

استفاده از ابزارهای بیوانفورماتیکی در مطالعه اگزون شماره ۲ ژن *GDF9* در بزهای تالی و بیتال

Use of bioinformatics tools to study exon 2 of *GDF9* gene in Tali and Beetal goats

مرتضی هادی زاده^۱، محمدرضا محمدآبادی^{۲*}، علی نیازی^۳، علی اسمعیلی زاده کشکوئی^۴، یاسر مهدی زاده گزویی^۵، صدراالله مولایی^۶

۱، ۲ و ۴- دانش آموخته کارشناسی ارشد، دانشیاران دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان
۳ و ۵- دانشیار و دانش آموخته کارشناسی ارشد پژوهشکده بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز
۶- مربی بخش علوم دامی، دانشگاه جیرفت

Hadizadeh M¹, Mohammad abadi M^{2*}, Niazi A³, Esmailizadeh Koshkoiyeh A⁴, Mehdizadeh Gazooei Y⁵, Molaei Moghbeli S⁶

1,2,4. Graduate MSc and Associate Professors, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman

3,5. Associate Professor and Graduate MSc, Institutes of Biotechnology, Faculty of Agriculture, Shiraz University.

6. Instructor, Department of Animal Science, University of Jiroft

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: mmohammadabadi@yahoo.ca

(تاریخ دریافت: ۹۱/۵/۸ - تاریخ پذیرش: ۹۱/۱۰/۲۴)

چکیده

بکارگیری فناوریهای مولکولی، منجر به کشف جهشهایی با اثر عمده بر بازدهی تولید مثلی گوسفند و بز شده است. بیشتر این جهشها در ژنهای *GDF9*، *BMP15* و *Booroola* یافت شدهاند. در ژن *GDF9*، جهشهای *FecTT* و *FecGH* چنین اثری دارند. با توجه به اهمیت چندقلو زایی در بز، وجود جهشهای یاد شده و جهشهای نوین در نژادهای بیتال و تالی برای ژن *GDF9* بررسی شدند. پس از استخراج DNA از نمونههای خونی، واکنش PCR برای آغازگر *GDF9* صورت گرفت و تعداد ۵ فرآورده PCR از نژاد بیتال و تالی که دارای رکوردهای زایش گوناگون بودند، تعیین توالی شدند. نتیجه تعیین توالی با نرم افزار Vector NTI و رسم درخت فیلوژنی با نرم افزار MEGA 4 انجام گرفت. با استفاده از سایت تخصصی ps2 ساختارهای سه بعدی پروتئین *GDF9* مورد بررسی قرار گرفت. در نژاد تالی تغییر نوکلئوتیدی مشاهده نشد. اما در افراد دارای رکورد زایش بالا در نژاد بیتال، یک جهش هتروزیگوت با جایگزینی اسید آمینه آلانین با والین یافت شد. در پیش بینی ساختار سه بعدی پروتئین، بین پروتئین جهش یافته و بدون جهش تفاوت وجود داشت. با بررسی فراوانی وجود ریشههای اسیدآمینه ویژه در ساختمان دوم مشخص شد آلانین تمایل ذاتی برای ایجاد مارپیچ α و والین تمایل ذاتی برای ایجاد رشته β دارد که سبب تغییر در ساختمان سه بعدی و احتمالاً عملکرد پروتئین می شود. بررسی درخت فیلوژنی بین چند گونه مختلف از جانداران نشان داد که توالی پروتئینی *GDF9* بز به گوسفند شبیه تر است.

