

# Analiza varijanti u broju kopija u genomu paške ovce

---

Šefček, Iva

Master's thesis / Diplomski rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Agriculture / Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:204:987088>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-02-10**



Repository / Repozitorij:

[Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
AGRONOMSKI FAKULTET

**Analiza varijanti u broju kopija u genomu  
paške ovce**

DIPLOMSKI RAD

Iva Šefček

Zagreb, rujan, 2024.

Zagreb, rujan, 2024.  
SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
**AGRONOMSKI FAKULTET**

Diplomski studij:

Genetika i oplemenjivanje životinja

**Analiza varijanti u broju kopija u genomu  
paške ovce**

DIPLOMSKI RAD

Iva Šefček

Mentor:

izv. prof. dr. sc. Maja Ferenčaković

Zagreb, rujan, 2024.  
SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
AGRONOMSKI FAKULTET

**IZJAVA STUDENTA**  
O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI

Ja, **Iva Šefček**, JMBAG **103123226**, rođen/a **28.10.1996.** u Zagrebu, izjavljujem da sam samostalno izradila/izradio diplomski rad pod naslovom:

**ANALIZA VARIJANTI U BROJU KOPIJA U GENOMU PAŠKE OVCE**

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedina autorica/jedini autor ovoga diplomskog rada;
- da su svi korišteni izvori literature, kako objavljeni tako i neobjavljeni, adekvatno citirani ili parafrazirani, te popisani u literaturi na kraju rada;
- da ovaj diplomski rad ne sadrži dijelove radova predanih na Agronomskom fakultetu ili drugim ustanovama visokog obrazovanja radi završetka sveučilišnog ili stručnog studija;
- da je elektronička verzija ovoga diplomskog rada identična tiskanoj koju je odobrio mentor;
- da sam upoznata/upoznat s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
*Potpis studenta / studentice*

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
AGRONOMSKI FAKULTET**

**IZVJEŠĆE**

**O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA**

Diplomski rad studenta/ice **Iva Šefček**, JMBAG 1003123226, naslova

**ANALIZA VARIJANTI U BROJU KOPIJA U GENOMU PAŠKE OVCE**

obranjen je i ocijenjen ocjenom \_\_\_\_\_, dana \_\_\_\_\_.

Povjerenstvo:

potpisi:

- |    |                                    |        |       |
|----|------------------------------------|--------|-------|
| 1. | Izv. prof.dr.sc. Maja Ferenčaković | mentor | _____ |
| 2. | Prof. dr. sc. Vlatka Čubrić Čurik  | član   | _____ |
| 3. | Prof. dr. sc. dr. h. c. Ino Čurik  | član   | _____ |

## Zahvala

Prije svega, želim izraziti svoju zahvalnost mentorici, Izv. prof. dr. sc. Maji Ferenčaković, zahvaljujući kojoj sam otkrila ovu zanimljivu temu za svoj diplomski rad. Također, zahvaljujem joj na iznimnoj strpljivosti, empatiji i podršci, kojima je svaki korak u pisanju ovog rada učinila jednostavnijim, iako se ponekad činilo suprotno.

Zahvaljujem i članovima Povjerenstva na sugestijama kojima su učinili ovaj rad boljim.

Nadalje želim se zahvaliti svojoj obitelji i najbližim prijateljima, bez kojih ne bih ni bila ovdje gdje jesam, a posebno hvala mojim kolegama, Luciji, Hedvigi i Bartolu, hvala što ste učinili ovih pet godina provedenih na fakultetu iznimno zabavnim i poučnim.

Za kraj, želim se zahvaliti i kolegi Zvonimiru koji mi je također pomogao u analizi ovog rada ali i na svim instrukcijama i uloženom vremenu kroz cijelo studiranje.

## Sadržaj

<b>1</b>	<b>Uvod .....</b>	<b>1</b>
1.1	Cilj istraživanja.....	1
<b>2</b>	<b>Pregled literature .....</b>	<b>2</b>
2.1	Varijanta broja kopija (CNV).....	2
2.2	Načini nastanka varijanti broja kopija .....	4
2.3	Varijante broja kopija u domaćih životinja.....	5
2.4	Načini detekcije i utjecaji varijanti broja kopija u domaćih životinja.....	6
2.5	Varijante broja kopija u ovaca.....	8
2.6	Domestikacija ovaca.....	9
2.7	Paška ovca .....	9
<b>3</b>	<b>Materijali i metode.....</b>	<b>11</b>
<b>4</b>	<b>Rezultati.....</b>	<b>13</b>
4.1	Varijante broja kopija (CNV).....	13
4.2	Regije varijanti broja kopija (CNVR) .....	14
4.3	Regije varijanti broja kopija (CNVR) po kromosomu.....	15
4.4	Geni u CNVR regijama specifičnim za pašku ovcu.....	17
4.5	QTL-ovi u nepreklapajućim regijama CNVR-ova .....	20
<b>5</b>	<b>Rasprava .....</b>	<b>22</b>
<b>6</b>	<b>Zaključak .....</b>	<b>28</b>
<b>7</b>	<b>Popis literature.....</b>	<b>29</b>
<b>8</b>	<b>Prilozi .....</b>	<b>45</b>
8.1	Prilog 1.....	45

## Sažetak

Diplomskog rada studenta/ice **Ive Šefček**, naslova

### **ANALIZA VARIJANTI U BROJU KOPIJA U GENOMU PAŠKE OVCE**

Varijante broja kopija (engl. Copy Number Variants, CNVs) predstavljaju jedan od najčešćih oblika genetske varijacije, kako u smislu brzine mutacije, tako i udjela genoma koji obuhvaćaju. Ove varijacije mogu značajno utjecati na različite fenotipske osobine i imaju ključnu ulogu u prilagodbi, zdravlju i proizvodnim karakteristikama životinja. Paška ovca je poznata po svojoj prilagodljivosti te visokokvalitetnom mesu i mlijeku, s osobitostima poput visoke masnoće u mlijeku i specifične, finije vune. Ciljevi ovog rada bili su detektirati CNV-ove i CNV regije (CNVR-ove) specifične za populaciju paške ovce, povezati CNVR-ove s genima i njihovim funkcijama, te identificirati QTL regije koje se preklapaju s CNVR-ovima. U istraživanju su korišteni genotipovi (Ovine Infinium® HD SNP BeadChip) 25 jedinki paške ovce te 75 jedinki drugih pasmina (istarska ovca, dalmatinska pramenka i dubrovačka ruda). Pomoću bioinformatičkih alata za detekciju CNV-ova i njihovo povezivanje s funkcionalnim genima, ukupno je identificirano 955 CNVR-ova, od kojih je 18 bilo jedinstveno za pašku ovcu. Ove regije sadrže gene koji su ključni za osobine poput otpornosti na vanjske uvjete, metabolizma hranjivih tvari i reprodukcije. Također, prisutni su u biološkim putevima koji pružaju uvid u genetske osnove prilagodljivosti paške ovce na specifične okolišne uvjete. Dodatno, identificirani su QTL-ovi povezani s finoćom vune, koagulacijskim svojstvima mlijeka i proizvodnjom mesa. Ova saznanja mogu značajno doprinijeti daljnjem unapređenju uzgojnih programa, optimizaciji prehrane i postizanju veće produktivnosti, osiguravajući visoku kvalitetu proizvoda poput mlijeka i sira, po kojima je paška ovca nadaleko poznata.

**Ključne riječi:** Varijante broja kopija (CNV-ovi), regije varijanti broja kopija (CNVR-ovi), paška ovca, genetska osnova prilagodljivosti.



## Summary

Of the master's thesis - student **Iva Šefček**, entitled

### **ANALYSIS OF COPY NUMBER VARIANTS IN THE GENOME OF PAG ISLAND SHEEP**

Copy number variants (CNVs) are one of the most common forms of genetic variation, both in terms of mutation rate and the proportion of the genome they cover. These variations can significantly affect various phenotypic traits and play a crucial role in the adaptation, health and production traits of animals. The Pag Island sheep is known for its adaptability as well as for its high-quality meat and milk with specific traits such as high milk fat content and fine wool. The objectives of this study were to detect CNVs and CNV regions (CNVRs) in the Pag Island sheep genome that are specific to the population, to map CNVRs to genes and their functions, and to identify QTL regions that overlap with CNVRs. Genotypes (Ovine Infinium® HD SNP BeadChip) of 25 Pag Island sheep and 75 individuals of other breeds (Istrian sheep, Dalmatian Pramenka and Dubrovnik Ruda) were used for the study. Using bioinformatics tools to detect CNVs and functional gene association, a total of 955 CNVRs were discovered, 18 of which were unique to the Pag Island sheep. These regions contain genes critical for traits such as resistance to environmental conditions, nutrient metabolism and reproduction, and are present in biological pathways that provide insights into the genetic basis of the Pag sheep's adaptation to specific environmental conditions. In addition, QTLs associated with wool fineness, milk coagulation traits and meat production have been identified. These findings can make an important contribution to further improvements in breeding programs, optimizing nutrition and achieving higher productivity, thus ensuring the high quality of products such as milk and cheese for which the Pag Island sheep is known.

**Keywords:** Pag Island sheep, Copy number variants (CNV), CNV regions (CNVR), genetic basis of adaptability.

## 1 Uvod

Varijante broja kopija (engl. Copy number variations; CNV) podrazumijevaju vrstu genetske varijacije koja se odnosi na promjene u broju kopija specifičnih dijelova DNK unutar genoma, a broj kopija može biti različit između jedinki iste vrste. CNV može utjecati na ekspresiju gena i imati različite biološke učinke. Na primjer, može utjecati na funkciju proteina, regulaciju gena, osjetljivost na bolesti ili prilagodljivost organizma na okoliš. (Zhang i sur., 2009.) i posljedično izazivaju fenotipske varijacije kod ljudi, životinja i biljaka. Kao takvi, najčešće dolaze u obliku dviju različitih mutacija – insercija (duplikacije), delecija (brisanja) ili skupni proces insercija i delecija, tzv. „indeli“. Insercije podrazumijevaju umetanja novih sekvenci dok delecije označavaju brisanje postojećih sekvenci. Uzroci pojave CNV-a mogu biti pogreške DNK polimeraze ili netočan popravak DNK. CNV-ovi mogu nastati kao „de novo“ (spontano) ili mogu biti naslijeđene što znači da se tada mogu otkriti u stanicama potomaka (Mohajeri M.H. i sur., 2018., Poole A.C. i sur., 2019., Greenblum S. i sur., 2015.). Ujedno mogu biti i važan izvor normalnih, ali i štetnih varijacija u genomu. Štetni su, za razliku od normalnih varijacija, puno veći i sadrže više gena uključenih u razvoj (Redon R. i sur., 2006.). CNV u genomima mogu poslužiti kao biomarkeri za različita patološka stanja, kao što je rak (Arlt M.F. i sur., 2014.). Danas se koriste dva glavna načina za detekciju CNV-ova a to su: komparativna genomna hibridizacija i sekvenciranje sljedeće (nove) generacije (engl. Next generation sequencing; NGS) (Gonzalez E. i sur., 2005.). Razumijevanje i identifikacija CNV regija služi kako bi se bolje razumjele bolesti ali i evolucija i prilagodba kod životinja. (Huang i sur., 2021.).

### 1.1 Cilj istraživanja

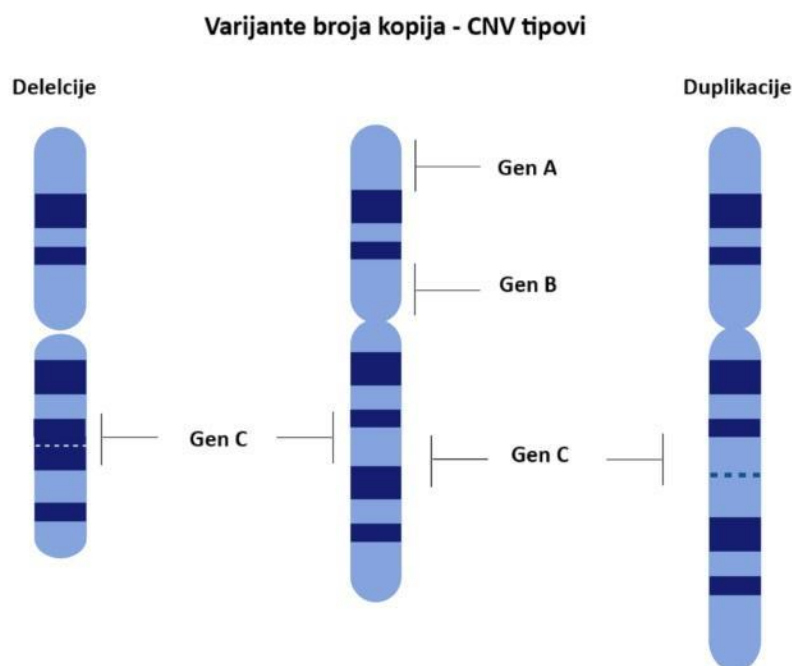
Primarni cilj ovog istraživanja je istražiti pojavu CNV-a u genomu paške ovce, razumijevanje njihove uloge u genetskoj raznolikosti i potencijalne povezanosti s ekonomski važnim svojstvima. U ovom istraživanju koristit će se DNK informacija 25 paških ovaca koje su genotipizirane s „Ovine Infinum HD SNP BeadChipom“. CNV će se detektirati i analizirati te povezati s genima i lokusima kvantitativnih osobina (engl. Quantitative trait loci; QTL) putem adekvatnih bioinformatičkih alata.

## 2 Pregled literature

### 2.1 Varijanta broja kopija (CNV)

Varijante broja kopija uvelike utječu na fenotip životinja te na ekspresiju i funkciju gena (Elder P.J.D. i sur., 2018; Hartevelde C.öÖL. i sur., 2010.; Mohajeri M.H. i sur., 2018.). Kako je navedeno u uvodu, one su prije svega strukturne mutacije (delecije, insercije i oboje – indeli). Iako još nesvjesni pojma CNV, znanstvenici početkom i sredinom 20. stoljeća opažaju genetske varijacije koje uključuju delecije i duplikacije na tada najviše korištenom model organizmu – vinskoj mušici („*Drosophila melanogaster*“). Calvin Bridges, učenik Thomasa Hunta Morgana, 1936. objavljuje rad (Bridges C.B., 1936.) u kojem navodi kako prijašnja istraživanja Morgana i Sturtevanta (Sturtevant, A.H. i Morgan T.H., 1923; Sturtevant A.H., 1925) na BAR genu vinske mušice govore o neočekivanoj vezi između pojave kopija BAR gena i veličine očiju mušice. On dalje opisuje kako mušice koje muhe koje naslijede duplikat kopije gena BAR razvijaju vrlo male i deformirane oči i pojavu naziva „BAR fenotip“. To se smatra prvim opisanom primjerom utjecaja duplikacije na fenotipsku promjenu, što je kasnije povezano s pojmom varijacije broja kopija gena. Dvadesetak godina kasnije, Jérôme Lejeune (Lejeune J. i sur., 1959) otkriva da Downov sindrom, prvotno klasificiran od strane J. L. H. Downa 1866. godine, nastaje zbog trisomije 21, što znači da osobe s Downovim sindromom imaju tri umjesto dvije kopije kromosoma 21. Kraj 20. i početak 21. stoljeća označavaju vrijeme intenzivnog rada na sekvenciranju humanog genoma i objavljivanju sekvence. Objavljivanje sekvence humanog genoma 2001. otkriva kako oko 5% genetskog koda čine redundantni segmenti koji su višestruko prisutni na različitim lokacijama u genomu. Postojanje tih dijelova DNK, nazvanih segmentalne duplikacije (Bailey J.A. i sur., 2002), sugeriralo je da su se veliki segmenti mijenjali u broju kopija tijekom posljednjih 20 milijuna godina evolucije. Danas su te duplikacije prepoznate kao "žarišta" za CNV kod ljudi i čine osnovu za većinu CNV-ova povezanih s bolestima (Eichler, E.E., 2008).

Veličina CNV-ova se trenutno kreće od 50 bp (baznih parova) do nekoliko Mb (Megabaza) (MacDonald J.R. i sur., 2014; Werdyani S. i sur., 2017.). Kao što je spomenuto, CNV-ovi najčešće nastaju tijekom procesa rekombinacije, replikacije i popravaka DNK (Pös i sur., 2021.), te ponavljanja sekvenci mogu biti ponavljanja s malom količinom kopija ili ponavljanja s velikom količinom kopija (Chen L. i sur., 2014.).



Slika 2. Prikaz tipova CNV-a: delecije i duplikacije

(Izvor: <https://accugenomics.com/copy-number-variants/>)

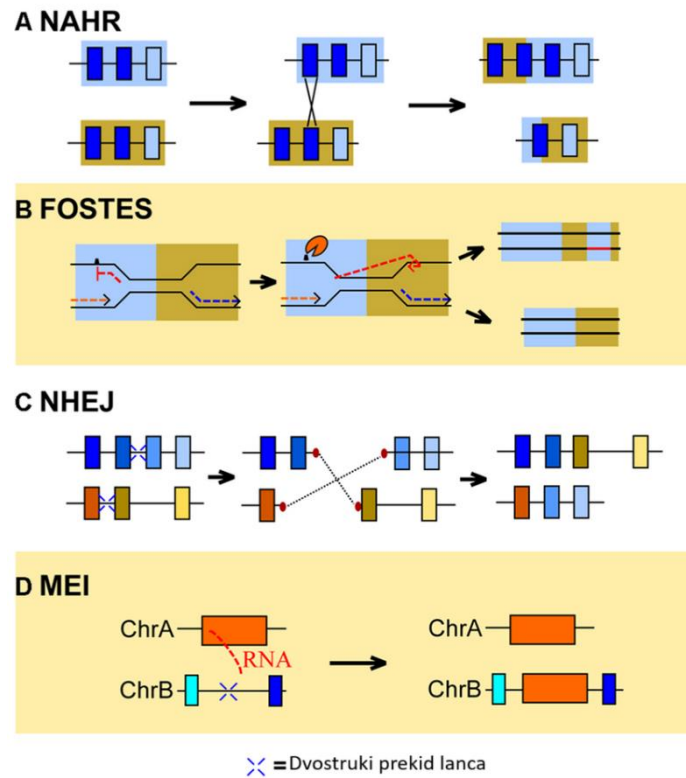
Kako navode Bhanuprakash i sur. (2018.) CNV-ovi su postali iznimno interesantan izvor genetske varijacije upravo zato što pokrivaju više genomskih regije za razliku od polimorfizma jednog nukleotida (engl. Single nucleotide polymorphism; SNP). Dokazano je kako uzročnici CNV-a mogu biti i vanjski stresori kao što su kemijski mutageni (Arlt M.F. i sur., 2012.) ali uz kemijske mutagene, spominju se fizički mutageni kao što je ionizirajuće zračenje koje posljedično može započeti pucanje DNK lanca replikacijske vilice (Arlt M.F. i sur., 2014.). Također je otkriveno kako zračenje podjednako uzrokuje insercije i delecije dok kemijski mutageni više utječu na gubitke (delecije) broja kopija i pogađaju specifične genomске regije (Hovhannisyán i sur., 2019.). Prema Beroukhimu i sur. (2010.) kod ljudi je utvrđena poveznica patogenih CNV-ova s genomskim poremećajima kao što su rak, kardiovaskularne bolesti i neurodivergentni poremećaji. CNV se također može pojaviti i u obliku multifaktorijalnih bolesti, koje povezuju različite genetičke i okolišne utjecaje a među njima je najpoznatija upalna bolest crijeva, s čak više od 200 povezanih lokusa (de Lange K.M. i sur., 2017.). Znanstvenici su još 1980-ih godina otkrili povezanost delecija kromosoma s bolestima poput Prader Wilijev sindrom, Duchenneov mišićni sindrom i njihovog uzročnika, a to je varijanta

broja kopija (Zhang i sur., 2009.). Kako bi se CNV-ovi uspješno identificirali, potrebno je poznavati njihov nastanak. Ukoliko su nastali „de novo“ replikacijom, nalaze se u mitotičkim stanicama, dok ponavljajući CNV-ovi u mejotičkim stanicama nastaju homolognom rekombinacijom (Sekar A. i sur., 2016.). Također, Stankiewicz i Lupski (2010.) utvrđuju povezanost nasljeđenih CNV-ova s Mendelovskim i složenim osobinama bolestima.

