخص‌ترین ژن از نظر میزان بیان در هر دو گروه، شناسه ژن، *XLOC_019343* است که در گروه باروری پایین‌تر، بیشتر بیان شده، اما در پایگاه‌های اطلاعاتی فاقد نام اختصاصی است. بیشترین بیان در گروه با باروری بالا مربوط به ژن *XLOC_03533* و در گروه با باروری پایین مربوط به ژن‌های *U1* و *LGALS16*، *LGALS15* است که بالاترین تفاوت بیان را نیز نشان دادند. این ژن‌ها در فرآیندهایی مانند بازسازی آندومتر، لانه‌گزینی جنین، تشکیل جفت و سازگاری ساختاری و عملکردی مرتبط با فرآیندهای تولیدمثلی نقش دارند.

واژه‌های کلیدی: باروری، بز، داده‌های ترانسکریپتومی، فاز فولیکولی، مجرای تخمدان

* نویسنده مسئول: hmoradis@ut.ac.ir

مقدمه

نشانه‌های زیستی یا اهداف درمانی بالقوه در بهبود باروری مورد توجه قرار گیرند.

مطالعات پیشین روی مجرای تخمدان، رحم و محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گناد(HPG)، مجموعه‌ای از ژن‌ها و مسیرهای سیگنالینگ را معرفی کرده‌اند که در تنظیم فرآیندهای تولیدمثلی مانند فولیکولوژن و بلوغ اووسیت نقش اساسی دارند (Chang et al., 2011; Miller & Auchus, 2011).

(al., 2017) علاوه بر ژن‌های کدکننده، RNAهای غیرکدکننده نیز به‌عنوان تنظیم‌کننده‌های کلیدی در این مسیرها شناخته شده‌اند (Pan et al., 2012). به‌عنوان مثال، ژن‌های *BMP-15*، *GDF9*، *BMPRI1* و *CDC25C* در بافت‌های تولیدمثلی بز بیان بالایی دارند و نقش مستقیم در بهبود عملکرد باروری ایفا می‌کنند (Wang et al., 2021).

(2021 همچنین، ژن‌های خاصی مانند *FecB* (Booroola) که نرخ تخمک‌گذاری را افزایش می‌دهند، اهمیت ژنتیکی بارزی در تولیدمثل بزها دارند (Menchaca et al., 2002).

یافته‌های حاصل از توالی‌یابی کل رونویسی اخیر نیز بر نقش حیاتی ncRNA و miRNA در تنظیم پیچیده تولیدمثل پستانداران تأکید دارد (Wang et al., 2020; Liu & Fang, 2022; Sun et al., 2022; Zhao et al., 2023).

در میان انواع متعدد داده‌های بیان ژن، داده‌های RNA-seq به سبب پربونداد بودن و شامل شدن توالی نواحی رونویسی شده و پوشش دادن همه این نواحی، دارای مزیت زیادی نسبت به سایر انواع داده‌ها هستند. در سال‌های اخیر، امکانات رایانه‌ای، تجزیه این حجم از داده‌ها را در زمان و با هزینه کم امکان‌پذیر ساخته است. از مزایای استفاده از داده‌های RNA-seq شناسایی ژن‌های جدید است (Gan et al., 2010; Tohidi Nezhad et al., 2015). اساس این روش براساس برش کل ترانسکرپتوم (mRNA) به قطعات کوچک و سپس، توالی‌یابی همه این قطعات است (Haas & Zody, 2010). از این‌رو، از روی تعداد خوانش‌های مکان‌یابی شده برای یک ناحیه خاص می‌توان به یک معیار دقیق از میزان رونویسی آن ناحیه رسید (Eklom & Wu et al., 2020; Galindo, 2011). شاخص بیان ژن یا به عبارت دیگر، معیار بیان ژن در این روش، محاسبه تعداد خوانش یا قطعه در حد کیلو باز به‌ازای هر یک میلیون خوانش مکان‌یابی شده (FPKM) است (Mostert et al., 2018)، که این شاخص برای طول ژن و تعداد کل خوانش‌های مکان‌یابی شده در هر نمونه تصحیح شده و

گونه بز (*Capra hircus*) برای مدت طولانی برای رفع نیاز انسان به گوشت پرورش داده شده است (Shah et al., 2019). باروری بالای بزها، یک ویژگی اقتصادی کلیدی است که تأثیر مستقیمی بر بازده تولید در صنعت پرورش بز دارد. بسیاری از نژادهای بز در هر بار زایمان از نظر تعداد، یک یا دو بزغاله دارند که با افزایش تعداد بزغاله در هر زایمان به همان نسبت، مقدار تولید گوشت، شیر و سایر محصولات مربوط به آن افزایش پیدا می‌کند (Liu et al., 2021).

مجرای تخمدان، به‌عنوان مسیر اصلی انتقال گامت‌ها، نقشی کلیدی در باروری پستانداران دارد و محیط مناسبی را برای بلوغ تخمک، ظرفیت‌سازی اسپرم، لقاح، و انتقال اولیه جنین فراهم می‌کند (Hunter, 2012). فاز فولیکولی که با افزایش سطح هورمون محرک فولیکول (FSH) و رشد فولیکول‌های غالب همراه است، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است؛ چرا که نقش مهمی در بلوغ اووسیت و قابلیت باروری دارد (Ganguly et al., 2013). مطالعات اخیر با استفاده از RNA-Seq در بز نشان داده‌اند که پروتئین‌ها و ژن‌های خاصی در فاز فولیکولی فعال می‌شوند که به ظرفیت‌سازی اسپرم، تنظیم میکرو محیط لومن و تسهیل لقاح کمک می‌کنند (Wang et al., 2021). به همین دلیل، بررسی الگوی بیان ژن‌ها در این فاز و در نژادهای مختلف بز می‌تواند اطلاعات مهمی در زمینه ژن‌های کلیدی مرتبط با باروری فراهم کند.