واژه های کلیدی

بز بیتال،
بز تالی،
تعیین توالی،
جهش،
GDF9

مقدمه

یک ابزار کارآمد برای تعیین اساس ژنتیکی باروری بالا در نژادهای گوسفند و بز دنیا است (Davis ; Polley et al. 2009). پیشرفت‌های تازه در بیولوژی مولکولی و دانش آمار، امکان تعیین و بکارگیری گوناگونی ژنومی و ژنی عمده را در تکامل ژنتیکی دام فراهم کرده است. از آنجا که در زندگی دام برخی صفات دیر بروز می‌کنند و یا بوسیله چند جفت ژن کنترل می‌شوند، بکارگیری گزینش به کمک نشانگر موثرتر است. بنابراین جستجو برای یافتن چند شکلی‌های ژنی و کاربرد آن در گزینش بر پایه نشانگر، دارای اهمیت ویژه است. فناوری‌های مولکولی، امکان تعیین گوناگونی و چند شکلی بین افراد یک جمعیت را برای نواحی ویژه‌ای از DNA فراهم می‌کنند. این چند شکلی‌ها در تهیه نقشه‌های ژنی و ارزیابی گوناگونی‌های بین نشانگرها در میان فروزه‌های ویژه در یک خانواده اهمیت دارند. هدف از این پژوهش، بررسی جهش‌های یاد شده بالا و احتمال وجود جهش‌های نوین در دو نژاد بز بیتال و تالی در ژن *GDF9* بود.

مواد و روش‌ها

تعداد ۶۰ نمونه خون از بز تالی موجود در ایستگاه اصلاح نژاد بز تالی در شهرستان بندرعباس، جمع آوری شد، این نمونه گیری بر اساس شجره (والدین به نتاج) صورت گرفت. یعنی اگر نمونه گیری از مادر صورت می‌گرفت، سعی می‌شد که از نتاج مادر هم نمونه‌گیری انجام شود و در برخی موارد نمونه‌گیری از نتاج تا سه یا چهار نسل پس از مادر نیز انجام گرفت. خاستگاه بز تالی از کشورهای حوزه خلیج فارس و درصد دوقلو زایی این نژاد حدود ۲۷ درصد است. نمونه‌گیری از بزهای بیتال از گله‌های مردمی در شهرستان زرنند و مناطق اطراف شهر کرمان صورت گرفت و تعداد پنجاه نمونه خون از این نژاد نیز بر اساس شجره جمع‌آوری شد. این گله‌ها زیر نظر نهاد دولتی نبودند، در برخی موارد شجره‌های چند نسلی از این نژاد در گله‌های مردمی به دست آمد که در ایستگاه‌های دولتی قابل دسترس نبود. خاستگاه بز بیتال، هندوستان و پاکستان است و درصد دوقلو زایی این نژاد

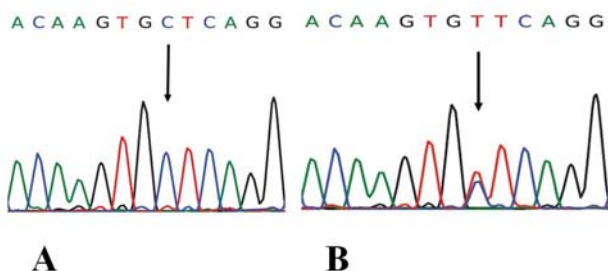
نرخ تخم‌ریزی یکی از سازه‌های مهم در تعیین بازدهی تولیدمثلی است. در گونه‌های مختلف پستانداران، گونادوتروپین-ها، هورمون‌های متابولیکی و عوامل رشد پاراکرینی، گامه‌های فولیکول‌سازی و تخم‌ریزی را کنترل می‌کنند (Hunter et al. 2004). یافته‌های بسیاری نشان داده‌اند که عوامل پاراکرین تراوش شده به وسیله اووسیت، عملکردهای تکثیر استروئید سازی، تمایز و مرگ و میر یاخته‌ای یاخته‌های سوماتیک فولیکولی را تنظیم می‌کنند (Gilchrist et al. 2004). عوامل پاراکرین تولید شده به وسیله اووسیت، بیان بسیاری از ژن‌های یاخته‌های کومولوس را افزایش می‌دهد و عملکرد آن‌ها را تنظیم می‌کند. برای نمونه، بیان ژن‌های هیالورونیک اسید سینتاز ۲- و سیکلو اکسیژناز-۲ که در تکامل اووسیت نقش دارند به وسیله عامل رشد و تمایز^۱ -۹ (*GDF9*) تنظیم می‌شود (Pangas et al. 2004). پژوهش‌هایی نیز نقش حیاتی عوامل پاراکرینی مانند عامل رشد و تمایز-۹ (*GDF9*) و پروتئین مورفوژنیک استخوان-۱۵^۲ (*BMP15*) را در رشد آغازین فولیکول و نرخ تخم‌ریزی نشان دادند (McNatty et al. 2004). هنگام تکامل برون‌تنی، عوامل تراوش شده به وسیله اووسیت، به ویژه *GDF9* و *BMP15*، با اثر بر عملکرد یاخته‌های کومولوس، نرخ نمو اووسیت را افزایش می‌دهند. ابرخانواده عامل رشد تبدیل کننده بتا^۳ (*TGF-β*)، دارای ۳۵ عضو است. نشان داده شده که بسیاری از این عوامل در تنظیم باروری مهم هستند (Shimasaki et al. 2003). مشخص شده که جهش در ژن‌های *BMP15* و *GDF9* موجب تغییر در رشد فولیکولی و ناباروری می‌شوند (Galloway et al. 2000; Hanrahan et al. 2004). در ژن *GDF9*، جهش‌های *FecGH* (Hanrahan et al. 2004) و *FecTT* (Nicol et al. 2009) چنین اثری دارند. ژن *GDF9* دارای دو اگزون و یک اینترون بوده و در بز روی کروموزم شماره ۵ قرار گرفته است. اندازه آن 2500 bp است و یک پیش پروتئین دارای ۲۳۵ اسید آمینه‌ای را رمزدهی می‌کند. آزمایش‌های DNA روشی در بکارگیری این ژن‌ها در صنعت دامپروری فراهم کرده و