Iako je istraživanje varijanta broja kopija prvo započelo na ljudima, proteklih godina se uveliko okrenulo i prema životinjama, poglavito domaćim životinjama poput goveda, koza, ovaca, svinja, pasa, kokoši i druge peradi. Kako navode Clop i sur. (2012.) glede fenotipske ekspresije, u životinja su CNV-ovi najviše povezani s pigmentacijom dlake (npr. bijela dlaka kod konja, svinja i ovaca), ali i slabijeg imuniteta na određene bolesti i razvojnih poremećaja (osteoporoza, degeneracija čunjića oka, itd.). Nadalje, nakon vinske mušice prvo pravo postignuće u otkrivanju CNV-a postignuto je 1958. godine kada je znanstvenik Knudsen otkrio kromosomsku translokaciju u govedu, što je i dovelo do citogenetske karakterizacije većine domaćih životinja 1970-ih godina. U posljednjih dvadesetak godina, NGS („Next generation sequencing“) je uvelike olakšao identifikaciju ogromnog broja varijanti kopija. Postoji nekoliko metoda za identifikaciju CNV kod domaćih životinja, iako se kod goveda koristilo sekvenciranje cijelog genoma i niz genotipa te su tako otkrivene dvije regije CNV-a visoke pouzdanosti (CNVR) (Butty i sur., 2020.).

## **2.2 Načini nastanka varijanti broja kopija**

Kako navode znanstvenici Hastings P.J. i sur. (2009.) postoje četiri glavna mehanizma nastanka CNV-a što uključuje: A) nealelnu homolognu rekombinaciju (NAHR) u regijama koje sadrže velike sličnosti sekvenci, zatim B) mehanizme pogreške replikacije što uključuje zastoj replikacijske vilice i prebacivanje šablona (FoSTeS), C) nehomologno spajanje krajeva (NHEJ), te D) spajanje krajeva posredovano mikrohomologijom (MEI). Liu P. i sur. (2011.) smatraju kako je upravo NAHR trenutno jedan od najbolje istraženih mehanizama nastanka varijanti broja kopija te je ujedno i odgovoran za ponavljajuće preraspodjele u žarišnim točkama homologne rekombinacije.



Slika 2.1. Prikaz četiri glavna mehanizma nastanka CNV-a

(Izvor: Bickhart D., Liu G., 2014. )

### 2.3 Varijante broja kopija u domaćih životinja

Znanstvenici Matukumalli i sur. (2009.) su otkrili da je čak oko 50 % govedih CNV-a u goveda različito između različitih jedinki i pasmina što označava da je CNV uistinu izvor diferencijacije pasmina. Kod goveda je CNV uzročnik i renalne tubularne displazije, zbog koje dolazi do zastoja u rastu (Hirano i sur., 2000.) Prva karta malih preživača je izrađena 2010.-2011. godine (Fontanesi i sur., 2010.-2011.). Upravo te karte su pokazale preklapanje kod goveda, ovaca i koza, jednako kao što su CNV karte pokazale preklapanja kod čovjeka i čimpanze (Lee i sur., 2008.). Fontanesi (2011.) otkriva povezanost CNV-a kod ovaca s glavnim kompleksom gena tkivne podudarnosti (engl. major histocompatibility complex; MHC), a što se tiče metaboličkih produkata, zamijećena je povezanost CNV-a gena s lipidima i transportom što bi značilo da CNV mogu poslužiti kao identifikatori lokusa za sadržaj masti u mlijeku (Schook i Lamont, 1996.). CNV uvelike utječe i na fenotipske varijacije kod domaćih životinja, posebno na pigmentaciju i boju dlake, stoga kod ovaca, na primjer, je dominantna bijela dlaka koja je povezana s tandemsom genomskom duplikacijom te obuhvaća tri gena: Aguti

signalizacijski gen za protein (ASIP), homolog proteinske ligaze ubikvitin (E3) i lokus adenoilhomocisteinaza (AHCY) (Norris i Whan, 2008.). Danas znanstvenici predlažu izdvajanje CNV-ova određene pasmine što bi značilo da će biti potrebno istražiti više populacija kako bi se dobila što preciznija CNV karta (Ramayo i sur., 2010; Liu i sur., 2010.). Znanstvenici Ségurel i sur. (2012.) su otkrili da zadržavanje CNV-a može biti značajnije kod nekih vrsta životinja te da će zajedničke genomske regije između blisko povezanih vrsta stvoriti specifične CNVR (regije varijanti broja kopija) mehanizme, tzv. CNV “vruće točke”. Upravo zato su i preživači odličan model za istraživanje CNV regija, zbog bliskog srodstva ali i zbog visokokvalitetnih sekvenci genoma (Huang i sur., 2021.).

Hunag i sur. (2021.) su napravili studiju koja je uključivala 886 genoma životinja, od toga je 412 pripalo ovacima, a uzorci su pokrili Afriku, Ameriku, Australiju i Europu. Kod spomenutih domaćih ovaca, otkriveno je 24 534 CNVR-a s prosječnom duljinom od 3 854 bp. Prema obliku varijanti, podijelili su ih u tri kategorije: a) brisanje (delecija), b) dupliciranje (insercija) i c) oba događaja. Za razumijevanje CNVR-a i evolucijskih prilagodbi, koristili su povezanost na cijelom genomu (GWAS) uz određene parametre kao što su meteorološki okoliš, nadmorska visina, temperatura i oborine. Kod ovaca je pronađen CNV na kromosomu 9 koji je uvelike povezan s godišnjim prosjekom oborina (NDPR) i preklapao se s genom CSMD3. Otkrili su i značajnu povezanost imuniteta i CNV prema informacijama dobivenih iz QTL-a. Također, Sharp i sur. (2005.) su otkrili kako su CNV “vruće točke” povezane s genomskim nestabilnostima upravo radi duplikacija unutar kromosomskih segmenata što dovodi do kromosomske reorganizacije. Te žarišne točke sudjeluju i u formiranju varijanti kopija zajedničkih vrsta. U tim regijama je pronađen i gen CFG, za koji se smatra da je povezan s vidom a važan je zbog procesa prilagodbe na okoliš. Upravo gore spomenute “vruće točke” doprinose CNV-ovima specifičnim za vrstu ali imaju ograničenu ulogu u CNV regijama, no balansirajuća selekcija se pokazala kao bitnija u održavanju zajedničkih CNV regija među vrstama. (Baird i sur., 2008.)

## **2.4 Načini detekcije i utjecaji varijanti broja kopija u domaćih životinja**

CNV-ovi prikazuju veliku varijabilnost koja uvelike utječe na različita fenotipska svojstva što uključuje rast, reproduktivna svojstva, pigmentaciju i otpornost na bolesti. S obzirom da su domaće životinje danas esencijalne za održavanje ljudskih potreba u vidu proizvoda poput: mlijeka, mesa, jaja itd., iznimno je bitno razumjeti genomske varijacije poput varijacija broja

kopija (CNV). Prije istraživanja CNV-ova su se uvelike koristili SNP-ovi kao primarni utjecaji, putem njih se vrši i genomska selekcija provodi na skoro svim domaćim životinjama kako bi se poboljšala gospodarska svojstva (Sölzer i sur., 2022.; Junior L.P. i sur., 2023.). Ipak, kako vidimo, varijabilnost u svojstvima ovisi i o varijabilnosti CNV-a. Postoje dva tipa mehanizma za detekciju CNV-ova : a) komparativna hibridizacija genoma i b) sekvenciranje cijelog genoma. CNV nastaje kao reorganizacija genoma u smislu gubitka kopija (delecije) ili povećanja kopija (inercije) segmenta genoma duljine 1 kb ili više. CNV-ovi koji se djelomično preklapaju u istoj genomskoj regiji mogu stvoriti jedan klaster CNV-a ili CNVR (Fernandes i sur., 2021.). Također, znanstvenici su otkrili značajnost CNV-ova na evolucijsku fenotipsku raznolikost ali i na otpornost na bolesti (Freeman J.L. i sur., 2006; Pös i sur., 2021.).

Smatra se kako je usporedna genomska hibridizacija (aCGH) vrlo uspješna tehnika za identificiranje CNV-a (Pinkel i sur., 2005). Način na koji funkcionira aCGH je taj da se prvo DNK mora označiti i zatim se analizira putem kontrolne fluorescentne boje te koriste dvije sonde, bakterijska umjetna i oligonukleotidna. Ove spomenute sonde pokazuju iznimnu točnost i rezoluciju. Tehnologija detekcije putem SNP čipova čini drugu metodu za identifikaciju CNV-a, i za razliku od prve metode, zahtijeva samo jednu hibridizaciju. Također, ova metoda je i isplativija jer se lakše otkrivaju CNV-ovi velikih razmjera. Softveri koji se koriste za detekciju su trenutno: CNVPartition, PennCNV i QuantiSNP.

S obzirom da su goveda bitna kako s ekološke tako i s ekonomske strane, preferencija ljudi se okrenula prema goveđem mesu s više bjelančevina i manje masti, a tu se detekcija CNV-a pokazala krucijalnom jer je otkrivena njihova povezanost s kvalitetom goveđih trupova (Liu i sur., 2023.). Nadalje, Sun i sur. (2023.), otkrili su 2944 CNV regije kod simentalskih bikova koje se moglo povezati s reprodukcijom, imunitetom i plodnošću.

Kod koza, znanstvenici su uspjeli identificirati i 127 CNV regije kod četiri pasmine koza što je značilo i uspostavu prve karte CNVR za koze (Fontanesi L. i sur., 2010.). Zanimljivo je da je otkrivena povezanost CNVR-ova s olfaktornim receptorima, a poznata je činjenica koliko se životinje oslanjaju na svoj njuh u svim aspektima života, pogotovo pri lociranju hrane, identifikaciji štetnih tvari, odabiru partnera itd. (Spehr i Munger., 2009.).



## 2.5 Varijante broja kopija u ovaca

U istraživanju kojeg su proveli Jenkins i sur. (2016.) proučene su varijante broja kopija u ovaca, koristeći nekoliko platformi za otkrivanje i identifikaciju: CGH nizove, SNP čipove i sekvenciranje cijelog genoma (WGS). Otkrivena je povezanost sedam gena s CNV-ovima koji se preklapaju s lokusima kvantitativnih svojstava („Quantitative trait loci“, QTL) u koje spadaju svojstva dužine trupa, debljina leđnog sala i trbušna mast itd. (Chen C. i sur, 2012.). Također je zamijećen jedan CNV (duplikacija) povezan s utjecajem na boju dlake (Norris B.J. i sur., 2008.). Pomoću CGH niza je ispitano ukupno 36 ovčjih genoma te još 6 referentnih. Dobiveno je 3488 CNVR-ova na autosomima ovaca s rasponom od 1 kb do 3,6 Mb. Nadalje, većina varijanti broja kopija je sadržavala brisanja, njih 58 %, dok je 38 % sadržavalo dupliciranja, a ostatak, 4 % oba događaja. U ovoj studiji je otkriveno da su CNVR-ovi bili grupirani zajedno u genomu, što upućuje na povećanu mutacijsku aktivnost u ponavljajućim regijama i olakšava razumijevanje nealelne homologne rekombinacije. Nealelna homologna rekombinacija (NAHR) je mehanizam koji se koristi za popravak slomljenih kromosoma a često dovodi do velikih preuređenja u strukturi genoma. (Conrad D. F. i sur., 2010.) Nadalje, drži se da su CNV-ovi koji obuhvaćaju sekvence gena zacijelo nastali duplikacijom a ne brisanjem. Razlog tome je što delecije više ometaju funkciju gena nego dupliciranja i samim time su sklone većem selekcijskom pritisku (Conrad D.F. i sur., 2010.). Platforma koja se pokazala kao najboljom za identifikaciju varijanti broja kopija je bila sekvenciranje genoma, s čak 61 % potvrđenih CNV-ova.

Liu i sur., (2023.) utvrđuju kako su najbitniji ovčji proizvodi (meso, mlijeko, vuna i kašmir) pod utjecajem varijante broja kopija, ali CNV-ovi utječu i na otpornost na bolesti i reprodukciju. Upravo, zahvaljujući znanstvenicima danas postoji mapa CNV-a unutar genoma ovce kako bi se bolje razumjelo djelovanje CNV-a na gore spomenute karakteristike. Znanstvenici Ma Y. i sur. (2015.) su uspjeli identificirati 111 CNV regija koristeći SNP50K čip te su na taj način mapirali CNV-ove unutar autosomnih kromosoma. Nadalje, znanstvenici Yang L. i sur. (2018.) su identificirali čak 24 558 CNV-a kod ovaca iz različitih geografskih podneblja i na taj način povezali CNV-ove s prilagodbom na podneblje.

Znanstvenici Igoshin A.V. i sur. (2018.) su čak otkrili i povezanost CNV-ova s olfaktornim receptorima i imunitetom na 12 pasmina ovaca, a također postoji povezanost CNV i s nekim

fizičkim karakteristikama kao što su kratkorepost i dugorepost, masnorepost i masnotrtičnost za što je jasno da su pasminske osobine (Taghizadeh S. i sur.,2022.).

## **2.6 Domestikacija ovaca**

Iako je domestikacija životinja započela još prije otprilike 11,500 godina, za ovce se smatra kako su se domesticirale prije 9000. - 8000. godina prije Krista na području Bliskog istoka, preciznije od područja središnje Turske pa do sjeverozapadnog Irana (Arbuckle B.S. i sur., 2014.). Prvobitna namjena ovaca je bila za proizvodnju mesa i mlijeka a tek tijekom 4. i 3. tisućljeća pr. Kr. je i ovčja vuna dobila svoju namjenu (Schoop i sur., 2014.). Smatra se kako je pripitomljavanje ovaca nastalo kroz višestruke događaje, što proizlazi iz dokaza za postojanjem različitih haplogrupa mitohondrijske DNK u modernih ovaca koje su bile prisutne već prije pripitomljavanja (Pedrosa i sur., 2005.). Znanstvenici navode kako je zapravo rana umjetna selekcija pridonijela oblikovanju domaćih skupina (Chen i sur., 2021.; Lv i sur., 2022.; Cheng i sur., 2023.). Danas se ovce smatraju jednom od glavnih vrsta domaćih životinjama, upravo zbog svoje šarolike primjene u vidu izvora mesa, kože, vune i mlijeka, a ono što ih čini posebnima je njihova fenotipska raznolikost između pasmina koja je nastala kao posljedica uzgoja u različitim staništima, proizvodnim sustavima ali i zbog različitih uzgojnih ciljeva (Kruska 1996., 1988.).

## **2.7 Paška ovca**

Kako navode Pavić i sur. (2005.) Paška ovca nastala je na otoku Pagu koji se nalazi usred dviju hrvatskih županija; Ličko senjske i Zadarske. Smatra se da je paška ovca nastala još 1870. godine kada je osnovana udruga „Uzor stado“ kako bi se stvorila ovca finije vune. Paška ovca je prepoznatljiva prema svojoj zbijenoj i čvrstoj tjelesnoj građi sa širokim trupom. Zahvaljujući geografskom položaju i mikroklimi otoka Paga, istoimena ovca se hrani specifičnim mediteranskim biljem koji daje poseban okus proizvodima poput mesa i mlijeka. Paška ovca je nastala oplemenjivanjem autohtone pramenke s ovnovima pasmine negretti i bergamo iz Španjolske s ciljem aklimatizacije pasmine merino na Dalamtinsku klimu i priobalje. Danas većina paških ovaca ima svoje ovčarnike i hranidbu tijekom cijele godine te su prepoznatljive po svojem paškom tvrdom punomasnom siru i janjadi.