مطالعه ژن‌ها و پروتئین‌های مرتبط با صفات اقتصادی، از جمله باروری، یکی از بخش‌های کلیدی در بهبود عملکرد حیوانات اهلی محسوب می‌شود (Abdoli et al., 2016). بیان ژن، به‌عنوان سازوکاری پیچیده و دقیق، تعیین‌کننده نحوه بروز فنوتیپ از ژنوتیپ است و تغییرات در این فرآیند می‌تواند به شکل‌گیری صفات متفاوت در تولیدمثل منجر شود (Banabazi et al., 2012). در زمینه تولیدمثل، نقش حیاتی miRNA در تنظیم فرآیندهای کلیدی تخمدان مانند فولیکولوژن، بلوغ تخمک، عملکرد جسم زرد و پسرقت آن به‌خوبی اثبات شده است (Otsuka et al., 2008; Sheedy et al., 2010; McBride et al., 2012). این مولکول‌های کوچک تنظیم‌کننده می‌توانند به‌عنوان

سه‌ساله نژاد یوشانگ که به‌وسیله دانشگاه کشاورزی چین با استفاده از پلتفرم Illumina NovaSeq 6000 توالی‌یابی شده بودند، مورد استفاده قرار گرفتند. این داده‌ها در تاریخ ۱۴ جولای ۲۰۲۲ در پایگاه اطلاعاتی NCBI با شناسه SRA: SRX16018857 منتشر شده‌اند.

شش نمونه مربوط به فاز فولیکولی چرخه فحلی استخراج و در دو گروه باروری بالا (FH) و باروری پایین (FL) تقسیم‌بندی شدند. این گروه‌بندی مطابق تعریف مقاله Sun et al. (2022) بر اساس تعداد واقعی بزغاله در زایش‌های قبلی صورت گرفته است. باروری بالا (High fecundity) به معنی بزهایی که در زایش‌های قبلی، دو یا چند بزغاله به دنیا آورده‌اند و باروری پایین (Low fecundity)، بزهایی که در زایش فقط یک بزغاله داشته‌اند است.

تمامی مراحل آماده‌سازی و تحلیل داده‌های توالی‌یابی، در محیط گرافیکی سیستم عامل لینوکس (Ubuntu v21.04، نسخه ۶۴ بیتی) و در بستر کاملاً مستقل از سرور، روی یک رایانه شخصی اجرا شد. در گام نخست، فایل‌های اولیه با فرمت SRA با استفاده از نرم افزار SRA Toolkit v2.10.2 به فرمت FASTQ تبدیل شدند. کیفیت‌سنجی داده‌ها به کمک نرم افزار FastQC v0.11.9 و با بهره‌گیری از رابط گرافیکی آن در محیط Java انجام گرفت. این ارزیابی شامل ۱۰ آزمون اصلی از جمله کیفیت بارها، امتیاز کیفیت توالی، محتوای نوکلئوتیدی، درصد GC، درصد بازهای N، توزیع طول توالی، میزان تکرار توالی‌ها، فراوانی توالی‌های پرتکرار و وجود آداپتورها بود (Simon Andrews et al., 2010).

بر اساس نتایج کیفیت‌سنجی، در صورت نیاز، اصلاح و پاک‌سازی داده‌های paired-end با نرم افزار Trimmomatic v0.39 انجام شد که برای داده‌های تولید شده با پلتفرم Illumina بهینه‌سازی شده است (Bolger et al., 2014). پس از پاک‌سازی، داده‌ها مجدداً با FastQC مورد ارزیابی کیفیت قرار گرفتند.

برای مرحله هم‌ردیفی، فایل‌های ژنوم مرجع بز به‌همراه فایل حاشیه‌نویسی مرتبط از پایگاه داده NCBI (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCF_001704415.2) دریافت شد. ژنوم مورد استفاده، نسخه ARS1 ارائه شده به‌وسیله USDA ARS در سال ۲۰۱۶ است که از تجمیع ۲۹۹۰۶ داربست، ۶۰ کروموزوم تشکیل داده و طول آن برابر با ۲,۹۲۲,۷۵۸,۴۱۶ باز است.

مقادیر برآورد شده برای ژن‌های مختلف با هر طول و تعداد خوانش قابل مقایسه و آزمون است (Gholami Tahoone & Moradi SharBabak, 2022).

بز یوشانگ سیاه (Yunshang black goat) اولین نژاد رسمی بز سیاه در چین است که به‌دلیل عملکرد تولیدمثلی بالا به‌عنوان یکی از منابع ژنتیکی ارزشمند در برنامه‌های اصلاح نژاد شناخته می‌شود. این نژاد دارای نرخ چندقلوزایی بسیار بالایی است؛ میانگین تعداد بزغاله‌های متولدشده در هر زایش حدود ۲/۷ رأس است، یعنی به‌طور معمول بیش از دو بزغاله در هر زایش به دنیا می‌آید. این نشان می‌دهد که بیش از ۷۰ درصد از زایش‌ها، چندقلوزا (دوقلو یا بیشتر) هستند، که این میزان به‌طور قابل توجهی بالاتر از نژادهای معمولی بز است که معمولاً نرخ چندقلوزایی کمتر از ۵۰ درصد دارند (Wang et al., 2021; Sun et al., 2022). علاوه بر نرخ زایش بالا، بز یوشانگ از نظر بلوغ جنسی زودرس (در حدود ۷ تا ۸ ماهگی)، توانایی داشتن دو دوره زایش در سال و بازده اقتصادی قابل توجه نسبت به سایر نژادها مانند Dazhu black goat، Baiyu یا نژادهای بومی جنوب آسیا، برتری دارد. بر همین اساس، مطالعه دقیق بیان افتراقی ژن‌ها در مجرای تخمدان بز یوشانگ می‌تواند مسیرهای ژنتیکی مؤثر بر صفات باروری را شناسایی کرده و در ارتقاء عملکرد تولیدمثل در جمعیت‌های بز در سطح جهان نقش داشته باشد (Liu & Fang, 2022; Sun et al., 2022).

همان‌طور که بیان شد مجرای تخمدان دارای نقش مؤثری در فرایند باروری و تولد دام است و از مسیر بهبود ژنتیکی می‌توان عملکرد مناسبی در این زمینه ایجاد کرد که با این حال، اطلاعات در مورد هویت و نقش ژن‌های مرتبط با باروری هنوز در بز نسبتاً محدود است (Ling et al., 2015). از این‌رو، هدف این پژوهش، شناسایی ژن‌های مربوط به مجرای تخمدان در دو گروه بز با میزان باروری پایین (فقط یک بزغاله) و باروری بالا (زایمان دو یا چند بزغاله) است، که در نهایت با تجزیه هستی‌شناسی ژن‌های شاخص، بتوان مسیرهای متابولیکی و فعالیت‌های مولکولی درگیر در مراحل آبستنی را شناسایی نمود.

