ژنتیک نوین
دوره دوازدهم، شماره ٤، زمستان ١٣٩٦
صفحه ٥٣٣ - ٥٢٧

توالی‌یابی و تجزیه بیوانفورماتیکی قسمتی از راه انداز ژن بتاکازئین در شترهای تک‌کوهان و دوکوهان ایران

Sequencing and Bioinformatics analysis of partial promoter region of Beta Casein gene in Iranian Dromedary and Bactrian camels

الیاس محمدی[۱]، مجتبی طهمورث پور*[۱]، محمدرضا نصیری[۱]، محمدهادی سخاوتی[۱]، نغمه ساعدی[۲]

۱- به‌ترتیب دانشجوی دکتری، استاد، دانشیار، استادیار، ژنتیک و اصلاح نژاد دام، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

۲- دانشجوی دکتری، ژنتیک و اصلاح نژاد دام، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

Mohammadi E[1], Tahmoorespur M[*1], Nasiri MR[1], Hadi Sekhavati M[1], Saedi N[2]

1- PhD Student, Professor, Associated Professor, Assistant professor, candidate of animal genetics, Ferdowsi university of Mashhad, Mashhad, Iran

2- PhD Student, candidate of animal genetics, Science and Research Unit, Tehran, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: tahmoores@um.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹۵/۱۱/۳۰ - تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۲/۱۳)

چکیده

کازئین مهم‌ترین بخش پروتئین شیر است. ژن‌های کازئین و تنظیم بیان آن‌ها به خاطر اهمیت اقتصادی‌شان موضوع تحقیقات وسیع بوده‌اند. پیدا کردن عناصر تنظیمی مهم و آلل‌های چندشکل خاص در ناحیه راه‌انداز ژن‌های کازئین پایه خوبی برای انتخاب بر اساس مارکر ایجاد می‌کند. هدف از این مطالعه توالی‌یابی، آنالیز بیوانفورماتیکی و بررسی موتیف‌های قسمتی از راه‌انداز ژن بتاکازئین در شترهای تک‌کوهان و دوکوهان ایران و هم‌چنین بررسی تفاوت‌های تک‌نوکلئوتیدی (SNPs) در گونه شتر تک‌کوهان و دوکوهان ایران بود. تعداد ۱۰ عدد نمونه خون شتر نر و ماده تک‌کوهان از کشتارگاه مشهد و تعداد پنج عدد نمونه خون شتر نر و ماده دوکوهان از ایستگاه تحقیقات منابع طبیعی و امور دام استان اردبیل تهیه شد. پس از استخراج DNA، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز توسط آغازگرهای اختصاصی انجام شد و نمونه‌ها جهت توالی‌یابی به شرکت بایونیر ارسال شدند. توالی‌های مورد توافق برای شترهای تک‌کوهان و دوکوهان به‌دست آمد و بررسی موتیف‌ها، تجزیه و تحلیل تبارزایی و هاپلوتایپ‌ها انجام شد. بر اساس مقایسه توالی‌های به‌دست آمده با توالی‌های ثبت شده در پایگاه اطلاعاتی NCBI (بخشی از کل توالی)، مشخص شد که ناحیه مورد مطالعه، با وجود هاپلوتایپ‌های متفاوت، جهشی را نشان نمی‌دهد. بررسی‌ها هشت نوع هاپلوتایپ را در شترهای تک‌کوهان و پنج نوع هاپلوتایپ را در شترهای دوکوهان نشان داد.

واژه‌های کلیدی

توالی‌یابی
تفاوت‌های تک‌نوکلئوتیدی
شتر تک‌کوهان
شتر دوکوهان
هاپلوتایپ

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.4.4.0]