Slika 2.7. Prikaz Paške ovce

(Izvor: <https://www.agroportal.hr/ovcarstvo/25797>)

### 3 Materijali i metode

U ovoj studiji cilj je bio otkriti i karakterizirati varijacije broja kopija (CNV) kod pasmine paške ovce koristeći podatke genotipizacije SNP-a. S obzirom da CNV predstavljaju značajan izvor genetske varijacije i da su povezani s fenotipskim svojstvima stoke, identificiranje CNV-ova paške ovce moglo bi pružiti uvid u njihove jedinstvene prilagodbe i osobine. Za ovu analizu korišteni su genotipovi 100 jedinki četiri pasmine ovaca s istočne obale Jadrana (istarska ovca, paška ovca, dalmatinska pramenka i dubrovačka ruda, 25 jedinki po pasmini) prikupljeni i pohranjeni u projektu Hrvatske zaklade za znanost „Primjena NGS metoda u procjeni genomske varijabilnosti preživača“ – ANAGRAMS (IP-2018-01-8708). Životinje su genotipizirane pomoću „Ovine Infinium® HD SNP BeadChip“ SNP čipa, koji uključuje 606.006 SNP-ova. Kontrola kvalitete SNP podataka provedena je korištenjem softvera PLINK 1.9 (Chang i sur., 2015.), s parametrima: postotak uspješnih genotipova  $> 0,9$ , odstupanje od Hardy-Weinbergove ravnoteže na razini 0,001, stopa nedostajućih genotipova  $< 0,05$  i stopa nedostajućih podataka  $< 0,1$ . Korišteni su samo markeri s GenCall vrijednostima većima od 0,7. Detekcija CNV segmenata provedena je pomoću PennCNV softverskog paketa (Wang i sur., 2007.), koji koristi Hidden Markov Model (HMM) za integraciju signala iz Log R omjera (LRR), frekvencije B alela (BAF) i informacija o genotipu radi identifikacije CNV segmenata. Analiza je provedena prema standardnom PennCNV protokolu. Korištena je skripta „detect\_cnv.pl“ za detekciju CNV segmenata na temelju LRR i BAF signala. Prilagođeni su parametri HMM modela kako bi se postigla optimalna osjetljivost i specifičnost detekcije. Koristili smo uzorke visoke kvalitete, sa standardnom devijacijom LRR signala manjom od 0,30 te zadanim parametrima: BAF drift od 0,01 i „waviness“ faktorom između -0,05 i 0,05. U PennCNV su uključene prilagodbe LRR signala temeljene na GC modelu iz Oar\_v3.1 genoma, uz minimalnu udaljenost trening markera od 500 kb. Nakon početne detekcije, CNV segmenti su filtrirani prema duljini, broju SNP-ova u segmentu i kvaliteti signala. Osim toga, korištena je opcija „lastchr 26“ u argumentu „detect“ za specifične CNVR-ove. CNVR-ovi su određeni agregiranjem preklapajućih CNV-ova iz različitih jedinki. Nakon filtriranja, identificirani CNVR-ovi su klasificirani u tri kategorije: 'Gubitak' (CNVR sadrži deleciju), 'Dobitak' (CNVR sadrži duplikaciju) i 'Oboje' (CNVR sadrži i deleciju i duplikaciju).

Nakon rezultata dobivenih softverom PennCNV, uslijedila je post analiza varijanti broja kopija (CNV-a) putem programskog paketa HandyCNV 1.1.7 (Zhou i sur., 2021.). u statističkom programu R Studio (RStudio Team, 2022.). Podaci vezani za pašku ovcu su morali sadržavati

identifikacijski broj jedinice, dvadeset i šest autosomnih kromosoma, početne i krajnje pozicije CNV-a, te CNV vrijednost dobivenu kao diskretni segment koji sadrži genomsku poziciju (dugu nekoliko kb ili Mb) gdje se očituje odstupanje od očekivanog diploidnog stanja, kako bi se uspješno izveo tijek rada paketa HandyCNV. Prvo je dobiven CNV sažetak koristeći funkciju `cnv_clean`, zatim preko funkcije `cnv_visual` su uspješno izvedeni CNV-ovi na svakom od 26 autosomnih kromosoma. Nakon toga, koristeći funkciju `call_cnvr_penn` dobiveni su i CNVR-ovi (regije varijanti broja kopija) koji su ujedno bili uspoređeni s referentnim setom podataka „Sheep\_Oar\_v3.1\_UCSC.txt“ preuzetim s UCSC Genome Browser (<https://genome.ucsc.edu/>). Preko iznad navedene funkcije dobiven je i sažetak CNVR-ova te ujedno i broj regija po određenom kromosomu. Nadalje, kako bi se izdvojilo što čini pašku ovcu specifičnom korištena je funkcija `compare_cnvr` gdje su se podaci usporedili s podacima sljedećih pasmina ovaca: dubrovačka ruda, dalmatinska pramenka te istarska ovca također dobiveni preko programa PennCNV. Dobiveni rezultati su prikazali CNV regije paške ovce koja se ne javljaju u ostalim navedenim pasminama (Zhou i sur., 2021.). Upravo su ti podaci nepreklapajućih CNVR-ova bili potrebni za sljedeći korak kako bi se otkrilo koji se sve geni nalaze u dobivenim regijama. Za otkrivanje gena je korišten program Golden Helix Genome Browse 3.1.0 (Golden Helix, Inc.), a potrebni podaci za program su bili točan kromosom na kojem se nalaze otkrivene regije te njihove početne i krajnje pozicije. Promatrana regija proširena je za 1Mb od početka i kraja. Nakon toga je korišten paket Gallo, verzija 1.5 (Fonseca i sur., 2024.) koji olakšava integraciju i vizualizaciju rezultata kvantitativnih svojstava lokusa (QTL-ova) na razini GWAS-a (Studije povezanosti genoma) (Cardoso F.R., 2020.). S obzirom da QTL-ovi pokrivaju šire područje genoma, uspješno su dobiveni rezultati specifičnih gena koji pridonose određenom kvantitativnom svojstvu.

U paket Gallo su uvedeni dobiveni rezultati iz paketa HandyCNV koji su sadržavali CNVR regije prisutne samo kod paške ovce. Kako bi se odredili tipovi QTL-ova u program se uvela referentna baza podataka za ovce „QTLdb\_sheepOAR3.gff“ s Animal QTL Database-a (QTLdb) (<https://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/index>) , te su uspješno pronađeni QTL-ovi putem funkcije `find_genes_qtls_around_markers`. U konačnici je korišten bioinformatički alat DAVID (Baza podataka za bilješke, vizualizaciju i integrirano otkrivanje) koji je pružio funkcionalne bilješke za dobivene gene te efikasno prikazao na koji način su oni povezani (Sherman B.T. i sur. 2022.; Huang D.W. i sur., 2009.).

## 4 Rezultati

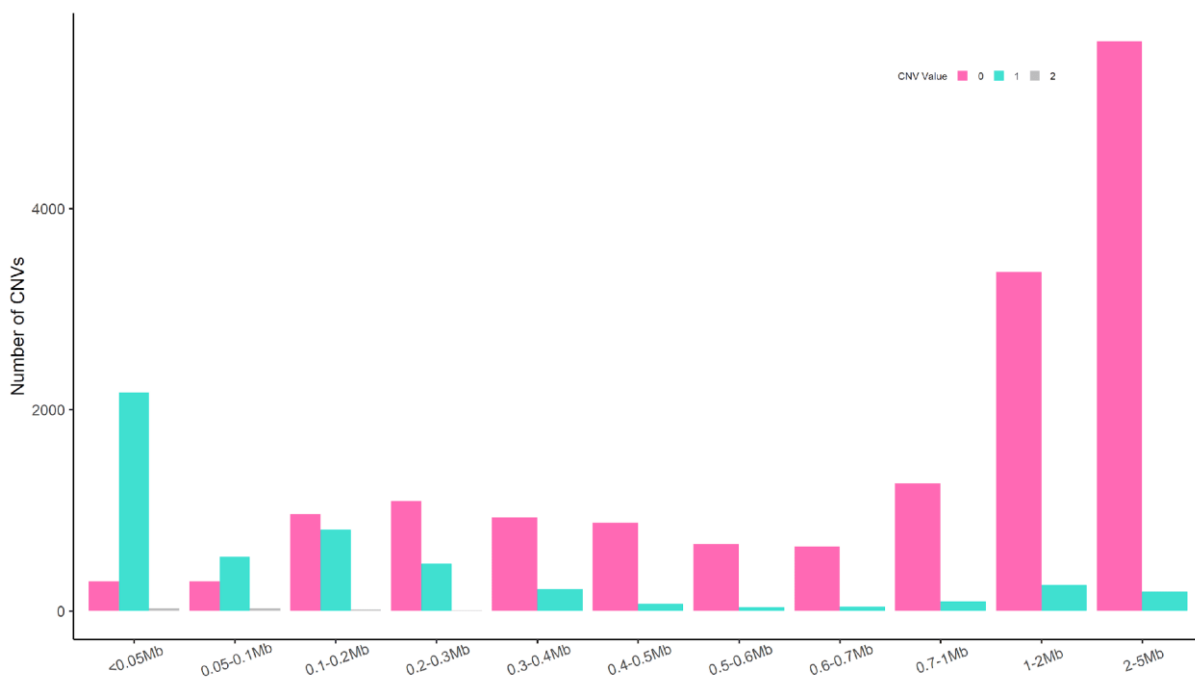
### 4.1 Varijante broja kopija (CNV)

Nakon kontrole kvalitete, a prije detekcije CNV-ova podaci su sadržavali 531 918 SNP-ova i 98 jedinki (zbog loše kvalitete genotipova izbačena je jedna jedinka iz populacije dubrovačke rude i jedna iz populacije dalmatinske pramenke). Rezultati dobiveni paketom PennCNV, dalje su analizirani paketom CNV čiji rezultati slijede u nastavku. U tablici 4.1. je vidljivo koji se CNV tipovi nalaze u podacima i prikazani su kao 1 – koji objašnjava pojavu delecija kojih je bilo ukupno 4896, zatim 0 – koji objašnjava neutralnu pojavu kojih je ujedno bilo i najviše (16052) i konačno 2 – koji objašnjava pojavu duplikacija kojih je bilo najmanje (62). Također su izračunate i prosječne, minimalne i maksimalne dužine.

Tablica 4.1. Sažetak CNV segmenata detektiranih u 98 jedinki iz četiri populacije (dalmatinska pramenka, dubrovačka ruda, istarska ovca, paška ovca). Duljine su izražene u baznim parovima.

<b>CNV vrijednost</b>	<b>Broj CNV-a</b>	<b>Prosječna dužina</b>	<b>Minimalna dužina</b>	<b>Maksimalna dužina</b>
1 (delecija)	4896	296658	437	4873436
0 (neutralno)	16052	1587380	437	4981849
2 (duplikacija)	62	69510	2983	269490

Putem funkcije “cnv\_visual” korištene u paketu HandyCNV, izrađen je grafički prikaz (Slika 4.1.1.) ukupnog broja CNV-ova prema njihovoj duljini baza, te je ujedno i vidljiv prevladavajući tip CNV-ova, neutralna pojava ili 0 obojan rozom bojom, te 1, obojan tirkiznom bojom koji predstavlja delecije odnosno gubitke kopija. Sivom bojom obojane su duplikacije. Najveći broj delecija čine mali CNV-ovi veličine do 50kb, a neutralni CNV-ovi su većinom veći od 1Mb. Duplikacije su također manje duljine (max 270kb).



Slika 4.1.1. Grafički prikaz broja CNV-ova

#### 4.2 Regije varijanti broja kopija (CNVR)

U nastavku su kreirane regije CNV-a ili CNVR putem funkcije “call\_cnvr” i “chr\_set 26”. One su dijelovi genoma koji sadrže jedan ili više CNV koji se preklapaju za barem jedan bazni par. Stoga se CNVR-ovi međusobno nikada ne preklapaju. Prvi rezultat je kratka sažeta tablica koja prikazuje broj CNVR-ova po duljini i tipu (delecija, duplikacija i oboje.). Tip “oboje” znači da su i duplikacije i delecije prisutne unutar istog CNVR-a. U Tablici 4.2. je prikazan sažetak dobivenih CNVR-ova kojih je ukupno bilo 955, a prevladavajući tip CNV-a je delecija odnosno gubitak postojećih sekvenci.

Tablica 4.2. Sažetak CNVR-ova detektiranih u 98 jedinki iz četiri populacije (dalmatinska pramenka, dubrovačka ruda, istarska ovca, paška ovca). Duljine su izražene u baznim parovima.

Tip CNVR-a	Broj CNVR-a	Prosječna dužina	Min. Dužina	Maks. Dužina	Ukupna dužina
Delecija (gubitak)	955	1282122	437	4981849	1224426162

### 4.3 Regije varijanti broja kopija (CNVR) po kromosomu

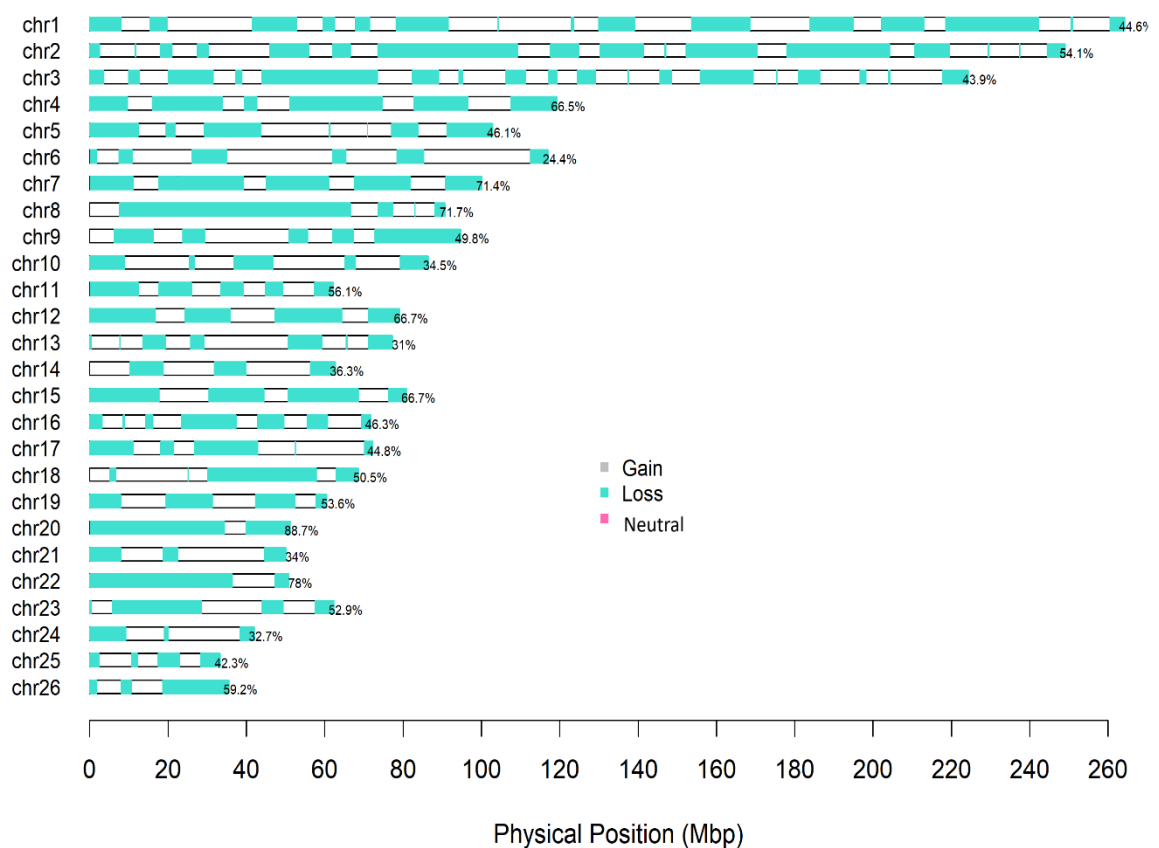
U Tablici 4.3. prikazuju se rezultati za CNVR-ove po kromosomu, odnosno distribucija navedenih 955 regija na dvadeset i šest autosomnih kromosoma. Vidljivo je kako je drugi kromosom sadržavao najviše CNVR-ova, njih sto i jedan, dok je kromosom 21 imao najmanje CNVR-ova, samo sedam. Prema slici 4.3.1. vidljiv je i vizualni prikaz spomenutih regija prema svakom kromosomu.

Tablica 4.3. Tablica CNVR-ova po kromosomima u u 98 jedinki iz četiri populacije (dalmatinska pramenka, dubrovačka ruda, istarska ovca, paška ovca). Duljine su izražene u baznim parovima.

<b>Kromosom</b>	<b>Ukupna dužina</b>	<b>Broj CNVR-a</b>	<b>Kromosom</b>	<b>Ukupna dužina</b>	<b>Broj CNVR-a</b>
<b>1</b>	117741005	71	<b>14</b>	22779308	17
<b>2</b>	134622526	101	<b>15</b>	53986799	44
<b>3</b>	98520527	81	<b>16</b>	33197342	20
<b>4</b>	79339454	50	<b>17</b>	32390409	37
<b>5</b>	47431574	35	<b>18</b>	34627616	40
<b>6</b>	28507013	14	<b>19</b>	32379591	19
<b>7</b>	71462729	66	<b>20</b>	45363234	37
<b>8</b>	65040129	48	<b>21</b>	17013182	7
<b>9</b>	47142840	31	<b>22</b>	39667343	47
<b>10</b>	29814759	19	<b>23</b>	32992894	24
<b>11</b>	34914316	41	<b>24</b>	13729238	10
<b>12</b>	52727956	42	<b>25</b>	14068981	15
<b>13</b>	23939534	24	<b>26</b>	21025863	15



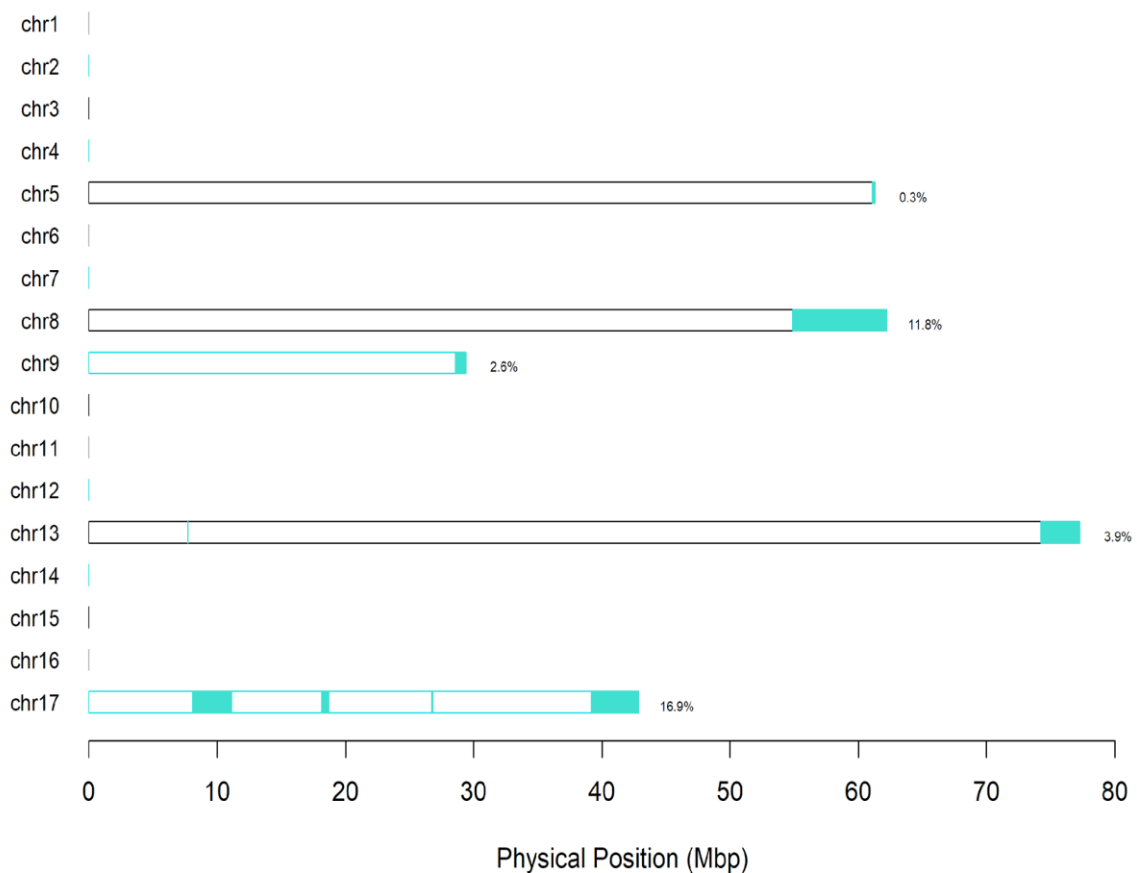
Slika 4.3.1. prikazuje dijagram CNVR distribucijske mape dobivene preko funkcije `cnvr_plot` u paketu `HandyCNV`. Dijagram prikazuje kako kromosom 20 (chr20) ima najveći postotak CNV-ova s 88,7 % pokrivenosti, dok kromosomi 21, 25 i 26 (chr21, chr25, chr26) pokazuju puno manji postotak pokrivenosti. Kromosomi 1,2 i 3 (chr1, chr2, chr3) pokazuju također značajnu pokrivenost u rasponu od 40-60 %. Nadalje, kromosom 20 (chr20) ima najveću pogođenost s delecijama (gubitkom broja kopija), dok kromosomi 21, 24 i 26 (chr21, chr24, chr 26) pokazuju puno manju pogođenost delecijama.