مواد و روش‌ها

برای بررسی الگوهای بیان ژنی در بافت مجرای تخمدانی، داده‌های RNA-seq مربوط به ۱۲ نمونه از بزهای ماده

نمونه بسیار عالی است و نیز در آزمون محتوای آداپتوری، محور افقی نمودار بیانگر موقعیت هر جفت باز روی خوانش و محور عمودی بیانگر درصد محتوای آداپتوری در طول خوانش است که طبق راهنمای رنگ خطوط روی نمودار، آلودگی آداپتوری وجود ندارد. با در نظر گرفتن حداقل طول خوانش ۵۰ جفت باز، استفاده از توالی آداپتوری مربوطه در هنگام ویرایش، با سنجش کنترل کیفیت پس از ویرایش مشخص شد که ۴۲ تا ۵۸ میلیون خوانش با کیفیت مناسب برای نمونه باقیمانده و کمتر از ۱۰ درصد از کل خوانش‌ها کنار گذاشته شد و نیز آلودگی آداپتوری پاکسازی شد و تنها خط افقی بنفش رنگ قابل رویت شد.

طبق اطلاعات خروجی در انتهای تجزیه هم‌ردیفی و مکان-یابی خوانش‌ها روی ژنوم مرجع، میانگین درصد مکان‌یابی خوانش‌ها بیش از ۹۰ درصد و خوانش‌های با محل هم-ردیفی چندگانه کمتر از یک درصد بودند و با تشکیل پروفایل بیان ژن برای هر یک از گروه‌ها و نیز تجزیه بیان افتراقی بین دو گروه درصد باروری بالا و پایین بافت مجرای تخمدان در فاز فولیکول، در نهایت با تجزیه تحلیل نتایج خروجی حاصل در مقایسه بین دو گروه، ۶۹۰۰۵ شناسه ژن شناسایی شد که از این میان ۵۷ شناسه ژن با بیان متفاوت مشخص شد ($P < 0.05$). در ادامه و به‌علت زیاد بودن تعداد ژن‌های با بیان متفاوت، برای رسیدن به ژن‌های شاخص‌تر و رسیدن به تصویر مناسبی از تغییرات بیان در مقایسه بین دو گروه، تنها ژن‌های با $\log_2(\text{change_fold})$ بیشتر از ۳+ و کمتر از ۳- برای مطالعه انتخاب شدند، که ۲۲ ژن را شامل شد. جدول ۱، فهرست این ژن‌ها به‌همراه شناسه ژن، نام اختصاری، موقعیت کروموزومی و نوکلئوتیدی و نیز q -value مربوطه را نشان می‌دهد.

نمودار هیستوگرام ژن‌های شاخص مورد مطالعه ترسیم شد. در نمودار هیستوگرام، محور افقی شامل ژن‌های شاخص مورد مطالعه ($\log_2 > 3$ & $\log_2 < -3$) و محور عمودی بیانگر شاخص قطعات کیلوباز ترانسکرپت در هر میلیون خوانش مکان‌یابی شده (FPKM)، بیانگر میانگین میزان بیان هر ژن با مقایسه واحد در هر یک از گروه‌ها است که به‌کمک این نمودار می‌توان هر ژن را هم‌زمان از نظر میزان بیان در هر یک از گروه‌ها مقایسه کرد.

با توجه به اطلاعات مورد نمایش در نمودار هیستوگرام می‌توان پی برد که بیشترین بیان در گروه باروری پایین مربوط به ژن‌های *LGALS16*، *LGALS15* و *UI* است و

جهت آماده‌سازی ژنوم مرجع برای هم‌ردیفی، ایندکس‌سازی آن با نرم افزار Hisat2 v2.2.1 انجام گرفت و هشت فایل ایندکس تولید شد. برای افزایش دقت نقشه‌یابی، علاوه بر این فایل‌ها، فایل حاشیه‌نویسی ژنومی نیز در فرآیند هم‌ردیفی به‌کار گرفته شد. سپس، با استفاده از همان نرم‌افزار، خوانش‌های پاک‌سازی‌شده روی ژنوم مرجع هم‌ردیف شدند (Marguerat & Bähler, 2010). در ادامه، خروجی‌های فرمت SAM به فرمت BAM تبدیل شده و با کمک بسته نرم افزاری Samtools، مرتب‌سازی، ایندکس‌گذاری و آماده‌سازی برای مراحل بعدی انجام گرفت. جهت مونتاژ ترانسکرپتوم‌ها از ابزار Cufflinks v2.2.1 بهره‌گیری شد و پس از مونتاژ مستقل هر نمونه، فایل‌های ترانسکرپتومی تولید شده با نرم افزار Cuffmerge جمع شده و به یک فایل مرجع یکپارچه تبدیل شدند (Trapnell et al., 2012).

برای تحلیل بیان تفاضلی ژن‌ها بین نمونه‌ها، نرم‌افزار Cuffdiff با در نظر گرفتن آستانه معنی‌داری آماری ($P < 0.05$) مورد استفاده قرار گرفت. در پایان، برای نمایش نتایج به‌شکل نمودار و گراف، از بسته CummeRbund در محیط نرم افزار R استفاده شد و تحلیل‌های هستی‌شناسی ژنی و مسیرهای زیستی مرتبط با ژن‌های دارای بیان متفاوت با بهره‌گیری از پایگاه‌های GENECARD (<https://www.genecards.org>) و DAVID (<https://david.ncifcrf.gov/>) انجام شد.

نتایج و بحث

پس از تبدیل فرمت داده‌ها و انجام کنترل کیفیت اولیه، بر اساس گزارش آماری حاصل از نرم‌افزار FastQC، تعداد خوانش‌های حاصل از هر نمونه بین ۵۰ تا ۶۶ میلیون جفت‌خوانش با طول ۱۵۰ جفت‌باز (paired-end) به‌دست آمد. در آزمون بررسی کیفیت تک‌نوکلئوتیدی، نمودار کیفیت نشان داد که بیشتر بازها دارای نمره Phred بالاتر از ۲۸ بودند (در ناحیه سبز نمودار)، که این مقدار نشان‌دهنده کیفیت بسیار مطلوب داده‌ها است.

در آزمون کنترل کیفیت تک‌نوکلئوتیدی، محور افقی نمودار بیانگر موقعیت هر جفت باز روی خوانش و محور عمودی بیانگر نمره فرید (score phred) است که نمونه با نمره بالاتر از ۲۸ (منطقه سبز) به‌عنوان نمونه با کیفیت بالا تلقی می‌شود که طبق گراف مربوط به نمونه موردنظر، کیفیت

۲۲ ژن، سه شناسه ژن *XLOC_067757*، *XLOC_035338* و *XLOC_032001* هنوز در گونه بز نام گذاری نشده‌اند و در نتیجه، اطلاعاتی از آن‌ها در دسترس نیست.