مقدمه

تعداد شترهایِ تک‌کوهان (*Camelus dromedaries*) و دوکوهان (*Camelus bactrianus*) در سراسر جهان، تا سال ۱۹۹۸ تقریباً به حدود ۱۸ میلیون نفر رسیده است و پس از آن، انتظار می‌رود این تعداد با توجه به افزایش جمعیت و بیابان‌زایی افزایش داشته باشد (Kappeler et al. 1998). شتر مهم‌ترین دامی است که می‌تواند در مراتع فقیر توان زیست و تولید داشته باشد و با توجه به عادات چرایی خود باعث حفظ و احیای این مراتع شود. شتر علاوه بر شرایط سخت صحرایی قادر است که در شرایط تغذیه دستی با دام‌های پر تولید هم وزن خود (مانند گاو) رقابت کرده و افزایش وزن روزانه بالایی داشته باشد. شیر شتر یکی از نزدیک‌ترین شیرها به شیر انسان می‌باشد که بیانگر ارزش بالای آن است. این شیر فاقد بتالاکتاگلوبولین (پروتئین عمده آب پنیر) می‌باشد که این پروتئین در شیر انسان هم وجود ندارد. این پروتئین عمده‌ترین پروتئین آلرژی‌زای فاز محلول گزارش شده‌است. در شیر شتر آنتی‌بادی‌هایی موجود می‌باشد که در درمان سرطان، ایدز، آلزایمر و هپاتیت B نقش بسزایی دارند. مطالعه دگرگونی ژنتیکی پروتئین شیر گاوی ۵۰ سال پیش توسط شناسایی گونه‌های اصلی بتا لاکتوگلوبولین آغاز شد و در سال‌های اخیر با بهبود روش‌های تجربی و مشارکت در زمینه‌های زیست‌شناسی ملکولی، ژنتیک و بیوشیمی به‌شدت افزایش یافته‌است. شیر به‌طور کلی از آب، پروتئین، چربی، کربوهیدرات، لاکتوز و مواد معدنی تشکیل شده‌است. پروتئین شیر به دو گروه اصلی تقسیم می‌شود که شامل کازئین‌ها (حدود ۸۰ درصد از پروتئین شیر را تشکیل می‌دهند) و وی پروتئین‌ها می‌باشند (Singh et al. 2007; Konuspayeva 2009). کازئین مهم‌ترین بخش پروتئین شیر است و تاکنون بر روی ژن‌های کدکننده آن تحقیقات وسیعی صورت گرفته‌است. پیدا کردن عناصر تنظیمی مهم و آلل‌های چندشکل خاص در ناحیه راه‌انداز ژن‌های کازئین پایه خوبی برای انتخاب بر اساس مارکر ایجاد می‌کند. کازئین پروتئین تغذیه‌ای شیر است که در پستانداران اهمیت زیادی دارد (Gatsey et al. 1996; Mishara et al. 2009). کازئین یک فسفوپروتئین می‌باشد که در صنایع غذایی و هم‌چنین در پزشکی کاربرد دارد. حدود ۸۰ درصد پروتئین شیر را کازئین تشکیل می‌دهد (Farrel et al. 2004; Shamsia 2009).

وِی‌پروتئین از بتالاکتوگلوبولین، ایمونوگلوبولین، گلیکوماکروپپتیدها، سرم آلبومین و پروتئین‌های کوچکتر مثل لاکتوپراکسیدازها، لیزوزیم و لاکتوفرین تشکیل شده‌است (Farrel et al. 2004; Haddadin et al. 2008). شیر شتر تمامی مواد مغذی ضروری موجود در شیر گاو را دارا می‌باشد. کازئین ۸۰ درصد پروتئین شیر گاو را تشکیل می‌دهد در حالی‌که کازئین شیر شتر ۵۲ تا ۸۷ درصد پروتئین آن را تشکیل می‌دهد. قسمت‌های اصلی کازئین گاوی شامل آلفا۱s، آلفا۲s، بتا و کاپا کازئین هستند (Kaminski et al. 2007; Salmen et al. 2012). این قسمت‌ها به‌ترتیب نام برده شده با نسبت ٤:١:٤:١ می‌باشند و تعداد اسیدهای آمینه‌ی آن‌ها به‌ترتیب ۱۹۹ ، ۲۰۷ ، ۲۰۹ و ۱٦۹ عدد است و در مقایسه با شیر گاو، در شیر شتر شامل ۲۰۷، ۱۷۸، ۲۱۷ و ۱٦۲ اسیدآمینه است. شیر شتر تک‌کوهان و گاو، آمینواسیدهای مشابهی دارند با این حال اسیدهای آمینه گلایسین و سیستئین در پروتئین کازئین شیر شتر دوکوهان کمتر از شیر گاو است (Salmen et al. 2012). به‌دلیل جایگاه کازئین به‌عنوان مهم‌ترین بخش پروتئین شیر این قسمت انتخاب شد و هدف از انجام این تحقیق اول توالی‌یابی قسمتی از راه‌انداز ژن بتاکازئین در گونه‌های شتر تک‌کوهان و دوکوهان ایران، دوم بررسی فیلوژنیکی، سوم بررسی موتیف‌های ناحیه غیر رمزدهنده و در نهایت شناسایی چندشکلی‌های تک‌نوکلئوتیدی (SNPs) موجود در قسمتی از نواحی غیر رمزدهنده (راه انداز) ژن بتاکازئین که اطلاعات حاصل از آن کاربرد فراوانی در مطالعات همبستگی چندشکلی‌های ژنی با صفات مورد بررسی دارند.