Slika 4.3.1. Dijagram CNVR distribucijske mape

#### 4.4 Geni u CNVR regijama specifičnim za pašku ovcu

CNVR regije specifične za pašku ovcu dobivene su putem funkcije `compare_cnvr` u paketu HandyCNV. Jedinstvene regije su iznimno korisne i bitne jer prikazuju po kojim se točno regijama i genima paške ovce razlikuju od ostalih pasmina čiji su podaci korišteni u svrhu ove komparacije. Slika 4.4. prikazuje kako kromosom 17 ima najveću prekrivenost CNV regijama sa 16.9 %, dok peti kromosom ima najmanju pokrivenost s 0.3 %. U Tablici 4.4.1. prikazano je ukupno 18 CNVR-ova specifičnih za pašku ovcu. Tablica sadrži identifikacijski broj CNVR-ova, njihove početne i krajnje regije, te kromosom na kojem se nalaze. Također je za sljedeći korak analize prikazana i proširena regija u kojoj se razmatra CNVR te 1Mb genoma prije njegovog početka i 1Mb nakon njegovog kraja. U svih 18 regija prevladava delecija odnosno gubitak broja kopija. Korištenjem alata Golden Helix Genome Browse 3.1.0 (Golden Helix, Inc.) dobiven popis gena detektiranih u 18 CNVR-ova i njihovih proširenih regija (Tablica 4.4.2.). Ukupno je pronađeno 160 gena. Njihov popis i funkcije nalaze se u Prilogu 1.



Slika 4.4. Slika distribucijske mape CNVR-ova jedinstvenih za pašku ovcu.

Tablica 4.4.1. Tablica CNVR-ova jedinstvenih za pašku ovcu i proširenih regija za  $\pm 1\text{Mb}$ .

	<b>CNVR ID</b>	<b>Krom.</b>	<b>Početak</b>	<b>Kraj</b>	<b>Početak proširene regije</b>	<b>Kraj proširene regije</b>
<b>1.</b>	CNVR 322	5	61103130	61296265	60103113	62296265
<b>2.</b>	CNVR 454	8	54868792	56304604	53868792	57304604
<b>3.</b>	CNVR 455	8	56308522	59190435	55308522	60190435
<b>4.</b>	CNVR 456	8	59193803	60126125	58193803	61126125
<b>5.</b>	CNVR 457	8	60128909	60136251	59128909	61136251
<b>6.</b>	CNVR 458	8	60138526	62201087	59138526	63201087
<b>7.</b>	CNVR 475	9	28597870	29348322	27597870	30348322
<b>8.</b>	CNVR 476	9	29372419	29385721	28372419	30385721
<b>9.</b>	CNVR 602	13	7694349	7706057	6694349	8706057
<b>10.</b>	CNVR 623	13	74264468	77259870	73264468	78259870
<b>11.</b>	CNVR 715	17	8094418	11075996	7094418	12075996
<b>12.</b>	CNVR 716	17	11079219	11097267	10079219	12097267
<b>13.</b>	CNVR 717	17	18157183	18215953	17157183	19215953
<b>14.</b>	CNVR 718	17	18225614	18657878	17225614	19657878
<b>15.</b>	CNVR 722	17	26724346	26814959	25724346	27814959
<b>16.</b>	CNVR 736	17	39201820	40103811	38201820	41103811
<b>17.</b>	CNVR 737	17	40104582	42821030	39104582	43821030
<b>18.</b>	CNVR 738	17	42833602	42873392	41833602	43873392

Tablica 4.4.2. Tablica gena u CNVR proširenim regijama prisutnih samo kod paške ovce.

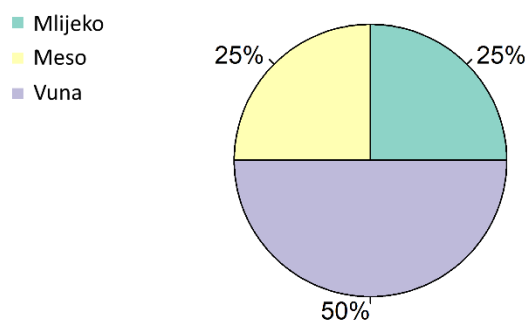
	<b>CNVR ID</b>	<b>Geni</b>
<b>1.</b>	CNV3 322	<i>SLC36A2, SLC36A1, FAT2, SPARC, ATOX1, G3BP1, GLRA1, NMUR2</i>
<b>2.</b>	CNVR 454	<i>LAMA2, ARHGAP18, L3MBTL3, SAMD3, TMEM200A, EPB41L2, AKAP7</i>
<b>3.</b>	CNVR 455	<i>L3MBTL3, SAMD3, TMEM200A, EPB41L2, AKAP7, ARG1, MED23, ENPP3, ENPP1, CCN2(CTGF), MOXD1, STX7, TAAR9, TAAR2, TAAR1, VNN1, VNN2, SLC18B1, EYA4, TCF21, TBPL1, SLC2A12, SGK1, ALDH8A1, HBS1L</i>
<b>4.</b>	CNVR 456	<i>EYA4, TCF2(HNF1B), TBPL1, SLC2A12, SGK1, ALDH8A1, HBS1L, MYB, AHI1, PDE7B</i>
<b>5.</b>	CNVR 457	<i>TBPL1, SLC2A12, SGK1, ALDH8A1, HBS1L, MYB, AHI1, PDE7B</i>
<b>6.</b>	CNVR 458	<i>TBPL1, SLC2A12, SGK1, ALDH8A1, HBS1L, MYB, AHI1, PDE7B, FAM54A (MTRF2), BCLAF1, MAP7, MAP3K5, PEX7, SLC35D3, IL20RA, IL22RA2, IFNGR1, OLIG3, TNFAIP3, PERP, KIAA1244 (ARFGF3)</i>
<b>7.</b>	CNVR 475	<i>TRIB1, NSMCE2, KIAA0196 (WASHC5), SQLEZNF572, MTSS1, NDUFB9, TATDN1, RNF139, TRMT12, FER1L6, FAM91A1, ANXA13, KLHL38, FBXO32, ATAD2, ZHX1, FAM83A, ZHX2</i>
<b>8.</b>	CNVR 476	<i>MTSS1, NDUFB9, TATDN1, RNF139, TRMT12, TMEM65, FER1L6, FAM91A1, ANXA13, KLHL38, FBXO32, ATAD2, ZHX1, FAM83A, ZHX2</i>
<b>9.</b>	CNVR 602	<i>MTSS1, NDUFB9, TATDN1, RNF139, TRMT12, TMEM65, FER1L6, FAM91A1, ANXA13, KLHL38, FBXO32, ATAD2, ZHX1, FAM83A, ZHX2</i>
<b>10.</b>	CNVR 623	<i>TKDP1, WFDC2, EPPIN, WFDC8, WFDC13, WFDC3, DNTTIP1, UBE2C, TNNC2, SNX21, ACOT8, ZSWIM3, SPATA25, NEURL2, CTSA, PLTP, PCIF1, ZNF335, MMP9, SLC12A5, NCOA5, CD40, CDH22, SLC35C2, ELMO2, OCSTAMP, SLC13A3, TP53RK, SLC2A10, EYA2, ZMYND8, NCOA3, SULF2, PREX1, ARFGF2, CSE1L, STAU1, DDX27, ZNF1, KCNB1, PTGIS, B4GALT5, SLC9A8, SPATA2, RNF114, SNAI1, CEBPB, PTPN1, PARD6B</i>
<b>11.</b>	CNVR 715	<i>LRBA, DCLK2, NR3C2, ARHGAP10, EDNRA, TTC29, POU4F2, SLC10A7, LSM6</i>
<b>12.</b>	CNVR 716	<i>ARHGAP10, EDNRA, TTC29, POU4F2, SLC10A7, LSM6</i>
<b>13.</b>	CNVR 717	<i>MAML3, MGST2, SETD7, RAB33B, NAA15, NDUFC1, MGARP, ELF2, SLC7A11</i>
<b>14.</b>	CNVR 718	<i>MAML3, MGST2, SETD7, RAB33B, NAA15, NDUFC1, MGARP, ELF2, SLC7A11</i>
<b>15.</b>	CNVR 722	-
<b>16.</b>	CNVR 736	<i>RAPGEF2, FNIP2, PPID, ETFDH, RXFP1, TMEM144</i>
<b>17.</b>	CNVR 737	<i>RAPGEF2, FNIP2, PPID, ETFDH, RXFP1, TMEM144, GRIA2, GLRB, PDGFC, CTSO, TDO2, ASIC5, ZNF605, ZNF26, ZNF84, ZNF10</i>
<b>18.</b>	CNVR 738	<i>GLRB, PDGFC, CTSO, TDO2, ASIC5, ZNF605, ZNF26, ZNF84, ZNF10, ZNF268</i>

#### 4.5 QTL-ovi u nepreklapajućim regijama CNVR-ova

Koristeći paket Gallo u statističkom programu R, dobiveni su rezultati QTL-ova (lokusi kvantitativnih svojstava (Tablica 4.5.). Upotrebom funkcije “find\_genes\_qtls\_around\_markers” dobiveno je deset QTL-ova (QTL) na kromosomima: 8, 9 i 13. Također, uz tablicu, na slici (Slika 4.5.1.) je vidljiv i QTL tip, a izdvojila su se tri najbitnija vuna s 50 %, te mlijeko i meso s 25 %. Uz QTL tip, dobivena su i imena QTL-ova: srednji promjer vlakna, vrijeme zgrušavanja nakon dodavanja sirila i tjelesna težina.

Tablica 4.5. Tablica QTL-ova iz Animal QTLdb baze pronađenih u CNVR regijama specifičnim za pašku ovcu.

	QTL ID	Krom.	QTL tip	Start pozicija	Kraj pozicija	Ime QTL-a
1.	263603	8	Vuna	35247461	84539654	Srednji promjer vlakna
2.	263603	8	Vuna	35247461	84539654	Srednji promjer vlakna
3.	263603	8	Vuna	35247461	84539654	Srednji promjer vlakna
4.	263603	8	Vuna	35247461	84539654	Srednji promjer vlakna
5.	263603	8	Vuna	35247461	84539654	Srednji promjer vlakna
6.	263605	9	Vuna	16528100	48994813	Srednji promjer vlakna
7.	263605	9	Vuna	16528100	48994813	Srednji promjer vlakna
8.	224815	9	Mlijeko	29414681	29414685	Vrijeme zgrušavanja sirila
9.	224815	9	Mlijeko	29414681	29414685	Vrijeme zgrušavanja sirila
10.	263625	13	Meso	58406417	85702745	Tjelesna težina



Slika 4.5.1. Kružni dijagram QTL tipova iz CNVR-ova jedinstvenih za pašku ovcu

Slijedeći rezultati su dobiveni integrirajući rezultate iz paketa Gallo s Animal QTL Database-om da bismo potvrdili QTL tip s ontologijskom osobinom proizvoda i sa drugim pasminama. Rezultati su se podudarali s imenom QTL-ova i s ontologijskom osobinom proizvoda. Navedeni QTL-ovi prije su detektirani kod merino pasmine te španjolske pasmine Churra (Tablica 4.5.2.).

Tablica 4.5.2. Tablica QTL-ova povezanih s ontologijskim osobinama proizvoda i pasminama

	QTL id	Ontologija osobine proizvoda	QTL detektiran u pasmini	Simbol
1.	263603	Promjer vunenog vlakna	Merino	MFDIAM
2.	263605	Promjer vunenog vlakna	Merino	MFDIAM
3.	224815	Vrijeme zgrušavanja mlijeka	Churra	RCT
4.	263625	Tjelesna težina	Merino	BW

## 5 Rasprava

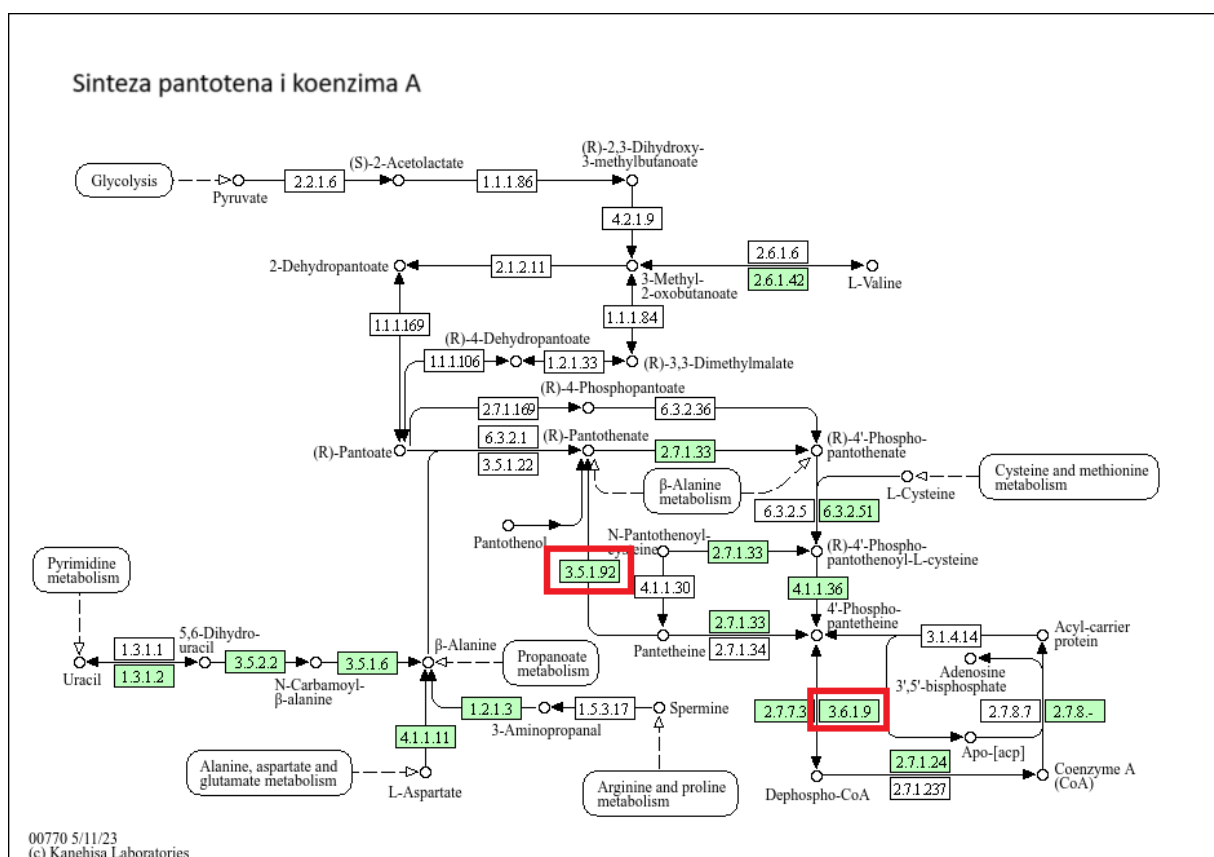
Varijante broja kopija (CNV-ovi) su dijelovi DNK koji se razlikuju po broju kopija među pojedincima i na taj način pridonose genetskoj raznolikosti, što ih čini iznimno bitnim za istraživanja. Postoje tri tipa glavnih CNV-ova a to su: delecije, duplikacije i složene preraspodjele čime utječu na ekspresiju gena ali i na fenotipska svojstva. Dobiveni rezultati su prikazali kako je kod paške ovce prevladavala delecija odnosno gubitak broj kopija. Delecije kod ovaca mogu signifikantno utjecati na različita svojstva ovisno o zahvaćenim genima. Ponajviše su to svojstva vezana uz opće zdravlje kao što su problemi u razvoju ili povećana osjetljivost na bolesti. Nadalje, mogu utjecati na svojstva vezana uz proizvodnju vune, zatim svojstva vezana uz proizvodnju mlijeka što bi uvelike negativno utjecalo na pasminu poput paške ovce, koja se povezuje s proizvodnjom punomasnog tvrdog sira i proizvodi otprilike 150 kg mlijeka po laktaciji s prosječnim udjelom masti od 7,3 % i udjelom bjelancevina od 5,8 % po čemu se izdvaja od ostalih pasmina ovaca s kojima je bila uspoređena u ovom radu (Barać Z. i sur., 2013.). Iako većina delecija ima negativnih utjecaja na određena svojstva, u nekim slučajevima oni mogu poboljšati svojstva ovisno u funkciji izbrisanih gena (Zhang F. i Lupski J. R., 2011.). Nadalje, CNVR-ovi su bitne regije varijanti broja kopija, a rezultati su prikazali 955 CNV regija što bi se moglo interpretirati kao značajna količina regija. S obzirom da je kromosom 20 pokazao najveću prekrivenost s CNV regijama, u postotku od čak 88,7 %, moglo bi se sugerirati da ovaj kromosom igra ključnu ulogu u genetskoj raznolikosti ali i na fenotipskoj razini kod paške ovce. Sljedeći rezultati, dobiveni usporedbom paške ovce s tri autohtone hrvatske pasmine ovaca: dalmatinskom pramenkom, dubrovačkom rudom i istarskom ovcom, istaknuli su značaj paške ovce kroz osamnaest jedinstvenih CNV regija koje se ne preklapaju. Upravo se iz tih osamnaest CNV regija putem Golden Helix Genome Browse 3.1.0 (Golden Helix, Inc.) otkrilo koji se geni nalaze u tim regijama te ujedno i da je glavni tip CNV delecija. Identificirani geni u CNVR regijama kod paške ovce imaju ključne uloge u različitim biološkim procesima koji utječu na proizvodnju, zdravlje, prilagodljivost i plodnost ovaca. CNVR regije su važne jer se povezuju s genetskom varijacijom koja može doprinosti adaptaciji na specifične uvjete okoliša, kao i proizvodnim osobinama ovaca (Tablica 8.1.). Geni povezani s proizvodnjom su *SLC36A1* i *SLC36A2*. Oni su dio obitelji transportera aminokiselina i igraju važnu ulogu u metabolizmu. Mogu utjecati na iskorištavanje hranjivih tvari i energetske učinkovitost, što može poboljšati prinos mesa i mlijeka (Bröer S., 2008.). *FAT2* je povezan s regulacijom adhezije stanica i potencijalno utječe na razvoj masnog tkiva i kvalitetu mesa (Jiao