همچنین، بیشترین بیان در گروه باروری بالا مربوط به شناسه ژن *XLOC_035333* است. همچنین، شناسه ژن *XLOC_019343* در هر دو گروه باروری بالا و پایین شدت رنگی بالایی را نشان می‌دهد (شکل ۲). همچنین، از میان

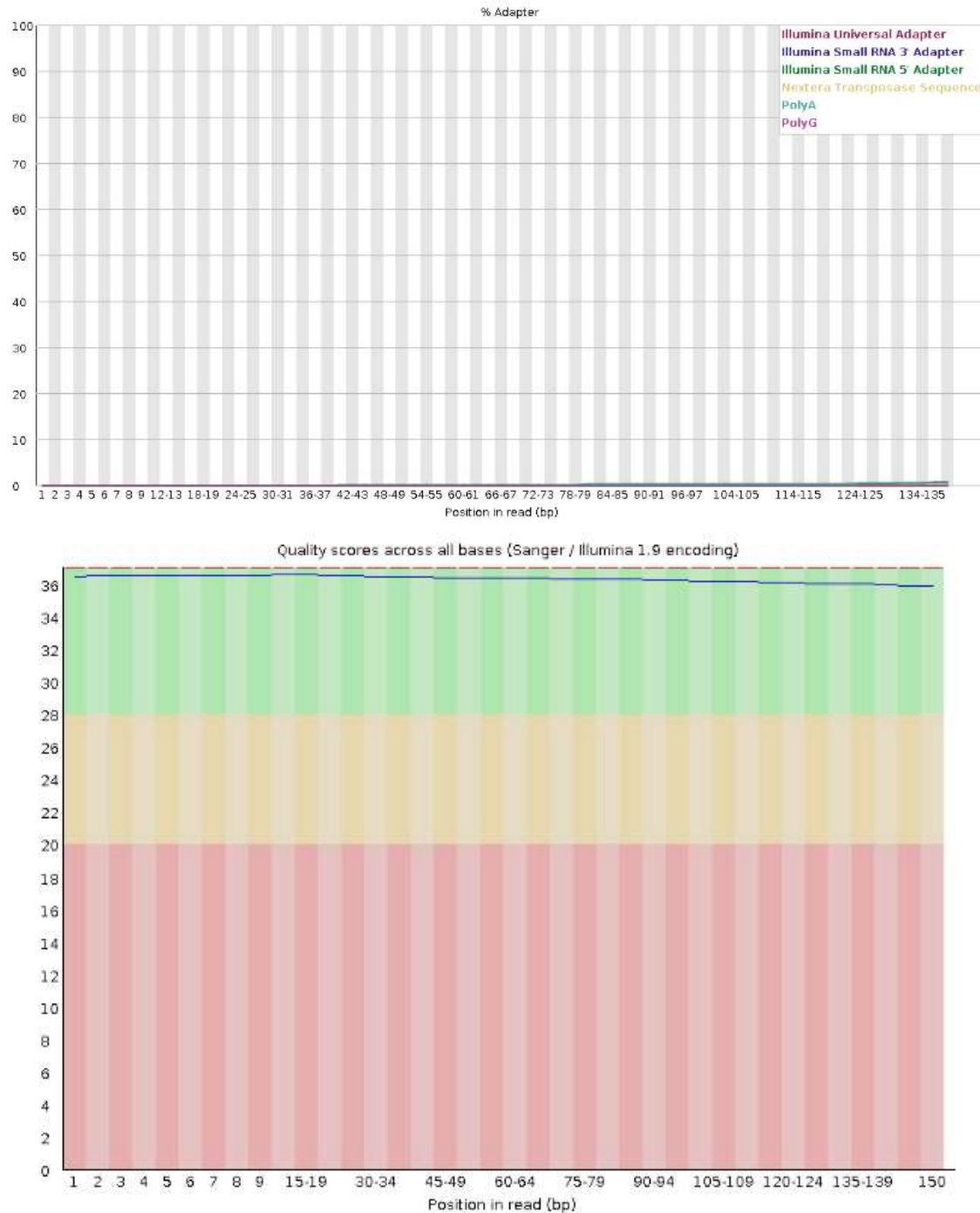


Fig. 1. Per base sequence quality (below) and adapter content (up) related to "SRR19959664" sample
شکل ۱- آزمون کنترل کیفیت تکنوکلوتیدی (پایین) و آزمون محتوای آداپتوری (بالا) مربوط به نمونه SRR19959664

جدول ۱- شناسه، نام اختصاری، جایگاه و ارزش q ژن‌های شاخص متفاوت بیان‌شده بین دو گروه

Table 1. Identifier, abbreviated name, position, and q -value of indicator genes differentially expressed between two groups

Gene_id	Gene name	Locus	q -value
XLOC_035338	-	24:43016211-43026252	0.0001
XLOC_025703	SERPINE2	2:23610609-23679058	5.00E-05
XLOC_030623	ENSCHIG00000006729,ENSCHIG00000009484, ,ENSCHIG000000012975,ENSCHIG000000014983,	21:68974192-69206057	5.00E-05
XLOC_060628	PRSS35	9:10721343-10739098	5.00E-05
XLOC_055837	FBN2	7:84898762-85125324	5.00E-05
XLOC_013191	CA2	14:5152512-5170730	5.00E-05
XLOC_026036	CDCA7	2:112922227-112962593	5.00E-05
XLOC_028973	PRLR	20:38891648-39090291	5.00E-05
XLOC_049180	BCAT1	5:83672391-83795668	5.00E-05
XLOC_062856	NDP	LWLT01000021.1:28046844- 28094160	5.00E-05
XLOC_038188	SLC16A12	26:40165792-40251454	5.00E-05
XLOC_019343	ENSCHIG00000003453,ENSCHIG00000009275	17:187881-264315	5.00E-05
XLOC_058036	RORB	8:50398449-50618268	5.00E-05
XLOC_032058	OXTR	22:17594804-17607868	5.00E-05
XLOC_067757	-	LWLT01002115.1:8198-9244	5.00E-05
XLOC_016264	MMP12	15:76670034-76683717	5.00E-05
XLOC_032001	-	22:12487462-12493848	5.00E-05
XLOC_054860	CXCL14	7:63440779-63449449	5.00E-05
XLOC_013582	CDH17	14:12030863-12115029	5.00E-05
XLOC_067360	ENSCHIG00000000301	LWLT01000990.1:2634- 24844	5.00E-05
XLOC_020893	LGALS15,LGALS16	18:50090864-50159985	5.00E-05
XLOC_030881	U1	21:44390267-44405776	5.00E-05