¹ Growth Differentiation Factor-9² Bone Morphogenetic Protein-15³ Transforming Growth Factor β

(NP_001161485)، گربه (NP001161485)، مار ماهی (AFF57870)، ماهی کپور (ADW20148) و ماهی زبرا (NP001012383) با استفاده از اطلاعات موجود در شبکه اطلاعاتی ژنی NCBI جمع آوری و به همراه توالی های پروتئینی نژادهای تالی و بیتال به وسیله نرم افزار MEGA 4 مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج و بحث

پس از تکثیر قطعه DNA مورد نظر به وسیله واکنش زنجیره ای پلی مرز با آغازگر GDF9، ۳ نمونه از فرآورده های PCR مربوط به بز بیتال، جهت تعیین توالی به شرکت BIONEER کره جنوبی فرستاده شد، با هم ردیف سازی توالی ها بز بیتال با توالی های گرفته شده از GenBank به وسیله نرم افزار Vector NTI و پس از آنالیز داده ها مشخص شد که در یکی از نمونه های نژاد بیتال که دارای بیشترین رکورد زایش (۵ قلو؛ سال دوم زایش) در کل نمونه ها بود، یک جهش تک نوکلئوتیدی در جایگاه ۸۸۱ bp دارد. با بررسی نموداری، مشخص شد که این تغییر هتروزیگوت است. در این تغییر، نوکلئوتید تیمین (T) جایگزین سیتوزین (C) شده بود (شکل ۱؛ نمونه A، یعنی تیپ وحشی در مقایسه با نمونه B، یعنی هتروزیگوت نشان داده شده است). در ۲ نمونه دیگر نژاد بیتال که تعیین توالی شدند تغییری مشاهده نشد. مقایسه قسمتی از دو توالی نوکلئوتیدی بدون جهش و جهش دار در شکل ۱ آمده است، در این شکل قسمت بدون جهش و جهش دار، با علامت پیکان نشان داده شده است.



شکل ۱- جایگاهی نوکلئوتیدی در ژن GDF9 که منجر به تغییر یک اسید آمینه شد (B)، در مقایسه با توالی نوع وحشی نژاد بیتال (A).