i Zhang, 2013.). *SGK1* je uključen u regulaciju ionskog transporta i ravnotežu vode i soli, što može imati utjecaj na mliječnu proizvodnju i održavanje homeostaze (Lang i sur., 2019.). *CCN2* (*CTGF*) potiče rast vezivnog tkiva, što može igrati ulogu u kvaliteti mesa i strukturi mišićnog tkiva (Aguilar-García i sur., 2022.). U detektiranim regijama nalaze se i geni odgovorni za zdravlje i imunološki odgovore. *SPARC* regulira remodeliranje tkiva i ima važnu ulogu u ozdravljenju rana i održavanju kože, što može biti važno za otpornost na vanjske ozljede i bolesti (Bradshaw, A.D., 2009.). *IL20RA* i *IL22RA2* su receptori za interleukine uključeni u imunološki odgovor. Pomažu u zaštiti od infekcija i podržavaju imunološki sustav (Ouyang i sur., 2011.). *TNFAIP3* je inhibitor upalnih odgovora smanjuje rizik od kronične upale (Zhang i sur., 2021.), a *CD40* je bitan za regulaciju imunološkog sustava i odgovor na infekcije (Gossner i sur., 2017.). Posebno su zanimljivi i geni koji se mogu povezati s adaptabilnošću na okoliš koji je za pašku ovcu prilično surov. *VNN1* i *VNN2* su geni koji reguliraju antioksidativni odgovor i pomažu ovci da se nosi sa stresom izazvanim okolišnim faktorima kao što su hladnoća, vrućina ili loša ishrana (Berruyer i sur., 2004.). *HNF1B* je povezan s regulacijom metabolizma, što može biti važno za prilagodbu ovaca na različite hranidbene režime (Yamaguchi i sur., 2021.). *RAPGEF2* i *RAB33B* reguliraju staničnu signalizaciju i mogu biti važni za odgovor na stres (Emery i sur., 2013.; Zheng i sur., 1998.). Kod uzgoja paške ovce važno je da ovce svake godine ostanu bređe kako bi potom krenule u laktaciju, a i kako bi dale janjad koja se vrlo cijeni u gastronomiji. Stoga su bitni geni koji su povezani s reprodukcijom. Gen *RXFP1*, receptor za relaksin, igra ključnu ulogu u reproduktivnom procesu, uključujući pripremu maternice za gravidnost (Hsu i sur., 2002.). TAAR geni (*TAAR1*, *TAAR2*, *TAAR9*) povezani s percepcijom mirisa i mogu stoga utjecati na reproduktivno ponašanje (Liberles, S. D., 2015.). Gen *EYA2* važan je za razvoj jajnika i regulaciju reproduktivnog ciklusa kod ženki, a *SPATA2* je uključen u spermatogenezu i ključan za plodnost muških jedinki (Masola i sur., 2022.). Funkcije spomenutih gena već su detaljno proučavane u različitim vrstama životinja i uglavnom su istražene u drugim modelima sisavaca uključujući i ovce i goveda, no studije za pašku ovcu još nisu objavljene.

Korištenjem paketa „Gallo“ (Fonseca i sur., 2024.) u programu R, osamnaest CNVR regija integrirano je s QTL-ovima. Nedavna istraživanja pokazala su kako je mapiranje CNVR-ova s QTL-ovima iznimno bitno za razumijevanje genetskih varijacija ali i za razumijevanje kako te varijacije doprinose i korisnim i štetnim osobinama u populaciji ovaca (Xu L. i sur., 2016.). Rezultati dobiveni u navedenom paketu dokazali su kako prevladavaju tri glavna tip QTL-ova



u CNVR-ovima jedinstvenim za pašku ovcu, a to su oni povezani s vunom, proizvodnjom mlijeka i proizvodnjom mesa, pri čemu dva QTL (50 %) otpadaju na vunu, dok se za meso i mlijeko CNVR regije preklapaju s po jednim QTL-om. Koristeći Animal QTLdb i dobivene QTL identifikacijske brojeve dobivena je povezanost paške ovce s ontologijskim svojstvima osobina ali i s ostalim pasminama (Ramos Z. i sur., 2023.; Marina H. i sur., 2021.). Za promjer vunenog vlakna identičan QTL nađen je kod merino ovce što potvrđuje oplemenjivanje paške ovce ovom pasminom. Također i povezanost vidimo i preklapanje QTL-a sa španjolskom churra pasminom, koja se kao i paška ovca ističe kao mliječna pasmina. Konačno, lista gena iz CNVR regija specifičnih za pašku ovce provučena je kroz alat DAVID (<https://david.ncifcrf.gov/home.jsp>) kako bi se dobiveni geni stavili u kontekst metaboličkih puteva. Dobivene su četiri glavne putanje koje povezuju gene s biološkim procesima. Prva je sinteza pantotena (vitamin B5) i koenzima A povezanih s genima *VNN1*, *VNN2*, *ENPP3* i *ENPP1* (Slika 5.1.). Obzirom da je pantotenska kiselina neophodna za sintezu koenzima A, ovaj put je iznimno bitan za razgradnju masnih kiselina ali i za metabolizam glukoze kod ovaca.

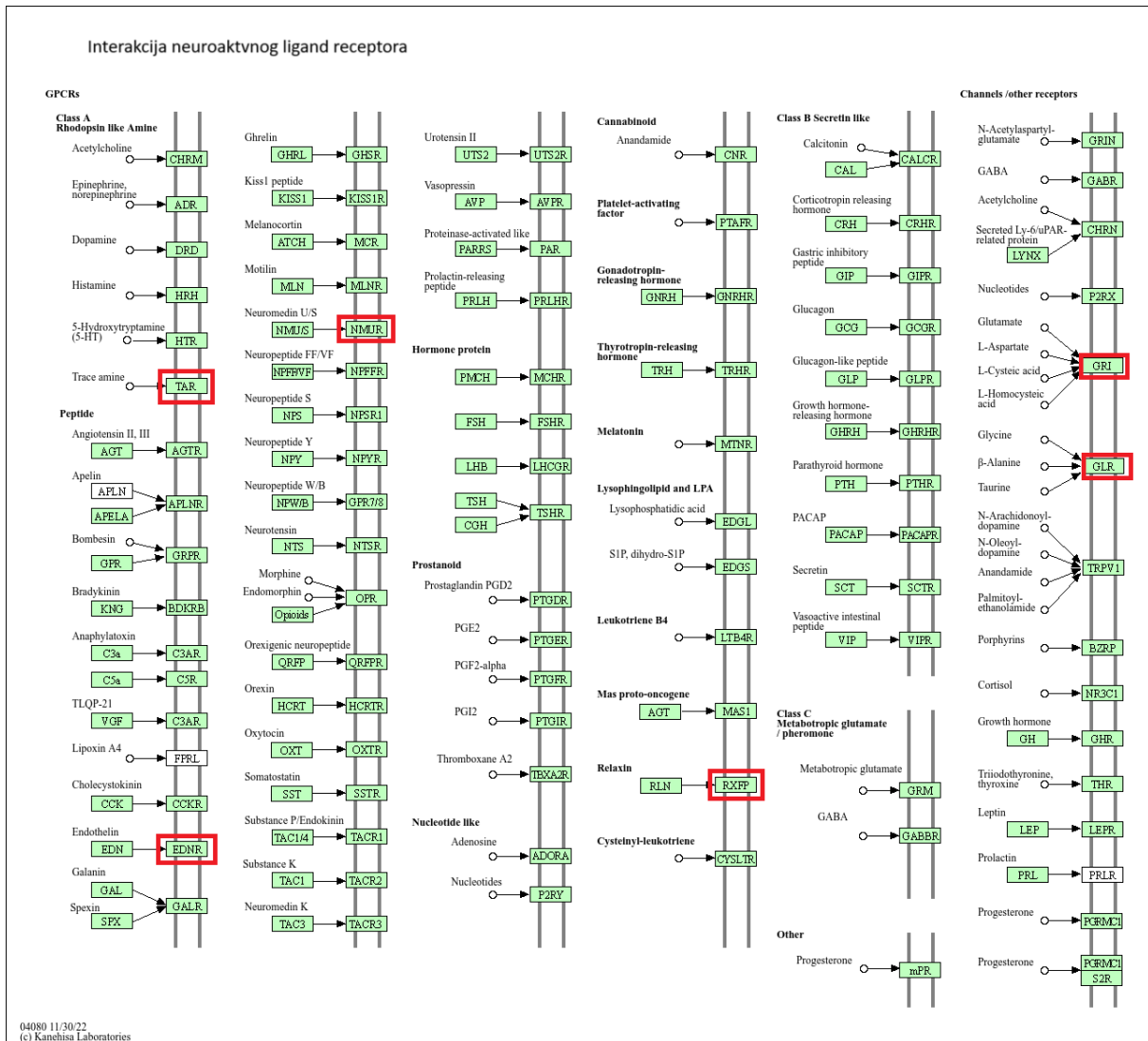


Slika 5.1. Sinteza pantotena i koenzima A.

Crvenim kvadratom označena su mjesta na koja utječu geni od interesa (3.5.1.92 – *VNN1*, *VNN2* i 3.6.1.9 – *ENPP3*, *ENPP1*)

(Generirano putem: <https://david.ncifcrf.gov/chartReport.jsp?annot=52>)

Drugi put je interakcija neuroaktivnog ligand receptora koji je povezan s genima *EDNRA*, *GRIA2*, *GLRA1*, *GLRB*, *NMUR2*, *RXFP1*, *TAAR1*, *TAAR9* (Slika 5.2.). Neuroaktivni ligand-receptor sustav omogućuje komunikaciju između stanica i koordinaciju fizioloških procesa, posebno onih povezanih s ponašanjem, emocionalnim stanjem i odgovorom na vanjske podražaje. Posreduje u komunikaciji između živčanog i imunološkog sustava, a ova veza naziva se neuroimunološka interakcija (Levite M., 2008.).

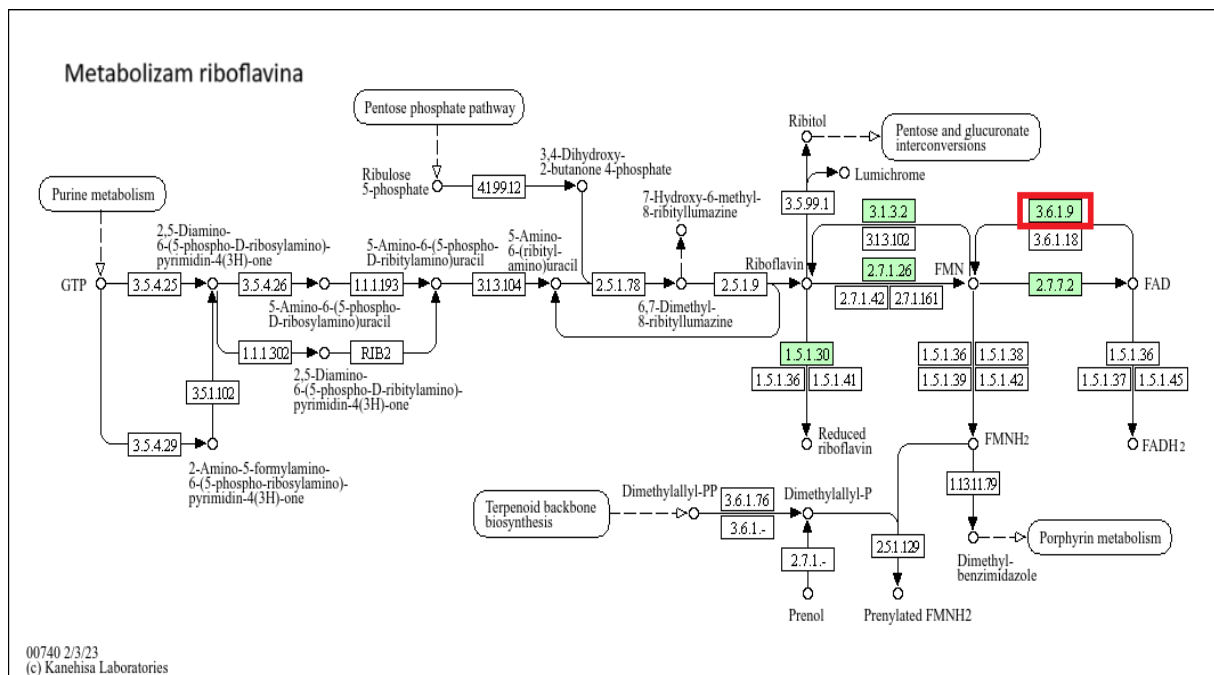


Slika 5.2. Interakcija neuroaktivnog ligand receptora

Crvenim kvadratom označena su mjesta na koja utječu geni od interesa (*TAR* – receptor povezan s aminom u tragovima, *EDNR* – endotelinski receptor tipa A, *NMUR* – neuromedin U receptor, *RXFP* – peptidni receptor obitelji relaksina, *GRI* – glutamatni ionotropni receptor AMPA tip, *GLR* – glicin receptor alfa)

(Generirano putem: <https://david.ncifcrf.gov/chartReport.jsp?annot=52>)

Treći put je metabolizam riboflavina koji je povezan s genima *ENPP1* i *ENPP3* (Slika 5.3.). Riboflavin (vitamin B2) je bitan u proizvodnji energije u staničnom disanju, a njegova optimalna razina utječe i na održavanje razine proizvodnje mlijeka što je iznimno bitno za pašku ovcu koja je poznata po svome siru, nedostatak s druge strane, može dovesti do metaboličkih poremećaja. Ovaj vitamin je posebno važan u osiguravanju energetske učinkovitosti, što je presudno za stvaranje mlijeka i održavanje zdravlja mliječnih žlijezda (Ren N. i sur., 2023.).

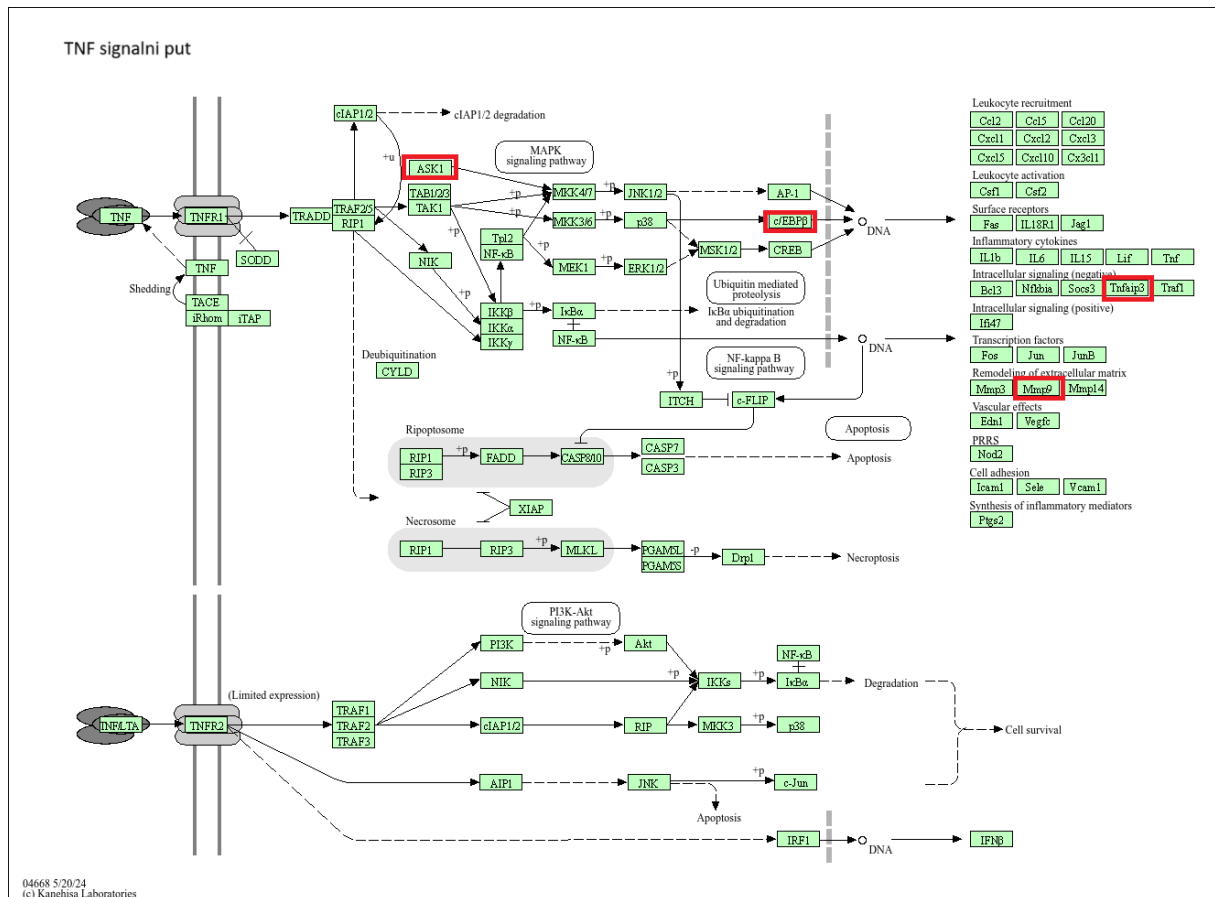


Slika 5.3. Metabolizam riboflavina

Crvenim kvadratom označena su mjesta na koja utječu geni od interesa (3.6.1.9 – *ENPP3*, *ENPP1* ektonukleotid pirofosfataza / fosfodiesteraza 1)

(Generirano putem: <https://david.ncicrf.gov/chartReport.jsp?annot=52>)

Četvrti put je TNF signalni put koji je povezan s genima *CEBPB*, *TNFAIP3*, *MMP9* i *MAP3K5* (Slika 5.4.). Ovaj put je ključan u regulaciji imunoloških odgovora i upala ali i u regulaciji stanične smrti (apoptoze) koja je neophodna za održavanje zdravog tkiva u ovaca. Također, prekomjerna aktivacija ovog puta može dovesti do poremećaja poput kroničnih upala (Sherman B.T. i sur. 2022.; Huang D.W. i sur., 2009).