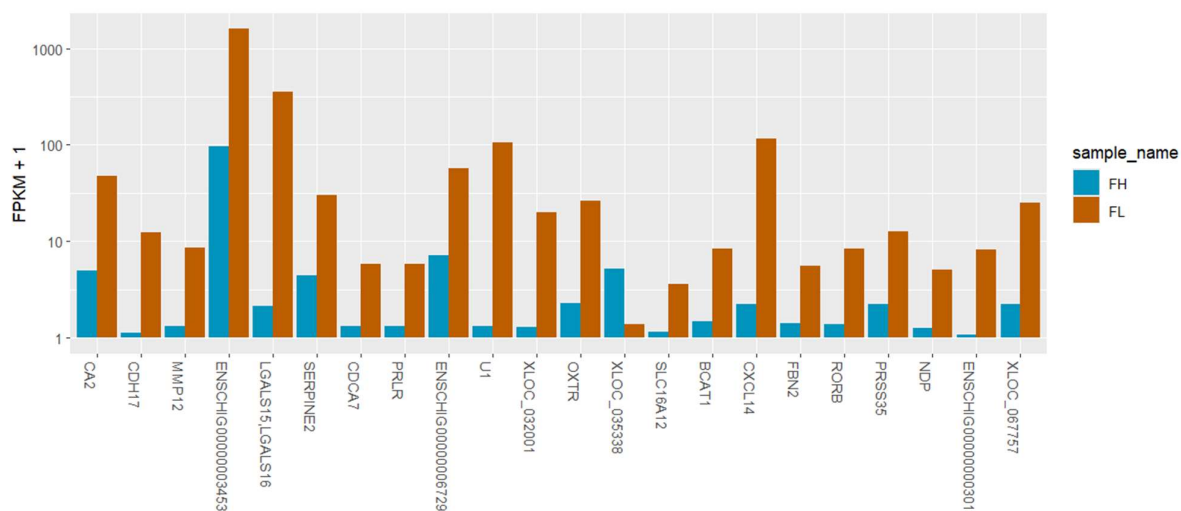


Fig. 2. Histogram plot of differential indicator genes expression between two groups (high fertility= FH, low fertility= FL)

شکل ۲- نمودار هیستوگرام مقایسه تفاوت بیان ژن‌های شاخص بین دو گروه (گروه باروری بالا = FH و گروه باروری پایین = FL)

بیماری‌های جفتی باشد. گیرنده پرولاکتین (PRLR) نیز که در مسیرهای سیگنالینگ JAK-STAT و PI3K-Akt نقش کلیدی دارد، در تنظیم تکثیر و تمایز سلول‌های اپیتلیال مجرای تخمدان مؤثر است و تغییرات بیان آن در فازهای مختلف چرخه تولیدمثلی گزارش شده است (Morammazi et al., 2016). ژن *RORB* که در تنظیم ریتم شبانه‌روزی و پاسخ به محرک‌های نوری دخیل است، ممکن است از راه تأثیر بر سازگاری فیزیولوژیکی بافت مجرای تخمدان در باروری نقش داشته باشد (Peng et al., 2025).

ژن‌های دیگری نیز در مسیرهای زیستی مرتبط با باروری شناسایی شدند؛ به‌عنوان مثال، *BCAT1* که آنزیم آمینوترانسفراز شاخه‌ای است و در کاتابولیسم آمینو اسیدهای شاخه‌دار نقش دارد، در تولید پروتئین‌های شیری و پاسخ التهابی جفت دخیل است (Hayes et al., 2000; Xu et al., 2024). همچنین، ژن *FBN2* در مورفوژنز جنینی و *OXTR* در مراحل آبستنی اهمیت دارد. بیان تغییرپذیر *OXTR* در ساختار و عملکرد دهانه رحم بز طی فاز فولیکولی و بارداری نشان‌دهنده سازگاری ساختاری در چرخه تولیدمثلی است (Kanthawat et al., 2024).

از نظر نقش ایمنی و تنظیم رشد، گروه ژن‌های گالکتین شامل *LGALS15* که در رحم بز بیان منحصر به فرد دارد و نقش مهمی در اتصال تروفوبلاست ایفا می‌کند، به‌همراه ژن *CXCL14* که در جذب لکوسیت‌ها و تنظیم پاسخ ایمنی شناخته شده است، مورد توجه قرار گرفته‌اند (Kuang et al., 2018; Ely et al., 2009). مطالعات RNA-seq اخیر نیز نشان داده‌اند که این ژن‌ها در بازسازی آندومتر، لانه‌گزینی جنین و تشکیل جفت دخالت دارند (Zhao et al., 2023).

در زمینه تنظیم تعادل اسید-باز و فرآیندهای باروری، پروتئین کدگذاری شده به‌وسیله ژن *CA2*، به‌عنوان یکی از ایزوآنزیم‌های کربنیک انیدراز، نقش حیاتی در هیدراتاسیون دی‌اکسیدکربن و هموستاز بی‌کربنات دارد. این عملکرد برای تنظیم pH و فراهم کردن شرایط مناسب برای ظرفیت‌سازی و واکنش آکروزوم اسپرم در مجرای تخمک ضروری است.

مطالعات توالی‌یابی کل رونویسی (RNA-Seq) در تخمدان بزهای سفید چونگ‌مینگ در فاز فحلی، بیان هزاران رونوشت دیفرانسیل شامل mRNA، lncRNA، circRNA و

با توجه به تجزیه هستی‌شناسی و نیز اطلاعات حاصل از نمودارهای هیستوگرام، شاخص‌ترین ژن از نظر میزان بیان در بین هر دو گروه، شناسه ژن *XLOC_019343* است که در گروه باروری پایین، بیشتر بیان شده است.

در رابطه با گروه باوری بالا، ژن‌های *CDH17*، *BCAT1*، *RORB*، *PRLR*، *NDP*، *MMP12*، *FBN2*، *CDC47*، *SLC16A12*، *U1* و *XLOC_032001* کمترین بیان و ژن‌های *XLOC_030623*، *XLOC_067757*، *CA2*، *XLOC_035338*، *LGALS15*، *CXCL14*، *OXTR*، *PRSS35* و *SERPINE2* بیشترین بیان را دارند.