نیز حدود ۵۲/۶ درصد می باشد (Mousavizadeh et al. 2009). استخراج DNA از خون به روش نمکی و تعیین کیفیت با ژل آگارز یک درصد انجام گرفت. آغازگرهای پیشرو و پیرو اگزون ۲ ژن GDF9 بر اساس 5'- F: ATCCCACCCTGACGTTTAAGGC و 3'- R: TCCTCCCAAAGGCATAGACAG- به وسیله شرکت Promega (Hanrahan et al. 2004) ساخته شد جهت انجام واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR) که حجم پایانی آن ۲۰ میکرولیتر بود، مقدار یک میکرولیتر از DNA الگو (۳۰ نانوگرم)، ۲ میکرولیتر بافر PCR، ۱۳/۶ میکرولیتر آب دیونیزه، ۰/۵ میکرولیتر dNTP، ۰/۷ میکرولیتر MgCl₂، یک میکرولیتر از آغازگرهای پیشرو و پیرو و ۰/۲ میکرولیتر آنزیم Taq DNA پلیمرز افزوده شد، مخلوط پایانی در دستگاه ترموسایکلر مدل BIOER TC-XP-E با چرخه های گرمایی زیر قرار داده شد: دناتوراسیون اولیه به مدت پنج دقیقه و دمای ۹۴ درجه سانتی- گراد؛ انجام ۳۰ چرخه به صورت دناتوراسیون به مدت ۳۰ ثانیه و دمای ۹۴ درجه سانتی گراد، اتصال به مدت ۴۵ ثانیه و دمای ۶۲ درجه سانتی گراد، سنتز به مدت ۴۵ ثانیه و دمای ۷۲ درجه سانتی- گراد و سنتز نهایی به مدت ۱۰ دقیقه و دمای ۷۲ درجه سانتی گراد. واکنش PCR، صحت قطعه مورد نظر (1069 bp) با ژل آگارز یک درصد مشخص و تعداد ۵ نمونه (۳ نمونه از نژاد بیتال و ۲ نمونه از نژاد تالی با رکوردهای گوناگون) برای تعیین توالی به شرکت BIONEER کره جنوبی فرستاده و نتیجه تعیین توالی به وسیله نرم افزار Vector NTI بررسی شد، در صورت مشاهده تغییر نوکلئوتیدی که منجر به تغییر توالی آمینو اسیدی می شد، توالی مربوطه دوباره برای تعیین توالی به شرکت نامبرده فرستاده تا جهش مورد نظر تایید شود.

برای پیش بینی ساختار سه بعدی از سایت تخصصی <http://ps2v2.life.nctu.edu.tw> استفاده شد. برای رسم درخت فیلوژنی، توالی پروتئینی GDF9 گونه های مختلف (با شماره های شناسایی ذکر شده در داخل پرانتز) از جمله گاو (NP777106)، گوسفند (CCI87994)، بز (نژاد مرخز- ADE45329)، اسب (XP001504477)، خوک (AAT67460)، انسان (NP005251)، موش خانگی (NP032136)، موش صحرایی (NP067704)، سگ

در شکل بالا، ساختار سه بعدی A، مربوط به پروتئین بدون جهش و ساختار B، مربوط به نوع جهش یافته می باشد، با مقایسه دو شکل بالا مشخص می شود که بین پروتئین جهش یافته تفاوت های ساختاری با نوع بدون جهش دارد که با علامت پیکان نشان داده شده اند (وجود شکاف عمیق تر و یک برآمدگی نسبت به نوع بدون جهش).

در بحث جابجایی اسید آمینه والین به آلانین، بررسی فراوانی وجود زیرواحدهای اسیدآمینه ویژه در ساختمان دوم حایز اهمیت است، چون این امر عاملی است که روی ساختمان سه بعدی پروتئین اثر می گذارد. زیرواحدهایی مانند آلانین، گلو تامات و لوسین تمایل دارند در مارپیچ های α (α helix) شرکت کنند، در حالی که زیرواحدهایی مانند والین و ایزولوسین تمایل به وجود در رشته های β (β sheet) دارند (جدول ۱). این تمایل به ساختار پروتئین ها و پپتیدهای سنتزی بر می شود، برای نمونه شاخه دار بودن ایزولوسین، والین و ترئونین به دلیل ممانعت فضایی در اتم کربن β سبب ناپایدار کردن مارپیچ α می شود، درحالی که این آمینو اسیدها به آسانی در رشته های β قرار می گیرند چون در این رشته ها زنجیره های جانبی از صفحه ای که زنجیره اصلی در آن قرار دارد، به سمت خارج جهت گیری می کنند (Asgari et al. 2009; Moosavi-movahedi et al. 2009).