Slika 5.4. TNF signalni put

Crvenim kvadratom označena su mjesta na koja utječu geni od interesa (*ASK1* – mitogen aktivirana protein kinaza 5, *CEBPB* – CCAAT pojačivač vezujućeg proteina beta, *MMP9* – matrična metalopeptidaza 9, *TNFAIP3* – TNF alfa inducirani protein 3) (Generirano putem: <https://david.ncifcrf.gov/chartReport.jsp?annot=52>)

Istraživanje varijacija broja kopija (CNV) kod paške ovce otkrilo je genetske čimbenike koji igraju ključnu ulogu u različitim biološkim procesima, uključujući proizvodnju mlijeka, zdravlje, prilagodbu okolišu i plodnost. U kombinaciji, ovi putevi pružaju uvid u genetsku osnovu prilagodljivosti paške ovce na specifične uvjete okoliša, te omogućuju poboljšanje selekcijskih uzgojnih programa za povećanje proizvodnje i otpornosti, čime će se osigurati visoka kvaliteta proizvoda poput mlijeka i sira, po kojima je paška ovca poznata.

## 6 Zaključak

U kontekstu genetike, varijacije broja kopija sugeriraju kako genom nije jednostavna kombinacija roditeljskih gena, nego je podložan promjenama zbog nejednakih prijeloma kromosoma tijekom stvaranja spolnih stanica. Ove varijacije mogu uzrokovati dodavanje ili gubitak dijelova genetskog materijala, što može imati značajan utjecaj na nasljedni rizik za bolesti. Genetičari su prepoznali da rijetke, velike strukturne varijante mogu igrati ključnu ulogu u nastanku čestih bolesti poput autizma ili šizofrenije, što ukazuje na dinamičniju i prilagodljiviju prirodu ljudskog genoma nego što se ranije mislilo. Varijante broja kopija predstavljaju ključnu ulogu i u određenim kvantitativnim svojstvima kao što su rast, reprodukcija, kvaliteta vune i otpornost na bolesti koja su iznimno bitna kod ovaca. Također proučavanje CNV-ova kod ovaca nam daje uvid u identificiranje genetskih markera koji su povezani s ekonomski važnim svojstvima koji će u konačnici poslužiti kao smjernica s selektivne uzgojne programe. S obzirom da je paška ovca jedna od glavnih hrvatskih autohtonih pasmina ovaca, proučavanje CNV-ova na ovoj pasmini je iznimno bitno, posebno iz razloga što se ona prilagodila jedinstvenom kamenitom okolišu otoka Paga. Geni identificirani u CNVR regijama kod paške ovce igraju važnu ulogu u ključnim procesima koji utječu na njihovu proizvodnju, zdravlje, prilagodbu na okoliš i plodnost. Ovi geni mogu pomoći u daljnjem razumijevanju genetskih osnova produktivnosti i otpornosti, što je od značaja za unapređenje uzgojnih programa i poboljšanje učinkovitosti u stočarstvu. Istraživanje CNV-ova na Paškoj ovci može pridonijeti otkrivanju genetskih čimbenika koji su zaslužni za njezine visokokvalitetne proizvode kao što je mlijeko i njegov pod proizvod sir kao i otpornost na stresne faktore iz okoliša.

## 7 Popis literature

1. Aguilar-García, D., Fernández-Sarmiento, J. A., del Mar Granados Machuca, M., Rodríguez, J. M., Muñoz Rascón, P., Navarrete Calvo, R., Millán Ruiz, Y., Carrillo Poveda, J. M., Muñoz Castañeda, J., Cugat Bertomeu, R., Domínguez Pérez, J. M. (2022). Histological and biochemical evaluation of plasma rich in growth factors treatment for grade II muscle injuries in sheep. *BMC Veterinary Research*, 18(1), 400. <https://doi.org/10.1186/s12917-022-03491-2>
2. Arbuckle, B. S., Çakırlar, C., Ertuğrul, M., Gümüş, S., Özdogru, K. (2014). Data sharing reveals complexity in the westward spread of domestic animals across Neolithic Turkey. *PLoS ONE*, 9(5), e99845. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0099845>
3. Arlt, M. F., Rajendran, S., Birkeland, S. R., Wilson, T. E., Glover, T. W. (2014). Copy number variants are produced in response to low-dose ionizing radiation in cultured cells. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 55(2), 103–113. <https://doi.org/10.1002/em.21840>
4. Arlt, M. F., Wilson, T. E., Glover, T. W. (2012). Replication stress and mechanisms of CNV formation. *Current Opinion in Genetics and Development*, 22(3), 204–210. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2012.01.009>
5. Bailey, J. A., Gu, Z., Clark, R. A., Reinert, K., Samonte, R. V., Schwartz, S., Adams, M. D., Myers, E. W., Li, P. W., Eichler, E. E. (2002). Recent segmental duplications in the human genome. *Science*, 297(5583), 1003–1007. <https://doi.org/10.1126/science.1072047>

6. Baird, P. N., Robman, L. D., Richardson, A. J., Dimitrov, P. N., Tikellis, G., McCarty, C. A., Guymer, R. H. (2008). Gene-environment interaction in progression of AMD: The CFH gene, smoking and exposure to chronic infection. *Human Molecular Genetics*, 17(9), 1299–1305. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddn020>
7. Barać, Z., Mioč, B., Špehar, M. (2013). Udjeli mliječne masti i bjelančevina u mlijeku paške. *Mljekarstvo*, 63(2), 81–90. <https://doi.org/10.15567/mljekarstvo.2013.0202>
8. Beroukhim, R., Mermel, C. H., Porter, D., Wei, G., Raychaudhuri, S., Donovan, J., Meyerson, M. (2010). The landscape of somatic copy-number alteration across human cancers. *Nature*, 463(7283), 899–905. <https://doi.org/10.1038/nature08822>
9. Berruyer, C., Martin, F. M., Castellano, R., Macone, A., Malergue, F., Garrido-Urbani, S., Millet, V., Imbert, J., Duprè, S., Pitari, G., Naquet, P., Galland, F. (2004). Vanin-1<sup>-/-</sup> mice exhibit a glutathione-mediated tissue resistance to oxidative stress. *Molecular and Cellular Biology*, 24(16), 7214–7224. <https://doi.org/10.1128/MCB.24.16.7214-7224.2004>
10. Bhanuprakash, V., Chhotaray, S., Pruthviraj, D. R., Rawat, C., Karthikeyan, A., Panigrahi, M. (2018). Copy number variation in livestock: A mini review. *Veterinary World*, 11(4), 535-541. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2018.535-541>
11. Bickhart, D. M., Liu, G. E. (2014). The challenges and importance of structural variation detection in livestock. *Frontiers in Genetics*, 5, 37. <https://doi.org/10.3389/fgene.2014.00037>
12. Bradshaw, A. D. (2009). The role of SPARC in extracellular matrix assembly. *Cell Communication and Signaling*, 3(3–4), 239–246. <https://doi.org/10.1007/s12079-009-0062-6>

13. Bridges, C. B. (1936). The Bar Gene „a“ Duplication. *Science*, 83(2148), 210-213.  
<https://doi.org/10.1126/science.83.2148.210>
14. Bröer, S. (2008). Amino acid transport across mammalian intestinal and renal epithelia. *Physiological Reviews*, 88(1), 249–286.  
<https://doi.org/10.1152/physrev.00018.2006>
15. Butty, A. M., Chud, T. C. S., Miglior, F., Schenkel, F. S., Kommadath, A., Krivushin, K., Baes, C. F. (2020). High confidence copy number variants identified in Holstein dairy cattle from whole genome sequence and genotype array data. *Scientific Reports*, 10(1), 8044. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-64680-3>
16. Cardoso, F. R. (2020). Gallo: An R package for the analysis of copy number variation data. *Journal of Statistical Software*, 93(6), 1-31.  
<https://doi.org/10.18637/jss.v093.i06>
17. Chang, C. C., Chow, C. C., Tellier, L. C., Vattikuti, S., Purcell, S. M., Lee, J. J. (2015). Second-generation PLINK: Rising to the challenge of larger and richer datasets. *GigaScience*, 4(1), 7. <https://doi.org/10.1186/s13742-015-0047-8>
18. Chen, C., Qiao, R., Wei, R., Guo, Y., Ai, H., Ma, J., Zhang, Y. (2012). A comprehensive survey of copy number variation in 18 diverse pig populations and identification of candidate copy number variable genes associated with complex traits. *BMC Genomics*, 13, 733. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-13-733>
19. Chen, L., Zhou, W., Zhang, L., Zhang, F. (2014). Genome architecture and its roles in human copy number variation. *Genomics and Informatics*, 12(4), 136–144.  
<https://doi.org/10.5808/GI.2014.12.4.136>



20. Chen, Z. H., Xu, Y. X., Xie, X. L., Wang, D. F., Aguilar-Gómez, D., Liu, G. J., Li, X., Esmailizadeh, A., Rezaei, V., Kantanen, J., et al. (2021). Whole-genome sequence analysis unveils different origins of European and Asiatic mouflon and domestication-related genes in sheep. *Communications Biology*, 4(1), 1–15. <https://doi.org/10.1038/s42003-021-01885-x>
21. Cheng, H., Zhang, Z., Wen, J., Lenstra, J. A., Heller, R., Cai, Y., Guo, Y., Li, M., Li, R., Li, W., et al. (2023). Long divergent haplotypes introgressed from wild sheep are associated with distinct morphological and adaptive characteristics in domestic sheep. *PLoS Genetics*, 19(1), e1010615. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1010615>
22. Clop, A., Vidal, O., Amills, M. (2012). Copy number variation in the genomes of domestic animals. *Animal Genetics*, 43(5), 503-517. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.2012.02317.x>
23. Conrad, D. F., Pinto, D., Redon, R., Feuk, L., Gokcumen, O., Zhang, Y., Hurler, M. E. (2010). Origins and functional impact of copy number variation in the human genome. *Nature*, 464(7289), 704–712. <https://doi.org/10.1038/nature08516>
24. de Lange, K. M., Moutsianas, L., Lee, J. C., Lamb, C. A., Luo, Y., Kennedy, N. A., Anderson, C. A. (2017). Genome-wide association study implicates immune activation of multiple integrin genes in inflammatory bowel disease. *Nature Genetics*, 49(2), 256–261. <https://doi.org/10.1038/ng.3760>
25. Eichler, E. E. (2008). Copy number variation and human disease. *Nature Education*, 1(3), 1.

26. Elder, P. J. D., Ramsden, D. B., Burnett, D., Weickert, M. O., Barber, T. M. (2018). Human amylase gene copy number variation as a determinant of metabolic state. *Expert Review of Endocrinology and Metabolism*, 13(4), 193–205. <https://doi.org/10.1080/17446651.2018.1489726>
27. Emery, A. C., Eiden, M. V., Mustafa, T., Eiden, L. E. (2013). Rapgef2 connects GPCR-mediated cAMP signals to ERK activation in neuronal and endocrine cells. *Science Signaling*, 6(281), ra51. <https://doi.org/10.1126/scisignal.2003993>
28. Fernandes, A. C., da Silva, V. H., Goes, C. P., Moreira, G. C., Godoy, T. F., Ibelli, A. M., De Almeida, R. M. (2021). Genome-wide detection of CNVs and their association with performance traits in broilers. *BMC Genomics*, 22, 76. <https://doi.org/10.1186/s12864-021-07676-1>
29. Fonseca, P., Suarez-Vega, A., Marras, G., Cánovas, A. (2024). GALLO: Genomic Annotation in Livestock for Positional Candidate LOci (Version 1.5) [R package]. Comprehensive R Archive Network (CRAN). <https://CRAN.R-project.org/package=GALLO>
30. Fontanesi, L., Beretti, F., Martelli, P. L., Colombo, M., Dall'olio, S., Occidente, M., Portolano, B., Casadio, R., Matassino, D., Russo, V. (2011). A first comparative map of copy number variations in the sheep genome. *Genomics*, 97(3), 158–165. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2010.11.002>
31. Fontanesi, L., Dall'Olio, S., Beretti, F., Portolano, B., Russo, V. (2011). Coat colours in the Massese sheep breed are associated with mutations in the agouti signaling protein (ASIP) and melanocortin 1 receptor (MC1R) genes. *Animal*, 5(1), 8–17. <https://doi.org/10.1017/S175173111000146X>

32. Fontanesi, L., Martelli, P. L., Beretti, F., Riggio, V., Dall'olio, S., Colombo, M., Casadio, R., Russo, V., Portolano, B. (2010). An initial comparative map of copy number variations in the goat (*Capra hircus*) genome. *BMC Genomics*, 11(1), 639. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-11-639>
33. Freeman, J. L., Perry, G. H., Feuk, L., Redon, R., McCarroll, S. A., Altshuler, D. M., Iafrate, A. J. (2006). Copy number variation: new insights in genome diversity. *Genome Research*, 16(9), 949–961. <https://doi.org/10.1101/gr.3677206>
34. Golden Helix, Inc. (2023). GenomeBrowse visualization tool (Version 3.1.0) [Software]. Golden Helix, Inc. <https://www.goldenhelix.com>
35. Gonzalez, E., Kulkarni, H., Bolivar, H., Mangano, A., Sanchez, R., Catano, G., Ahuja, S. K. (2005). The influence of CCL3L1 gene-containing segmental duplications on HIV-1/AIDS susceptibility. *Science*, 307(5714), 1434–1440. <https://doi.org/10.1126/science.1106930>
36. Gossner, A., Watkins, C., Chianini, F., Hopkins, J. (2017). Pathways and genes associated with immune dysfunction in sheep paratuberculosis. *Scientific Reports*, 7, 46695. <https://doi.org/10.1038/srep46695>
37. Greenblum, S., Carr, R., Borenstein, E. (2015). Extensive strain-level copy-number variation across human gut microbiome species. *Cell*, 160(4), 583–594. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.01.001>
38. Hartevelde, C. L., Higgs, D. R. (2010). Alpha-thalassaemia. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 5, 13. <https://doi.org/10.1186/1750-1172-5-13>

39. Hastings, P. J., Lupski, J. R., Rosenberg, S. M., Ira, G. (2009). Mechanisms of change in gene copy number. *Nature Reviews Genetics*, 10(8), 551–564. <https://doi.org/10.1038/nrg2593>
40. Hirano, T., Kobayashi, N., Itoh, T., Takasuga, A., Nakamaru, T., Hirotsune, S., Sugimoto, Y. (2000). Null mutation of PCLN-1/Claudin-16 results in bovine chronic interstitial nephritis. *Genome Research*, 10(5), 659–663. <https://doi.org/10.1101/gr.10.5.659>
41. Hovhannisyan, G., Harutyunyan, T., Aroutiounyan, R., Liehr, T. (2019). DNA copy number variations as markers of mutagenic impact. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(19), 4723. <https://doi.org/10.3390/ijms20194723>
42. Hsu, S. Y., Nakabayashi, K., Nishi, S., Kumagai, J., Kudo, M., Sherwood, O. D., Hsueh, A. J. (2002). Activation of orphan receptors by the hormone relaxin. *Science*, 295(5555), 671–674. <https://doi.org/10.1126/science.1065654>
43. Huang, D. W., Sherman, B. T., Lempicki, R. A. (2009). Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources. *Nature Protocols*, 4(1), 44–57. <https://doi.org/10.1038/nprot.2008.211>
44. Huang, Y., Li, Y., Wang, X., Yu, J., Cai, Y., Zheng, Z., Jiang, Y. (2021). An atlas of CNV maps in cattle, goat and sheep. *Science China Life Sciences*, 64(10), 1747-1764. <https://doi.org/10.1007/s11427-020-1850-x>
45. Igoshin, A. V., Yurchenko, A. A., Deniskova, T. E., Dotsev, A. V., Selionova, M. I., Fomenko, A. V. (2018). Copy number variation in sheep genomes: A review. *Animal Genetics*, 49(3), 201–210. <https://doi.org/10.1111/age.12719>

46. Jenkins, G. M., Goddard, M. E., Black, M. A., Brauning, R., Auvray, B., Dodds, K. G., Kijas, J. W., Cockett, N., McEwan, J. C. (2016). Copy number variants in the sheep genome detected using multiple approaches. *BMC Genomics*, 17, 441. <https://doi.org/10.1186/s12864-016-2754-7>
47. Jiao, J., Zhang, Y. (2013). Transgenic biosynthesis of polyunsaturated fatty acids: A sustainable biochemical engineering approach for making essential fatty acids in plants and animals. *Biochemical Society Reviews*, 41(2), 19–27.
48. Junior, L. P., Pinto, L. F., Cruz, V. A., Junior, G. A., Oliveira, H. R., Chud, T. S., Schenkel, F. S. (2023). Genome-wide association and functional genomic analyses for various hoof health traits in North American Holstein cattle. *Journal of Dairy Science*. <https://doi.org/10.3168/jds.2022-22087>
49. Knudsen, O. (1958). Studies on spermiocytogenesis in the bull. *International Journal of Fertility*, 3, 389–403.
50. Kruska, D. (1996). The effect of domestication on brain size and composition in the mink (*Mustela vison*). *Journal of Zoology*, 239(4), 645–661. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1996.tb05468.x>
51. Kruska, D. (1988). Effects of domestication on brain structure and behavior in mammals. *Human Evolution*, 3(6), 473–485. <https://doi.org/10.1007/bf02436333>
52. Lang, F., Stournaras, C., Zacharopoulou, N., Voelkl, J., Alesutan, I. (2019). Serum- and glucocorticoid-inducible kinase 1 and the response to cell stress. *Cell Stress*, 3(1), 1–8. <https://doi.org/10.15698/cst2019.01.170>