در این مطالعه، بررسی بیان افتراقی ژن‌ها در بافت مجرای تخمدان بز در فاز فولیکولی با هدف شناسایی مولکول‌های مؤثر بر باروری انجام شد. ژن‌های *NDP* و *SLC16A12* که در گروه با باروری بالا، کمترین میزان بیان را نشان دادند، از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند. اطلاعات عملکردی استخراج شده از پایگاه DAVID نشان می‌دهد که ژن *SLC16A12* در فرآیند انتقال اسیدهای مونوکربوکسیلیک و جایجایی غشایی نقش دارد و بیان آن در بافت‌های کلیه و شبکه قبلاً گزارش شده است (Abplanalp et al., 2013). ژن *NDP* نیز کدکننده آنزیم نوکلئوزید دی‌فسفات کیناز است که در ساخت نوکلئوتیدها نقش دارد و برخی از ایزوفرم‌های آن با تاژک‌های اسپرم مرتبط شناخته شده‌اند (Ikeda, 2010). کاهش بیان این دو ژن در نمونه‌های با باروری بالا می‌تواند نمایانگر تنظیم دقیق مسیرهای متابولیکی و مولکولی باشد که به بهینه‌سازی محیط مجرای تخمدان و افزایش عملکرد باروری منجر می‌شود.

در مقابل، بیان سه ژن *PRLR*، *MMP12* و *RORB* در گروه با باروری پایین مشابه بود. سلول تخمک به‌وسیله چندین لایه سلولی احاطه شده است، منطقی به‌نظر می‌رسد که مسیرهای سیگنال‌رسانی و ارتباطی بین تخمک و محیط پیرامون، تأثیر زیادی بر رشد فولیکول و فرآیند تخمک‌گذاری داشته باشد (Esmaeili Fard et al., 2019). ژن *MMP12* با فعالیت متالوآنندوپتیدازی خود در مسیر سیگنالینگ هیپوکسی-HIF-KDM3A نقش دارد و در کنترل تهاجم تروفوبلاست و بازسازی شریان‌های ماریپیچی رحمی مؤثر است (Chakraborty et al., 2016). حفظ این مسیر تنظیمی برای سازگاری جفت با شرایط محیطی حیاتی است و اختلال در آن می‌تواند منشأ برخی

تنظیمات مولکولی باروری فراهم کرده و می‌تواند به بهبود عملکرد تولیدمثلی در بزها کمک کند.

نتیجه‌گیری کلی

۲۲ ژن شاخص در رابطه با باروری بالا و پایین روی ترانسکریپتوم نمونه‌ها مشخص شد. بیشترین بیان در گروه باروری پایین مربوط به ژن‌های *LGALS15*، *LGALS16* و *UI* است و همچنین، بیشترین بیان در گروه باروری بالا مربوط به شناسه ژن *XLOC_03533* است. شاخص‌ترین ژن از نظر میزان بیان در بین هر دو گروه، دارای شناسه ژن‌های *XLOC_019343* است که در گروه باروری پایین بیشتر بیان شده است. ژن‌های *LGALS15*، *LGALS16* و *UI* بین دو گروه، بالاترین تفاوت بیان را داشته و نیز در گروه باروری پایین، بیشتر بیان شده است. این ژن‌ها در فرآیندهایی مانند ایجاد بارداری، بازسازی آندومتر، لانه‌گزینی جنین و تشکیل جفت، تنظیم PH مجرای تخمدان برای ورود اسپرم، جلوگیری از برخی از بیماری‌های جفت، پاسخ التهابی پاتولوژیک، سازگاری ساختاری و عملکردی برای فرآیندهای تولیدمثلی و تنظیم دوران آبستنی نقش داشتند. تخمدان‌ها، اندام‌های تولیدمثلی مهمی در پستانداران ماده هستند که مستقیماً بر چرخه فحلی و توانایی‌های تولیدمثلی تأثیر می‌گذارند. با این حال، سازوکارهای مولکولی آن تا حد زیادی ناشناخته باقی‌مانده است. نتایج این بررسی می‌تواند اطلاعات تکمیلی برای درک ارتباط بین ژن‌های موثر و مسیرهای آن‌ها روی تأثیر نرخ باروری در بز یوشانگ را فراهم نماید که به سایر نژادهای بز قابل تعمیم است.

miRNA را نشان داده‌اند که در مسیرهای سیگنالینگ پرولاکتین، JAK-STAT، GnRH و مسیرهای متابولیک متعدد غنی شده‌اند. ژن‌هایی مانند *PRLR* و miRNAهایی همچون miR-10a-5p نقش کلیدی در تنظیم عملکرد تخمدان در این فاز ایفا می‌کنند (Lin et al., 2024). علاوه بر این، تحلیل‌های ceRNA و شبکه‌های برهمکنش RNA نشان داد که مسیرهای مرتبط با رشد جنینی و تکثیر سلولی مانند مسیر سیگنالینگ TGF- β ، پروتئین‌های SMAD3 و TOB1/TOB2 از مسیر miRNAها تنظیم می‌شوند (Liu et al., 2025).

در مطالعه‌ای روی بزهای یوشانگ، اطلس جامعی از circRNA در مجرای تخمک در فازهای فولیکولی، لوتئال و چرخه فحلی ایجاد شد. تحلیل‌های GO و KEGG نشان دادند که ژن‌های میزبان این circRNAها در فرآیندهای مهم تولیدمثل مانند ترشح هورمون، تولید گامت، لقاح و رشد جنین نقش دارند. شبکه تعاملات RNA (ceRNA) بیش از ۲۶۷۰ محور circRNA-miRNA-mRNA را شناسایی کرد که شامل ژن‌های کلیدی مثل *SMAD1B*، *BMP2K* و *IGF1* مانند miR-15a-5p است. همچنین، circRNA جدید circIQCG به‌عنوان عامل بالقوه‌ای در رشد جنین معرفی شده است (Sun et al., 2022).