جدول ۱- فراوانی های نسبی ریشه های اسیدهای آمینه در ساختمان دوم

Amino acid	α helix	β sheet	Revers tum
Glu	1.59	0.52	1.01
Ala	1.41	0.72	0.82
Leu	1.34	1.22	0.57
Met	1.30	1.14	0.52
Gln	1.27	0.98	0.84
Lys	1.23	0.69	1.07
Arg	1.21	0.84	0.90
His	1.05	0.80	0.81
Val	0.90	1.87	0.41
Ile	1.09	1.67	0.47
Tyr	0.74	1.45	0.76
Cys	0.66	1.40	0.54
Trp	1.02	1.35	0.65
Phe	1.16	1.33	0.59
Thr	0.76	1.17	0.96
Gly	0.43	0.58	1.77
Asn	0.76	0.48	1.34
Pro	0.34	0.31	1.32
Ser	0.57	0.96	1.22
Asp	0.99	0.39	1.24

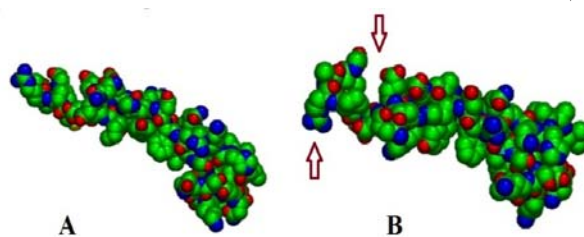
پس از ترجمه توالی DNA یاد شده به توالی های پروتئینی، با هم ردیف سازی توالی پروتئینی بز بیتال با هفت توالی پروتئینی نژادهای بزهای بومی و غیر بومی مشخص شد که در جایگاه یاد شده تغییری در توالی اسیدآمینه ها رخ داده است، در واقع در فرایند هم ردیف سازی مشخص شد که در ریشه ۲۷۳، اسید آمینه والین (با نام اختصاری V)، جایگزین آلانین (با نام اختصاری A) شده است (شکل ۲). قابل ذکر است زمانی که جهش منجر به تغییر اسیدآمینه شد، نمونه دوباره برای تعیین توالی به شرکت BIONEER فرستاده شد، در تعیین توالی دوم نیز جهش یاد شده تایید شد.

		241	240	250	260	270	280	290	300	310			
Beetal	108	KDQLQHP	SARDSL	NMTLLV	APSLLL	YLNDSV	QAFHRW	HSLHPK	RKPSQG	PDQREL	SAYPVG	EAAEGV	RSRRHR
Jhakrana	124	KDQLQHP	SARDSL	NMTLLV	APSLLL	YLNDSV	QAFHRW	HSLHPK	RKPSQG	PDQREL	SAYPVG	EAAEGV	RSRRHR
Tall	108	KDQLQHP	SARDSL	NMTLLV	APSLLL	YLNDSV	QAFHRW	HSLHPK	RKPSQG	PDQREL	SAYPVG	EAAEGV	RSRRHR
Rayini	108	KDQLQHP	SARDSL	NMTLLV	APSLLL	YLNDSV	QAFHRW	HSLHPK	RKPSQG	PDQREL	SAYPVG	EAAEGV	RSRRHR
Black	241	KDQLQHP	SARDSL	NMTLLV	APSLLL	YLNDSV	QAFHRW	HSLHPK	RKPSQG	PDQREL	SAYPVG	EAAEGV	RSRRHR
Lezhi	241	KDQLQHP	SARDSL	NMTLLV	APSLLL	YLNDSV	QAFHRW	HSLHPK	RKPSQG	PDQREL	SAYPVG	EAAEGV	RSRRHR
Markhoz	241	KDQLQHP	SARDSL	NMTLLV	APSLLL	YLNDSV	QAFHRW	HSLHPK	RKPSQG	PDQREL	SAYPVG	EAAEGV	RSRRHR
Tibetan	241	KDQLQHP	SARDSL	NMTLLV	APSLLL	YLNDSV	QAFHRW	HSLHPK	RKPSQG	PDQREL	SAYPVG	EAAEGV	RSRRHR