53. Lee, A. S., Gutiérrez-Arcelus, M., Perry, G. H., Vallender, E. J., Johnson, W. E., Miller, G. M., Korbel, J. O., Lee, C. (2008). Analysis of copy number variation in the rhesus macaque genome identifies candidate loci for evolutionary and human disease studies. *Human Molecular Genetics*, 17(8), 1127–1136.  
<https://doi.org/10.1093/hmg/ddm380>
54. Lejeune, J., Lafourcade, J., Berger, R., Vialatte, J., Boeswillwald, M., Seringe, P., Turpin, R. (1963). 3 cases of partial deletion of the short arm of a 5 chromosome. *Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l'Académie des Sciences*, 257, 3098–3102.
55. Lejeune, J., Turpin, R., Gautier, M. (1959). Mongolism; a chromosomal disease (trisomy). *Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine*, 143(11-12), 256-265.
56. Levite, M. (2008). Neurotransmitters activate T-cells and elicit crucial functions via neurotransmitter receptors. *Current Opinion in Pharmacology*, 8(4), 460–471.  
<https://doi.org/10.1016/j.coph.2008.05.001>
57. Liberles, S. D. (2015). Trace amine-associated receptors: ligands, neural circuits, and behaviors. *Current Opinion in Neurobiology*, 34, 1–7.  
<https://doi.org/10.1016/j.conb.2015.01.001>
58. Liu, G. E., Hou, Y., Zhu, B., Others. (2010). Analysis of copy number variations among diverse cattle breeds. *Genome Research*, 20(5), 693–703.  
<https://doi.org/10.1101/gr.105403.110>
59. Liu, P., Erez, A., Nagamani, S. C., Bi, W., Carvalho, C. M., Simmons, A. D., Lupski, J. R. (2011). Chromosome catastrophes involve replication mechanisms generating complex genomic rearrangements. *Cell*, 146(6), 889-903.  
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.07.042>

60. Liu, X., Chen, W., Huang, B., Wang, X., Peng, Y., Zhang, X., Chai, W., Khan, M. Z., Wang, C. (2023). Advancements in copy number variation screening in herbivorous livestock genomes and their association with phenotypic traits. *Frontiers in Veterinary Science*, 10, Article 1334434. <https://doi.org/10.3389/fvets.2023.1334434>
61. Lv, F. H., Cao, Y. H., Liu, G. J., Luo, L. Y., Lu, R., Liu, M. J., Li, W. R., Zhou, P., Wang, X. H., Shen, M. (2022). Whole-genome resequencing of worldwide wild and domestic sheep elucidates genetic diversity, introgression, and agronomically important loci. *Molecular Biology and Evolution*, 39, msab353. <https://doi.org/10.1093/molbev/msab353>
62. MacDonald, J. R., Ziman, R., Yuen, R. K. C., Feuk, L., Scherer, S. W. (2014). The Database of Genomic Variants: A curated collection of structural variation in the human genome. *Nucleic Acids Research*, 42(D1), D986–D992. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt958>
63. Marina, H., Pelayo, R., Suárez-Vega, A., Gutiérrez-Gil, B., Esteban-Blanco, C., Arranz, J. J. (2021). Genome-wide association studies (GWAS) and post-GWAS analyses for technological traits in Assaf and Churra dairy breeds. *Journal of Dairy Science*, 104(10), 10488–10505. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-00839>
64. Masola, V., Greco, N., Tozzo, P., Caenazzo, L., Onisto, M. (2022). The role of SPATA2 in TNF signaling, cancer, and spermatogenesis. *Cell Death and Disease*, 13(11), 977. <https://doi.org/10.1038/s41419-022-05432-1>
65. Matukumalli, L. K., Lawley, C. T., Schnabel, R. D., Taylor, J. F., Allan, M. F., Heaton, M. P., Van Tassell, C. P. (2009). Development and characterization of a high-density SNP genotyping assay for cattle. *PLoS ONE*, 4(4), e5350. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0005350>

66. Ma, Y., Zhang, Q., Lu, Z., Zhao, X., Zhang, Y. (2015). Analysis of copy number variations by SNP50 BeadChip array in Chinese sheep. *Genomics*, 106(5), 295–300. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2015.08.001>
67. Mohajeri, M. H., Brummer, R. J. M., Rastall, R. A., Weersma, R. K., Harmsen, H. J. M., Faas, M., Eggersdorfer, M. (2018). The role of the microbiome for human health: From basic science to clinical applications. *European Journal of Nutrition*, 57(Suppl 1), 1–14. <https://doi.org/10.1007/s00394-018-1703-4>
68. Norris, B. J., Whan, V. A. (2008). A gene duplication affecting expression of the ovine ASIP gene is responsible for white and black sheep. *Genome Research*, 18(8), 1282–1293. <https://doi.org/10.1101/gr.072090.107>
69. Ouyang, W., Rutz, S., Crellin, N. K., Valdez, P. A., Hymowitz, S. G. (2011). Regulation and functions of the IL-10 family of cytokines in inflammation and disease. *Annual Review of Immunology*, 29, 71–109. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-031210-101312>
70. Pavić, V., Mioč, B., Vnuec, I., Barać, Z., Sušić, V., Antunac, N., Samardžija, D. (2005). Vanjština paške ovce. *Zavod za specijalno stočarstvo, Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu*.
71. Pedrosa, S., Uzun, M., Arranz, J. J., Gutiérrez-Gil, B., San Primitivo, F., Bayón, Y. (2005). Evidence of three maternal lineages in Near Eastern sheep supporting multiple domestication events. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 272(1577), 2211–2217. <https://doi.org/10.1098/rspb.2005.3204>
72. Pinkel, D., Albertson, D. G. (2005). Comparative genomic hybridization. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, 6, 331–354. <https://doi.org/10.1146/annurev.genom.6.080604.162140>



73. Poole, A. C., Goodrich, J. K., Youngblut, N. D., Luque, G. G., Ruaud, A., Sutter, J. L., Ley, R. E. (2019). Human salivary amylase gene copy number impacts oral and gut microbiomes. *Cell Host and Microbe*, 25(4), 553-564.e7. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2019.03.001>
74. Pös, O., Radvanszky, J., Buglyó, G., Pös, Z., Rusnakova, D., Nagy, B., Szemes, T. (2021). DNA copy number variation: Main characteristics, evolutionary significance, and pathological aspects. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 44(5), 548-559. <https://doi.org/10.1016/j.bj.2021.02.003>
75. Ramayo-Caldas, Y., Castelló, A., Pena, R. N., Alves, E., Mercade, A., Souza, C. A., Fernández, A. I., Perez-Enciso, M., Folch, J. M. (2010). Copy number variation in the porcine genome inferred from a 60k SNP BeadChip. *BMC Genomics*, 11, 593. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-11-593>
76. Ramos, Z., Garrick, D. J., Blair, H. T., Vera, B., Ciappesoni, G., Kenyon, P. R. (2023). Genomic regions associated with wool, growth, and reproduction traits in Uruguayan Merino sheep. *Genes*, 14(1), 167. <https://doi.org/10.3390/genes14010167>
77. Redon, R., Ishikawa, S., Fitch, K. R., Feuk, L., Perry, G. H., Andrews, T. D., Tyler-Smith, C. (2006). Global variation in copy number in the human genome. *Nature*, 444(7118), 444–454. <https://doi.org/10.1038/nature05329>
78. Ren, N., Zhang, X., Hao, X., Dong, Y., Wang, X., Zhang, J. (2023). Effect of dietary inclusion of riboflavin on growth, nutrient digestibility, and ruminal fermentation in Hu lambs. *Animals*, 13(1), 26. <https://doi.org/10.3390/ani13010026>
79. RStudio Team. (2022). RStudio: Integrated Development Environment for R (Version 2022.07.1+554) [Computer software]. RStudio, PBC. <http://www.rstudio.com/>

80. Schook, L. B., Lamont, S. J. (1996). The major histocompatibility region of domestic animal species. CRC Press Inc.
81. Schoop, U.-D. (2014). Weaving society in late Chalcolithic Anatolia: Textile production and social strategies in the 4th millennium BC. In B. Horejs M. Mehofer (Eds.), *Western Anatolia before Troy. Proto-Urbanisation in the 4th Millennium BC: Proceedings of the International Symposium held at the Kunsthistorisches Museum Wien, Vienna, Austria, 21–24 November 2012* (pp. 421–446). Austrian Academy of Sciences Press.
82. Ségurel, L., Thompson, E. E., Flutre, T., Lovstad, J., Venkat, A., Margulis, S. W., Moyse, J., Ross, S., Gamble, K., Sella, G., Przeworski, M. (2012). The ABO blood group is a trans-species polymorphism in primates. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(47), 18493–18498. <https://doi.org/10.1073/pnas.1210603109>
83. Sekar, A., Bialas, A. R., de Rivera, H., Davis, A., Hammond, T. R., Kamitaki, N., McCarroll, S. A. (2016). Schizophrenia risk from complex variation of complement component 4. *Nature*, 530(7589), 177–183. <https://doi.org/10.1038/nature16549>
84. Sharp, A. J., Locke, D. P., McGrath, S. D., Cheng, Z., Bailey, J. A., Vallente, R. U., Pertz, L. M., Clark, R. A., Schwartz, S., Segraves, R., Eichler, E. E. (2005). Segmental duplications and copy-number variation in the human genome. *American Journal of Human Genetics*, 77(1), 78–88. <https://doi.org/10.1086/431652>
85. Sherman, B. T., Hao, M., Qiu, J., Jiao, X., Shen, D., Tan, Q. (2022). DAVID: A web server for functional enrichment analysis and visualization of gene lists. *Nucleic Acids Research*, 50(W1), W216–W221. <https://doi.org/10.1093/nar/gkac365>
86. Sölzer, N., May, K., Yin, T., König, S. (2022). Genomic analyses of claw disorders in Holstein cows: Genetic parameters, trait associations, and genome-wide

- associations considering interactions of SNP and heat stress. *Journal of Dairy Science*, 105(10), 8218–8236. <https://doi.org/10.3168/jds.2022-22087>
87. Spehr, M., Munger, S. D. (2009). Olfactory receptors: G protein-coupled receptors and beyond. *Journal of Neurochemistry*, 109(6), 1570–1583. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2009.06085.x>
88. Stankiewicz, P., Lupski, J. R. (2010). Structural variation in the human genome and its role in disease. *Annual Review of Medicine*, 61, 437–455. <https://doi.org/10.1146/annurev-med-100708-204735>
89. Sturtevant, A. H. (1925). The effects of unequal crossing-over at the Bar locus in *Drosophila*. *Genetics*, 204(3), 833-843. <https://doi.org/10.1093/genetics/204/3/833>
90. Sturtevant, A. H., Morgan, T. H. (1923). Reverse mutation of the Bar gene correlated with crossing over. *Science*, 57(1487), 746–747. <https://doi.org/10.1126/science.57.1487.746>
91. Sun, X., Jiang, J., Wang, G., Zhou, P., Li, J., Chen, C., Zhang, Y. (2023). Genome-wide association analysis of nine reproduction and morphological traits in three goat öeeds from Southern China. *Animal Bioscience*, 36, 191. <https://doi.org/10.5713/ab.21.0577>
92. Taghizadeh, S., Gholizadeh, M., Rahimi-Mianji, G., Moradi, M. H., Costilla, R., Moore, S., Ghaffari, A. (2022). Genome-wide identification of copy number variation and association with fat deposition in thin and fat-tailed sheep breeds. *Scientific Reports*, 12, 8834. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-12778-1>
93. Wang, K., Li, M., Hadley, D., Liu, R., Glessner, J., Grant, S. F. A., Hakonarson, H., Bucan, M. (2007). PennCNV: An integrated hidden Markov model designed for

- high-resolution copy number variation detection in whole-genome SNP genotyping data. *Genome Research*, 17(11), 1665–1674. <https://doi.org/10.1101/gr.6861907>
94. Werdyani, S., Yu, Y., Skardasi, G., Xu, J., Shestopaloff, K., Xu, W., Savas, S. (2017). Germline INDELS and CNVs in a cohort of colorectal cancer patients: Their characteristics, associations with relapse-free survival time, and potential time-varying effects on the risk of relapse. *Cancer Medicine*, 6(6), 1220–1232. <https://doi.org/10.1002/cam4.1074>
95. Xu, L., Liu, J., Wang, L., Zhang, X., Zhang, Q., Wang, L. (2016). Genome-wide identification of copy number variation regions and their association with quantitative trait loci in sheep. *BMC Genomics*, 17, 70. <https://doi.org/10.1186/s12864-016-2200-5>
96. Yamaguchi, K., Kitamura, S., Furutake, Y., Murakami, R., Yamanoi, K., Taki, M., Ukita, M., Hamanishi, J., Mandai, M. (2021). Acquired evolution of mitochondrial metabolism regulated by HNF1B in ovarian clear cell carcinoma. *Cancers (Basel)*, 13(10), 2413. <https://doi.org/10.3390/cancers13102413>
97. Yang, L., Xu, L., Zhou, Y., Liu, M., Wang, L., Kijas, J. W., Zhao, Z. (2018). Diversity of copy number variation in a worldwide population of sheep. *Genomics*, 110(2), 143–148. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2017.09.005>
98. Zhang, F., Gu, W., Hurles, M. E., Lupski, J. R. (2009). Copy number variation in human health, disease, and evolution. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, 10(1), 451–481. <https://doi.org/10.1146/annurev.genom.9.081307.164217>
99. Zhang, F., Lupski, J. R. (2011). Non-coding genomic rearrangements and gene copy number variations: Potential mechanisms of human genomic disorders. *Nature Reviews Genetics*, 12(6), 449–462. <https://doi.org/10.1038/nrg3023>

100. Zheng, J. Y., Koda, T., Fujiwara, T., Kishi, M., Ikehara, Y., Kakinuma, M. (1998). A novel Rab GTPase, Rab33B, is ubiquitously expressed and localized to the medial Golgi cisternae. *Journal of Cell Science*, 111(Pt 8), 1061–1069. <https://doi.org/10.1242/jcs.111.8.1061>
101. Zhou, J., Liu, L., Lopdell, T. J., Garrick, D. J., Shi, Y. (2021). HandyCNV: Standardized summary, annotation, comparison, and visualization of CNV, CNVR, and ROH. *Frontiers in Genetics*, 12, 731355. [https://doi.org/10.3389/fgene.2021.731355&#8203;;:contentReference\[oaicite:0\]{index=0}](https://doi.org/10.3389/fgene.2021.731355&#8203;;:contentReference[oaicite:0]{index=0}).
102. Zhou, Y., Wang, Y., Wu, H., Yang, J., Huang, J., Chen, S. (2021). HandyCNV: A user-friendly tool for identifying copy number variations. *BMC Bioinformatics*, 22, 208. <https://doi.org/10.1186/s12859-021-04054-0>
103. Zhang, Y., Xue, X., Liu, Y., Abied, A., Ding, Y., Zhao, S., Wang, W., Ma, L., Guo, J., Guan, W., Pu, Y., Mwacharo, J. M., Han, J., Ma, Y., Zhao, Q. (2021). Genome-wide comparative analyses reveal selection signatures underlying adaptation and production in Tibetan and Poll Dorset sheep. *Scientific Reports*, 11(1), 2466. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-81932-y>

## 8 Prilozi

### 8.1 Prilog 1

Tablica 8.1. Geni, njihove funkcije i vezani poremećaji u proširenim CNVR regijama specifičnim za pašku ovcu

	Ime gena	Funkcija gena	Bolest/mutacija povezana s genom
1.	SLC36A2	Protein koji sadrži transmembransku domenu prijenosnika AK (glicin,alanin,prolin)	Moguća osjetljivost na apsorpciju hranjivih tvari/bolesti povezane s metabolizmom
2	SLC36A1	Protein koji sadrži transmembransku domenu prijenosnika AK	Moguća osjetljivost na apsorpciju hranjivih tvari/bolesti povezane s metabolizmom
3.	FAT2	Protein koji funkcionira kao molekula stanične adhezije – kontrolira staničnu proliferaciju i sudjeluje u razvoju malog mozga	
4.	SPARC	Regulira rast stanica kroz interakcije s izvanstaničnim matriksom i citokinima (Veže Ca, Cu, albumin itd.)	Mutacije mogu utjecati na razvoj kože ili vune
5.	ATOX1	Veže i isporučuje citosolni bakar u proteine bakrene ATP-aze	
6.	G3BP1	Protein koji je uključen u mnoge procese – stvaranje granula stresa i urođeni imunitet	
7.	GLRA1	Protein kodiran ovim gen je podjedinica pentamernog inhibitornog receptora glicina	Neurološka stanja poput poremećaja drhtanja
8.	NMUR2	Gen receptor za neuropeptide: neuromedin-U i neuromedin-S – rasprostranjen u crijevima, regulira unos hrane i tjelesne težine	
9.	LAMA2	Izvanstanični protein koji je glavna komponentna bazalne membrane, posreduje u vezivanju i migraciji stanica tkiva tijekom embrionalnog razvoja	Potencijalni poremećaji na kostima ili na razvoj
10.	ARHGAP18	Gen koji uključuje regulaciju polimerizacije aktinskog filameta	
11.	L3MBTL3	Gen koji kodira člana obitelji malignih tumora mozga, može regulirati hematopoezu	
12.	SAMD3	Gen za kodiranje proteina	
13.	TMEM200A	Nep priznat protein, predviđen kao sastavni dio membrane	
14.	EPB41L2	Protein koji veže citoskelet i strukturne molekule	