این نتایج با یافته‌های مطالعه حاضر که بیان دیفرانسیل ژن‌ها و مسیرهای سیگنالینگ مرتبط با باروری در مجرای تخمدان بز را نشان می‌دهد، هم‌راستا است. شناسایی این RNAها و تعاملات آن‌ها، بینشی جامع‌تر نسبت به

فهرست منابع

- Abdoli, R., Zamani, P., Mirhosseini, S. Z., Ghavi Hossein-Zadeh, N., & Nadri, S. (2016). A review on prolificacy genes in sheep. *Reproduction in Domestic Animals*, 51, 631-637. doi: 10.1111/rda.12733
- Abplanalp, J., Laczko, E., Philp, N. J., Neidhardt, J., Zuercher, J., Braun, P., Schorderet, D. F., Munier, F. L., Verrey, F., & Berger, W. (2013). The cataract and glucosuria associated monocarboxylate transporter MCT12 is a new creatine transporter. *Human Molecular Genetics*, 22(16), 3218-3226. doi: 10.1093/hmg/ddt175
- Banabazi, M., Naserkheil, M., & Miraei-Ashtiani, R. (2012). Algorithm to identify genes expressed differently in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* microarray data using software packages R. The third National Conference on Agricultural Biotechnology. Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran. [In Persian]
- Bolger, A. M., Lohse, M., & Usadel, B. (2014). Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*, 30(15), 2114-2120. doi: 10.1093/bioinformatics/btu170
- Chakraborty, D., Cui, W., Rosario, G. X., Scott, R. L., Dhakal, P., Renaud, S. J., Tachibana, M., Rumi, M. K., Mason, C. W., & Krieg, A. J. (2016). HIF-KDM3A-MMP12 regulatory circuit ensures trophoblast

- plasticity and placental adaptations to hypoxia. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(46), E7212-E7221. doi: 10.1073/pnas.1612626113
- Chang, H.-M., Qiao, J., & Leung, P. C. (2017). Oocyte–somatic cell interactions in the human ovary—novel role of bone morphogenetic proteins and growth differentiation factors. *Human Reproduction Update*, 23(1), 1-18. doi: 10.1093/humupd/dmw039
- Ekblom, R., & Galindo, J. (2011). Applications of next generation sequencing in molecular ecology of non-model organisms. *Heredity*, 107(1), 1-15. doi: 10.1038/hdy.2010.152
- Ely, Z. A., Moon, J. M., Sliwoski, G. R., Sangha, A. K., Shen, X.-X., Labella, A. L., Meiler, J., Capra, J. A., & Rokas, A. (2018). The impact of natural selection on the evolution and function of placentally expressed galectins. *bioRxiv*, 505339. doi: 10.1101/505339
- Esmaili Fard, S., Hafezian, S., Gholizadeh, M., & Abdolahi Arpanahi, R. (2019). Gene set enrichment analysis using genome-wide association study to identify genes and biological pathways associated with twinning in Baluchi sheep. *Animal Production Research*, 8(2), 63-80.
- Gan, Q., Chepelev, I., Wei, G., Tarayrah, L., Cui, K., Zhao, K., & Chen, X. (2010). Dynamic regulation of alternative splicing and chromatin structure in *Drosophila* gonads revealed by RNA-seq. *Cell Research*, 20(7), 763-783. doi: 10.1038/cr.2010.64
- Ganguly, A., Meur, S. K., & Ganguly, I. (2013). Changes in circulatory FSH of Barbari goats following treatment with high molecular weight inhibin isolated from buffalo follicular fluid. *Research in veterinary science*, 95(2), 374-380. doi: 10.1016/j.rvsc.2013.03.01
- Gholami Tahoone, M., & Moradi SharBabak, H. (2022). Differential genes expression of blood tissue related to pre-calving ketosis in holstein cow using transcriptomics data. *Research on Animal Production*, 13(36), 147-153. [In Persian]
- Haas, B. J., & Zody, M. C. (2010). Advancing RNA-seq analysis. *Nature biotechnology*, 28(5), 421-423. doi: 10.1038/nbt0510-421
- Hayes, H., Bonfils, J., Faure, M., & Papet, I. (2000). Assignment [sup 1] of BCAT1, the gene encoding cytosolic branched chain aminotransferase, to sheep chromosome band 3q33 and to cattle and goat chromosome bands 5q33 by in situ hybridization. *Cytogenetics & Cell Genetics*, 90. doi: 10.1159/00001566.
- Hunter, R. (2012). Components of oviduct physiology in eutherian mammals. *Biological Reviews*, 87(1), 244-255. doi: 10.1111/j.1469-185X.2011.00196.x
- Ikeda, T. (2010). NDP kinase 7 is a conserved microtubule-binding protein preferentially expressed in ciliated cells. *Cell Structure and Function*, 35(1), 23-30. doi: 10.1247/csf.09016
- Kanthawat, S., Srisuwatanasagul, K., Thatsanabunjong, F., Chaivoravitsakul, N., Panyaboriban, S., & Srisuwatanasagul, S. (2024). Morphophysiological assessment of the cervix during the reproductive cycle and early pregnancy in does using computed tomography and oxytocin receptor immunohistochemistry. *Animals*, 14(19), 2793. doi: 10.3390/ani14192793
- Kuang, H., Chen, Q., Fan, X., Zhang, Y., Zhang, L., Peng, H., Cao, Y., & Duan, E. (2009). CXCL14 inhibits trophoblast outgrowth via a paracrine/autocrine manner during early pregnancy in mice. *Journal of Cellular Physiology*, 221(2), 448-457. doi: 10.1002/jcp.21877
- Lin, Y., Sun, L., Dai, J., Lv, Y., Liao, R., Shen, X., & Gao, J. (2024). Characterization and Comparative Analysis of Whole-Transcriptome Sequencing in High-and Low-Fecundity Chongming White Goat Ovaries during the Estrus Phase. *Animals*, 14(7), 988. doi: 10.3390/ani14070988
- Ling, Y., Quan, Q., Xiang, H., Zhu, L., Chu, M., Zhang, X., & Han, C. (2015). Expression profiles of differentially expressed genes affecting fecundity in goat ovarian tissues. *Genetics and Molecular Research*, 14(4), 18743-18752. doi: 10.4238/2015.December.28.23
- Liu, L., & Fang, F. (2022). Long noncoding RNA mediated regulation in human embryogenesis, pluripotency, and reproduction. *Stem Cells International*, 2022(1), 8051717. doi: 10.1155/2022/8051717
- Liu, Q., Sun, Z., Liu, Y., He, X., Ren, C., Wang, X., Di, R., Zhao, Y., Zhang, Z., & Chu, M. (2025). Whole transcriptome analysis in oviduct provides insight into microRNAs and ceRNA regulative networks that targeted reproduction of goat (*Capra hircus*). *BMC Genomics*, 26(1), 250. doi: 10.1186/s12864-025-11438-8
- Liu, Y., Zhou, Z., He, X., Tao, L., Jiang, Y., Lan, R., Hong, Q., & Chu, M. (2021). Integrated analyses of miRNA-mRNA expression profiles of ovaries reveal the crucial interaction networks that regulate the prolificacy of goats in the follicular phase. *BMC Genomics*, 22, 1-19. doi: 10.1186/s12863-021-00963-6
- Marguerat, S., & Bähler, J. (2010). RNA-seq: from technology to biology. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 67, 569-579. doi: 10.1007/s00018-009-0180-6
- McBride, D., Carr, W., Sontakke, S., Hogg, C. O., Law, A., Donadeu, F. X., & Clinton, M. (2012). Identification of miRNAs associated with the follicularluteal transition in the ruminant ovary. *Reproduction*, 144(2), 221. doi: 10.1530/REP-12-0025