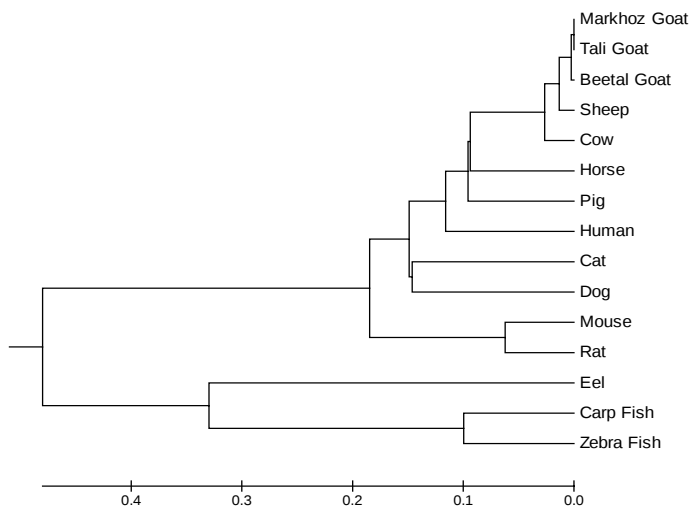
شکل ۲- تغییر اسید آمینه والین به آلانین در زیر واحد ۲۷۳

پس از تکثیر قطعه DNA مورد نظر به وسیله واکنش زنجیره ای پلی مرز با آغازگر GDF9، ۲ نمونه (یک نمونه تک قلوزا و یک نمونه سه قلوزا) از فرآورده های PCR مربوط به بز تالی هم، جهت تعیین توالی به شرکت BIONEER کره جنوبی فرستاده شد. با هم ردیف سازی توالی های پروتئینی بز تالی با توالی های گرفته شده از GenBank به وسیله نرم افزار Vector NTI و پس از آنالیز داده ها مشخص شد که در این نژاد تغییری در توالی آمینو اسیدی رخ نداده است.

پیش بینی ساختار سه بعدی پروتئینی BMP15 نوع جهش یافته و بدون جهش به وسیله سایت <http://ps2v2.life.nctu.edu.tw> انجام گرفت (شکل ۳).



شکل ۳- ساختار سه بعدی توالی های پروتئینی، بدون جهش (A) و جهش دار (B)



شکل ۵- درخت فیلوژنی مربوط به توالی پروتئینی GDF9

سپاسگزاری

بدین وسیله از کلیه دوستان و همکاران بخش علوم دامی دانشگاه شهید باهنر کرمان و پژوهشکده زیست فناوری دانشگاه شیراز به سبب همکاری صمیمانه در این پژوهش سپاسگزاری می‌شود.

منابع

- Davis GH (2004) Fecundity genes in sheep. *Animal Reproduction Science* 82: 247-253.
- Galloway SM, McNatty KP, Cambridge LM, Laitinen MPE, Juengel JL, Jokiranta TS, McLaren RJ, Luiro K, Dodds KG, Montgomery GW, Beattie AE, Davis GH, Ritvos O (2000) Mutations in an oocyte-derived growth factor (BMP15) cause increased ovulation rate and infertility in a dosage-sensitive manner. *Nature Genetics* 25: 279-283.
- Gilchrist RB, Ritter LJ, Armstrong DT (2004) Oocyte-somatic cell interactions during follicle development in mammals. *Animal Reproduction Science* 83: 431-446.
- Hanrahan JP, Gregan SM, Mulsant P, Mullen M, Davis GH, Powell R, Galloway SM (2004) Mutations in the genes for oocyte-derived growth factors GDF9 and BMP15 are associated with both increased ovulation rate and sterility in Cambridge and Belclare sheep (*Ovis aries*). *Biology of Reproduction* 70: 900-909.
- Hunter MG, Robinson RS, Mann GE, Webb R (2004) Endocrine and paracrine control of follicular development and ovulation rate in farm species. *Animal Reproduction Science* 83: 461-477.
- McNatty KP, Moore LG, Hudson NL, Quirke LD, Lawrence SB, Reader K, Hanrahan JP, Smith P, Groome NP, Laitinen M, Ritvos O, Juengel JL (2004) The oocyte and its role in regulating ovulation rate: a new paradigm in reproductive biology. *Reproduction* 128: 379-386.