15.	AKAP7	Gen koji usmjerava CAMP ovisnu protein kinazu (PKA) na plazma membranu i spaja L-tip Ca kanala	
16.	ARG1	Ključan gen za ciklus ureje koji pretvara L-arginin u ureu i L-ornitin koji nakraju pokreću sintezu kolagena, metabolizam arginina je ključan regulator imunoloških odgovora	Potencijalni metabolički poremećaji
17.	MED23	Gen koji je potreban za aktivaciju transkripcije nakon sastavljanja predinicijskog kompleksa, radi s koaktivatorima kako bi usmjerili inicijaciju transkripcije pomoću RNA polimeraze II	
18.	ENPP3	Protein koji pripada nizu ektoenzima, uključen u hidrolizu izvanstaničnih nukleotida – posjeduju aktivnosti ATP-aze i ATP pirofosfataze	
19.	ENPP1	Dio je pirofosfataze/fosfodiesteraze (ENPP) , cijepa fosfodiesterske veze, djeluje na mineralizaciju kostiju i kalcifikaciju mekog tkiva	
20.	CCN2	Mitogen koji izlučuje vaskularne endotelne stanice, bitan u proliferaciji i diferencijaciji hondrocita	Povezanost sa poremećajima vezanima uz razvoj tkiva koja su bitna kod otpornosti na bakterijskih infekcija
21.	MOXD1	Omogućuje vezanje iona bakra i aktivnost dopamin beta-monooksigenaze	
22.	STX7	Membranski receptor koji je uključen u transport vezikula, posreduje u endocitnom prometu	
23.	TAAR9	Receptor povezan s proteinom rodopsina G, receptor za amine u tragovima	
24.	TAAR2	Omogućuje aktivnost receptora amina u tragovima	
25.	TAAR1	G-protein spregnuti receptor aktiviran tragovima amina, receptor za amine u tragovima	
26.	VNN1	Aminohidrolaza koja hidrolizira jednu od karboamidnih veza D-panteteinu	
27.	VNN2	Aminohidrolaza koja hidrolizira jednu od karboamidnih veza D-panteteinu, čime reciklira pantotensku kiselinu i oslobađa cisteamin	
28.	SLC18B1	Protonski poliaminski antiporter uključen u translokaciju poliamina iz citosola u sekretorne vezikule, olakšava spremanje spermina i spermidina u astrocitima	Moguća osjetljivost na apsorpciju hranjivih tvari/bolesti povezane s metabolizmom

29.	EYA4	Djeluje kao aktivator transkripcije putem aktivnosti proteinske fosfataze, važan za razvoj oka i funkciju zrelog Cortijevog organa	
30.	TCF21	Gen koji je uključen u epitelno-mezenhimalne interakcije u morfogenezi bubrega i pluća	
31.	TBPL1	Gen koji kodira člana obitelji TATA box-povezani protein, važan u transkripciji pomoću RNA polimeraze II i spermatogenezi	
32.	SLC2A12	Djeluje kao prenositelj koji katalizira unos glukoze putem olakšane difuzije	Moguća osjetljivost na apsorpciju hranjivih tvari/bolesti povezane s metabolizmom
33.	SGK1	Serin/treonin protein kinaza koja je uključena u regulaciju ionskih kanala, membranskih transporta, staničnih enzima itd., važan kao odgovor na stres	
34.	ALDH8A1	Gen koji kodira aldehyd dehidrogenazu	
35.	HBS1L	Gen koji kodira člana obitelji GTP vezujućih faktora elongacije, najveću ekspresiju ima u srcu i skeletnim mišićima, intergensko područje ovog gena je identificirano kao QTL	
36.	HNF1B	Protein koji se veže na DNK kao homodimer ili heterodimer, bitan u razvoju nefrona	
37.	MYB	Protein koji ima bitnu ulogu u regulaciju hematopoeze	
38.	AHI1	Gen koji je uključen u promet vezikula i bitan je za ciliogenezu i diferencijaciju neurona	
39.	PDE7B	Gen koji kodira cAMP-specifičnu fosfodiesterazu, regulator mnogih fizioloških procesa	
40.	MTFR2	Važna uloga u aerobnom disanju i fisiji mitohondrija	
41.	BCLAF1	Gen koji kodira transkripcijski represor, prekomjerna ekspresija gena uzrokuje staničnu smrt (apoptozu)	Potencijalni poremećaji na kostima ili na razvoj
42.	MAP7	Protein važan za stabilizaciju mikrotubula tijekom reorganizacije mikrotubula	
43.	MAP3K5	Serin-treonin kinaza koja djeluje kao prijenos signala MAP kinaze, važan u staničnim odgovorima izazvanih tokom promjena u okolišu	Potencijalni poremećaji na kostima ili na razvoj
44.	PEX7	Receptor za peroksisomalni uvoz proteina koji sadrži C terminalni PTS2 tip	
45.	SLC35D3	Sudjeluje u transportu ugljikohirata i pirimidin nukleotida i šećera	Moguća osjetljivost na apsorpciju hranjivih tvari/bolesti



			povezane s metabolizmom
46.	IL20RA	Kodirani protein koji je podjednica receptora citokina tip II, važan u funkciji epidermisa	
47.	IL22RA2	Kodirani topljivi protein koji spada u citokinske receptore tipa II	
48.	IFNGR1	Interferon tip II, važan u antimikrobnim, antivirusnim i antitumorskim odgovorima na način da aktivira imunološke stanice	Povezanost sa imunološkim odgovorom na prionske bolesti
49.	OLIG3	Gen koji je uključen u diferencijaciju neurona i regulira transkripciju pomoću RNA polimeraze II	
50.	TNFAIP3	Gen čija ekspresija inducira faktor nekroze tumora, enzim je za uređivanje ubikvitina	Potencijalni utjecaj na autoimune ili upalne bolesti poput mastitisa
51.	PERP	Gen koji je aktivan u endopeptidazi cisteinskog tipa, bitan u staničnim spojevima	
52.	ARFGEF3	Gen koji omogućuje izmjenu gvanil nukleotida, bitan u organizaciji aktinskog citoskeleta	
53.	TRIB1	Gen koji uključuje mitogen aktiviranu aktivnost vezanja protein kinaze	
54.	NSMCE2	Gen koji je povezan s ubikvitinom, uključen u nuklearni transport, transkripciju i segregaciju kromosoma	
55.	WASHC5	Najveću ekspresiju ima u skeletnim mišićima, služi kao transportni intermedijator tijekom preslagivanja endosoma	
56.	SQLE	Sudjeluje u stvaranju lipidnih kapljica, omogućuje aktivnost vezanja FAD, regulira proliferaciju stanične populacije	
57.	ZNF572	Uključen je u regulaciju transkripcije pomoću RNA polimeraze II	
58.	MTSS1	Veže monomer aktin i signalne receptore, uključen je u razvoj urogenitalnog sustava	
59.	NDUFB9	Podjedinica je mitohondrijskog kompleksa oksidativne fosforilacije	
60.	TATDN1	Gen koji je uključen u metabolički proces DNK i hidrolizu fosfodieterske veze nukleinske kiseline, važan u kromosomskoj segregaciji	
61.	RNF139	Membranski protein koji sadrži RING-H2, djeluje kao negativni regulator stanične proliferacije	
62.	TRMT12	Hipermodificirani gvanozin koji stabilizira interakcije kodon – antikodon tijekom dekodiranja na ribosomu	

63.	FER1L6	Omogućuje aktivnost vezanja metalnih iona, sudjeluje u organizaciji membrane	
64.	FAM91A1	Uključen u transport proteina i veže vezikule za Golgijev aparat	
65.	ANXA13	Gen koji veže fosfolipine ovisne o kalciju te regulira stanični rast	
66.	KLHL38	Neprepoznat protein	
67.	FBXO32	Gen koji kodira člana obitelji F-box proteina, posreduje u ubikvitinaciji	
68.	ATAD2	Obavlja funkciju šaperona koji pomaže u sastavljanju i rastavljanju proteinskih kompleksa	
69.	ZHX1	Djeluje kao transkripcijski represor	
70.	FAM83A	Omogućuje identičnu aktivnost vezanja proteina, veže protein kinazu	
71.	ZHX2	Gen koji stvara homodimere i djeluje kao transkripcijski represor	
72.	TASP1	Gen koji kodira endopeptidazu koja cijepa supstrate nakon aspartatnih ostataka	
73.	ESF1	Omogućuje aktivnost vezanja RNA, regulira bazalnu transkripciju	
74.	NDUFAF5	Kompleks NADH-ubikinon oksidoreduktaza respiratornog lanca mitohondrija,	
75.	SEL1L2	Sudjeluje u aktivnosti ubikvitin protein tranferaze	
76.	MACROD2	Gen koji uklanja ADP-ribozu iz ostataka aspartata i glutamata u proteinima koji nose jedan dio ADP-riboze	
77.	TKDP1	Djeluje inhibitorno na proteinazu	
78.	WFDC2	Gen koji sadrži osam cisteina koji tvore četiri disulfidne veze u jezgri proteina i djeluju kao inhibitor proteaze, može sudjelovati u sazrijevanju spermija	
79.	EPPIN	Gen koji kodira inhibitor proteaze epididimisa , posjeduje antimikrobno djelovanje protiv E. coli	
80.	WFDC8	Gen koji sadrži osam cisteina koji tvore četiri disulfidne veze u jezgri proteina i djeluju kao inhibitor proteaze	
81.	WFDC13	Gen koji sadrži osam cisteina koji tvore četiri disulfidne veze u jezgri proteina i djeluju kao inhibitor proteaze	
82.	WFDC3	Gen koji sadrži osam cisteina koji tvore četiri disulfidne veze u jezgri proteina i djeluju kao inhibitor proteaze	
83.	DNTTIP1	Gen koji povećava aktivnost deoksinukleotidiltransferaze (DNTT)	
84.	UBE2C	Gen koji prihvaća ubikvitin iz kompleksa E1 i katalizira njegovo kovalentno vezanje na druge proteine	

85.	TNNC2	Troponin (Tn) je ključni protein kompleks koji regulira kontrakcije poprečno prugastih mišića	
86.	SNX21	Gen koji veže fosfoinozitide, specifična funkcija nije utvrđena	
87.	ACOT8	Protein koji je kodiran ovim genom je peroksisomalna tioesteraza, uključen je u oksidaciju masnih kiselina	
88.	ZSWIM3	Omogućuje aktivnost vezanja iona cinka	
89.	SPATA25	Gen koji je uključen u spermatogenezu	
90.	NEURL2	Protein koji je uključen u regulacije organizacije miofibrila	
91.	CTSA	Gen koji kodira člana obitelji peptidaza S10 serin karboksipeptidaza	
92.	PLTP	Protein koji prenosi fosfolipide iz lipoproteina bogatih trigliceridima u lipoprotein visoke gustoće	
93.	PCIF1	Omogućuje aktivnost vezanja fosforina C-terminalne domene RNA polimeraze II, uključen i u metilaciju mRNA	
94.	ZNF335	Protein koji je kodiran ovim genom pojačava transkripcijsku aktivaciju receptorima nuklearnog hormona vezanog za ligand	
95.	MMP9	Protein koji je uključen u izgradnju izvanstaničnog matriksa u normalnim fiziološkim procesima (embrionalni razvoj, reprodukcija itd.)	Mutacije bi mogle utjecati na rast ili razvoj mišića
96.	SLC12A5	Gen koji posreduje elektoneutralni kotransport kalij-klorid u zrelih neuronima, bitan je za homeostazu neurona Cl(-)	Moguća osjetljivost na apsorpciju hranjivih tvari/bolesti povezane s metabolizmom
97.	NCOA5	Nuklearni hormonski receptor, posjeduje koaktivatorsku i korepresijsku funkciju	
98.	CD40	Gen koji je bitan za posredovanje širokog spektra imunoloških i upalnih odgovora	
99.	CDH22	Protein koji je ovisan o kalciju i važan je u morfogenezi te stvaranju tkiva u živčanim i neživčanim stanicama tijekom razvoja	
100.	SLC35C2	Gen koji je prijenosnik trioza-fosfata, reguliran je preko napetosti kisika	
101.	ELMO2	Gen koji je uključen u preuređenje citoskeleta potrebnih za fagocitozu apoptotskih stanica	
102.	OCSTAMP	Gen koji je receptor na staničnoj površini i važan je u staničnoj fuziji i diferencijaciji	
103.	SLC13A3	Kotransporter natrij-dikarboksilata u sisavaca	
104.	TP53RK	Gen koji je uključen u fosforilaciju proteina	
105.	SLC2A10	Kodirani protein koji ima ulogu u regulaciji homeostaze glukoze	

106.	EYA2	Protein koji može biti post translacijski modificiran i važan je u razvoju oka	Povezanost sa razvojnim defektima
107.	ZMYND8	Protein koji je kodiran ovim genom je receptor za protein aktivirane C-kinaze	
108.	NCOA3	Koaktivator nuklearnih receptora koji se izravno veže za nuklearne receptore	
109.	SULF2	Heparan sulfat proteoglikan koji djeluje kao koreceptor za brojne faktore rasta i citokine koji se vežu za heparin	
110.	PREX1	Protein koji djeluje kao čimbenik izmjene gvanin nukleotida (GEF)	
111.	ARFGEF2	Gen koji potiče izmjenu guanin nukleotida na ARF1 i ARF3	
112.	CSE1L	Proteini koji nose nuklearni lokalizacijski signal	
113.	STAU1	Staufen je protein koji veže dvolančanu RNA uključenu u transport mRNA	
114.	DDX27	Protein za ATP-ovisnu RNA helikazu	
115.	ZNFX1	Gen koji omogućuje vezanje RNA, potreban je za ograničavanje replikacije RNA virusa	
116.	KCNB1	Naponski uvjetovan kalijev kanal koji posreduje transmembranski transport kalija u membranama u mozgu i gušterači	
117.	PTGIS	Gen koji katalizira biosintezu i metabolizam eikosanoida	
118.	B4GALT5	Gen koji katalizira sintezu laktoazilceramida (LaCer) putem prijenosa galaktoze	
119.	SLC9A8	Djeluje kao Na/H antiporter i kao izmjenjivač u trans Golgijevom aparatu	Moguća osjetljivost na apsorpciju hranjivih tvari/bolesti povezane s metabolizmom
120.	SPATA2	Gen koji je uključen u deubikvitinaciju proteina	
121.	RNF114	Omogućuje aktivnost ubikvitin protein ligaze	
122.	SNAI1	Gen koji je uključen u indukciju prijelaza epitela u mezenhim te održavanje embrionalnog mezoderma, zaustavlja rast i migraciju stanica	
123.	CEBPB	Gen koji je bez introna te kodira faktor transkripcije	
124.	PTPN1	Tirozin-protein fosfataza koja djeluje kao regulator odgovora proteina	
125.	PARD6B	Adapterski protein koji je uključen u asimetričnu staničnu diobu i u procese polarizacije stanica	
126.	LRBA	Gen koji je uključen u spajanje transdukcije signala i prometa vezikulama	

127.	DCLK2	Protein kodiran ovim genom sadrži dvije N-terminalne dvokortinske domene koje veže mikrotubule	
128.	NR3C2	Receptor za mineralkortikoide – aldosteron i glukokortikoide – kortikosteron , povećava transport iona i vode	
129.	ARHGAP10	Uključen je u organizaciju citoskeleta i u negativnu regulaciju apoptoze	
130.	EDNRA	Peptid koji je važan u snažnoj i dugotrajnoj vazokonstrukciji, receptor za endotelin-1	
131.	TTC29	Uključen je u kretanje cilija i u organizaciju cilija i važan je za pokretljivost spermija	
132.	POU4F2	Gen koji održava neuron vidnog sustava u retini	
133.	SLC10A7	Uključen je u homeostazu iona kalciju, transport glikoproteina i proces biosinteze heparina	Moguća osjetljivost na apsorpciju hranjivih tvari/bolesti povezane s metabolizmom
134.	LSM6	Važan za spajanje pre mRNA	
135.	MAML3	Uključen je u Notch signalni put i u pozitivnu regulacije transkripcije pomoću RNA polimeraze II	
136.	MGST2	Katalizira nekoliko različitih reakcija ovisnih o glutationu	
137.	SETD7	Histon metiltransferaza koja specifično monometilira 'Lys-4' histon H3	
138.	RAB33B	Gen koji kodira mali GTP vezujući protein iz obitelji RAB GTP-aze	
139.	NAA15	N-alfa acetilacija, translacijski modificirani protein u eukariotskim stanicama	
140.	NDUFC1	Gen koji je podjedinica NADH-ubikinon oksidoreduktaze prvog enzimskog kompleksa u lancu prijenosa elektrona u unutarnjoj mitohondrijskoj membrani	
141.	MGARP	Važan u prometu mitohondrija duž mikrotubula, stanični odgovor na hormonski podražaj	
142.	ELF2	Omogućuje transkripciju vezanja DNK, veže specifičnu DNK za RNA polimerazu II	
143.	SLC7A11	Protein koji je dominantni posrednik spajanja herpes virusa	Moguća osjetljivost na apsorpciju hranjivih tvari/bolesti povezane s metabolizmom
144.	RAPGEF2	Funkcionira kao faktor izmjene guanin nukleotida	
145.	FNIP2	Gen koji kodira protein koji se veže na tumor supresorski folikulin i na AMP-aktiviranu protein kinazu	

<b>146.</b>	PPID	Protein koji spada u peptidil-proлил cis-trans izomeraze, ubrzava savijanje proteina	
<b>147.</b>	ETFDH	Gen koji prenosi elektrone u mitohondrijima i neophodan je za prijenos dehidrogenaze	
<b>148.</b>	RXFP1	Receptor za relaksine, važan je za pokretljivost spermija	
<b>149.</b>	TMEM144	Omogućuje aktivnost transmembranskog prijenosa ugljikohidrata	
<b>150.</b>	GRIA2	Glutamatni receptor koji služi kao neurotransmiterski receptor u mozgu sisavaca i aktivira neurofiziološke procese	
<b>151.</b>	GLRB	Receptor koji funkcionira kao ionski kanal određen neurotransmitterom	
<b>152.</b>	PDGFC	Gen koji ima važnu ulogu u regulaciji rasta, stanične proliferacije i stanične migracije	
<b>153.</b>	CTSO	Protein kodiran ovim genom je cistein proteinaza i razgrađuje sintetičke peptide	
<b>154.</b>	TDO2	Gen koji ima ključnu ulogu u metabolizmu triptofana	
<b>155.</b>	ASIC5	Pripada obitelji Na <sup>+</sup> kanala osjetljivih na amilorid, točna funkcija nije utvrđena	
<b>156.</b>	ZNF605	Omogućuje aktivnost transkripcije vezanja za DNK specifičnu RNA polimerazu II	
<b>157.</b>	ZNF26	Omogućuje aktivnost transkripcije vezanja za DNK specifičnu RNA polimerazu II	
<b>158.</b>	ZNF84	Omogućuje aktivnost transkripcije vezanja za DNK specifičnu RNA polimerazu II	
<b>159.</b>	ZNF10	Djeluje kao transkripcijski represor	
<b>160.</b>	ZNF268	Omogućuje aktivnost transkripcije vezanja za DNK specifičnu RNA polimerazu II	