- Menchaca, A., Pinczak, A., & Rubianes, E. (2002). Follicular recruitment and ovulatory response to FSH treatment initiated on day 0 or day 3 postovulation in goats. *Theriogenology*, 58(9), 1713-1721. doi: 10.1016/S0093-691X(02)01084-1
- Miller, W. L., & Auchus, R. J. (2011). The molecular biology, biochemistry, and physiology of human steroidogenesis and its disorders. *Endocrine Reviews*, 32(1), 81-151. doi: 10.1210/er.2010-0013
- Morammasi, S., Masoudi, A., Vaez Torshizi, R., & Pakdel, A. (2016). Changes in the expression of the prolactin receptor (PRLR) gene in different physiological stages in the mammary gland of the Iranian Adani goat. *Reproduction in Domestic Animals*, 51(4), 585-590. doi: 10.1111/rda.12723
- Mostert, P., Bokkers, E., Van Middelaar, C., Hogeveen, H., & De Boer, I. (2018). Estimating the economic impact of subclinical ketosis in dairy cattle using a dynamic stochastic simulation model. *Animal*, 12(1), 145-154. doi: 10.1017/S1751731117001306
- Otsuka, M., Zheng, M., Hayashi, M., Lee, J.-D., Yoshino, O., Lin, S., & Han, J. (2008). Impaired microRNA processing causes corpus luteum insufficiency and infertility in mice. *The Journal of Clinical Investigation*, 118(5), 1944-1954. doi: 10.1172/JCI33680
- Pan, Z., Zhang, J., Lin, F., Ma, X., Wang, X., & Liu, H. (2012). Expression profiles of key candidate genes involved in steroidogenesis during follicular atresia in the pig ovary. *Molecular Biology Reports*, 39, 10823-10832. doi: 10.1007/s11033-012-1976-2
- Peng, W., Zhang, Y., Gao, L., Wang, S., Liu, M., Sun, E., Lu, K., Zhang, Y., Li, B., & Li, G. (2025). Investigation of selection signatures of dairy goats using whole-genome sequencing data. *BMC Genomics*, 26(1), 234. doi: 10.1186/s12864-025-11437-9
- Shah, A. M., Cai, Y., Zou, H., Zhang, X., Wang, L., Xue, B., Yu, P., Wang, Z., & Peng, Q. (2019). Effects of supplementation of branches and leaves trimmed from tea plant on growth performance, rumen fermentation and meat composition of Nanjiang yellow goats. *Animals*, 9(9), 590. doi: 10.3390/ani9090590
- Sheedy, F. J., Pálsson-McDermott, E., Hennessy, E. J., Martin, C., O'leary, J. J., Ruan, Q., Johnson, D. S., Chen, Y., & O'Neill, L. A. (2010). Negative regulation of TLR4 via targeting of the proinflammatory tumor suppressor PDCD4 by the microRNA miR-21. *Nature Immunology*, 11(2), 141-147. doi: 10.1038/ni.1828
- Simon Andrews, F., Segonds-Pichon, A., Biggins, L., Krueger, C., & Wingett, S. (2010). FastQC: a quality control tool for high throughput sequence data.
- Sun, Z., Hong, Q., Liu, Y., He, X., Di, R., Wang, X., Ren, C., Zhang, Z., & Chu, M. (2022). Characterization of circular RNA profiles of oviduct reveal the potential mechanism in prolificacy trait of goat in the estrus cycle. *Frontiers in Physiology*, 13, 990691. doi: 10.3389/fphys.2022.990691
- Tohidi Nezhad, F., Mohammad Abadi, M. R., Esmaili Zadeh, A., & Najmi Nouri, O. (2015). Comparison of different levels of Rheb gene expression in different tissues of Raini Cashmir goat. *Agricultural Biotechnology Journal*, 6(4), 37-50.
- Trapnell, C., Roberts, A., Goff, L., Pertea, G., Kim, D., Kelley, D. R., Pimentel, H., Salzberg, S. L., Rinn, J. L., & Pachter, L. (2012). Differential gene and transcript expression analysis of RNA-seq experiments with TopHat and Cufflinks. *Nature Protocols*, 7(3), 562-578. doi: 10.1038/nprot.2012.016
- Wang, K., Liu, X., Qi, T., Hui, Y., Yan, H., Qu, L., Lan, X., & Pan, C. (2021). Whole-genome sequencing to identify candidate genes for litter size and to uncover the variant function in goats (*Capra hircus*). *Genomics*, 113(1), 142-150. doi: 10.1016/j.ygeno.2020.11.024
- Wu, Z.-L., Chen, S.-Y., Qin, C., Jia, X., Deng, F., Wang, J., & Lai, S.-J. (2020). Clinical ketosis-associated alteration of gene expression in Holstein cows. *Genes*, 11(2), 219. doi: 10.3390/genes11020219
- Xu, G., Tian, C., Li, Y., Fang, L., Wang, J., Jing, Z., Li, S., & Chen, P. (2024). Inhibition of BCAT1 expression improves recurrent miscarriage by regulating cellular dysfunction and inflammation of trophoblasts. *Cell and Tissue Research*, 398(2), 111-121. doi: 10.1007/s00441-024-03921-7
- Zhao, L., Yang, Y., Yang, H., Luo, N., Li, X., Zheng, J., Yang, S., & Zhao, Y. (2023). Screening genes related to embryo implantation in Dazu black goats (*Capra Hircus*) by morphological and transcriptome analyses. *Journal of Animal Science*, 101, skac401. doi: 10.1093/jas/skac401