برای مثال برخی بیماری‌های عصبی عفونی به وسیله عواملی انتقال داده می‌شوند که از نظر اندازه مشابه ویروس‌ها هستند، ولی تنها شامل پروتئین می‌باشند. این بیماری‌ها شامل آنسفالوپاتی اسفنجی شکل گاوی^۱ (جنون گاوی)، بیماری کروتزفالد-ژاکوب^۲ در انسان و اسکرابی^۳ در گوسفند می‌باشد. با بررسی این عوامل عفونی مشخص شد که عامل انتقال این بیماری‌ها متشکل از شکل‌های تجمع یافته یک پروتئین است، این تجمعات پروتئینی مقاوم به درمان با عواملی هستند که بیشتر پروتئین‌ها را از بین می‌برند، بیشتر یا تمامی این پروتئین‌ها از یک پروتئین سلولی طبیعی به نام PrP مشتق می‌شوند که در مغز وجود دارد. ساختمان پروتئین دارای نواحی گسترده‌ای از مارپیچ α و مقادیر کم ساختمان رشته β می‌باشند (Mohammadi 2009). بنابراین تغییر در کونفورماسیون-های مارپیچی α یا کونفورماسیون‌های صفحه β می‌تواند روی عملکرد پروتئین تاثیرگذار باشد.

رسم درخت فیلوژنی به وسیله نرم افزار MEGA 4 انجام گرفت، برای رسم این درخت توالی پروتئینی نژادهای تالی، بیتال و مرخوز استفاده شد، علاوه بر این از توالی پروتئین GDF9 گونه‌هایی مانند گاو، گوسفند، اسب، خوک، موش خانگی و صحرایی، ماهی زبرا و کپور، مارماهی، سگ، گربه و انسان مورد بررسی قرار گرفت (شکل ۵).

همانطور که در شکل بالا مشاهده می‌شود، نزدیک‌ترین شباهت به توالی پروتئین بز، توالی پروتئینی گوسفند (۹۸/۱) و پس از آن گاو می‌باشد (۹۵/۳). توالی پروتئینی اسب بیشترین شباهت را به توالی نشخوارکنندگان و از طرفی توالی پروتئینی ماهی زبرا کمترین شباهت را به توالی نشخوارکنندگان، به ویژه بز دارد (۳۳/۶). توالی پروتئینی انسان به توالی پروتئینی خوک شباهت بیشتری داشت (۷۶/۵).

¹ Bovin spongiform encephalopathy

² Cerutzfeldt-Jakob disease

³ Scrapie

Mohammadi R (2009) Biochemistry, Aeezh publisher, Tehran, Iran (In Farsi).

Moosavi-Movahedi A, Jamni A, Taghvi A, Moghadamnia SA (2009) Proteins Structure and Function. Tehran University Press, Tehtan, Iran (In Farsi).

Mousavizadeh A, Mohammadabadi MR, Torabi A, Nassiry MR, Ghiasi H, Esmailizadeh KA (2009) Genetic polymorphism at the growth hormone locus in Iranian Talli goats by polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism (PCR-SSCP). Iranian Journal of Biotechnology 7: 51-53.

Nicol L, Stephen C Bishop, Ricardo Pong-Wong, Christian Bendixen, Lars-Erik Holm, Stewart M Rhind, Alan S McNeilly (2009) Homozygosity for a single base-

pair mutation in the oocyte-specific GDF9 gene results in sterility in Thoka sheep. Reproduction 138: 921-933.

Pangas SA, Jorgez CJ, Matzuk MM (2004) Growth differentiation factor 9 regulates expression of the bone morphogenetic protein antagonist gremlin. Journal of Biological Chemistry 279: 32281-32286.

Polley Sh, De S, Batabyal S, Kaushik R, Yadav P (2009) Polymorphism of fecundity genes (BMPRII, BMP15 and GDF9) in the Indian prolific Black Bengal goat. Small Ruminant Research 85: 122-129

Shimasaki S, Moore RK, Erickson GF, Otsuka F (2003) The role of bone morphogenetic proteins in ovarian function. Reproduction Supplement 61:323-337.