مواد و روش‌ها

تعداد ۱۰ عدد نمونه خون شتر تک‌کوهان از کشتارگاه مشهد واقع در جاده فریمان روستای تپه‌سلام و تعداد پنج عدد نمونه خون شتر دوکوهان از ایستگاه تحقیقات منابع طبیعی و امور دام استان اردبیل واقع در روستای جهادآباد تهیه شد. خون از رگ وداجی و به مقدار شش میلی‌لیتر گرفته‌شد. برای جلوگیری از انعقاد خون، از لوله‌های حاوی EDTA ده درصد استفاده شد و نمونه‌ها تا زمان استخراج DNA در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد در

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.4.4.0]

آزمایشگاه بیوتکنولوژی حیوانی دانشگاه فردوسی مشهد نگهداری شد.

به‌منظور استخراج DNA از کیت Bioneer (آمریکا--Cat. No. k-3032) و بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده با کمی تغییر استفاده شد. جهت بررسی کیفیت DNA نمونه‌ها روی ژل آگارز یک درصد مشاهده شدند. در نهایت برای تعیین دقیق غلظت DNA استخراج شده از دستگاه نانودراپ (NanoDrop® ND-1000, USA) استفاده شد. مقدار ۱/۸ تا ۲ برای نسبت A260/A280 نشانگر کیفیت خوب DNA است.

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز

در این بررسی از یک جفت آغازگر جهت تکثیر بخشی از راه‌انداز ژن بتاکازئین (از باز ۱۳۸- تا باز ۱۱٤۸-) شتر تک‌کوهان و دوکوهان استفاده شد که مشخصات آن را در جدول ۱ مشاهده می‌شود. جفت آغازگر با استفاده از توالی ثبت شده شتر تک‌کوهان در پایگاه اطلاعاتی NCBI و با استفاده از نرم‌افزار Primer premier 5 طراحی شد (AJ575419.1: GenBank). در مجموع قطعاتی به‌طول ۹٦۰ و ۹۱۰ جفت‌باز به‌ترتیب برای شترهای تک‌کوهان و دوکوهان توسط این جفت آغازگر تکثیر شد.

انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با استفاده از دستگاه ترموسایکلر Biometra آلمان (T-personal) در ۳۵ سیکل و با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر انجام شد.

واسرشت ابتدایی و بسط نهایی در زمان ٦۰۰ ثانیه، یک سیکل و در دمای ۹٤ و ۷۲ درجه سانتی‌گراد انجام شدند. واسرشت، اتصال و بسط در طی ۳۵ سیکل به‌ترتیب در دمای ۹٤، ٦٤ و۷۲ درجه سانتی‌گراد و زمان ۳۰، ۳۰ و ٥٤ ثانیه انجام شدند. محتوای مواد تشکیل دهنده این واکنش شامل ۱/۵ میکرولیتر از نمونه DNA با غلظت ۱۰۰ نانوگرم در میکرولیتر، ۲/۵ میکرولیتر از بافر با غلظت ۱۰X، ۱/۵ میکرولیتر کلرید منیزیم ۱/٦ میلی‌مولار، ۰/۲ میکرولیتر از آنزیم Taq polymerase با غلظت ۱/۵ واحد، ۱ میکرولیتر از آغازگر با غلظت ۱ پیکومول در میکرولیتر و ۱٦/۳ میکرولیتر آب دیونیزه بود. محصولات واکنش‌های زنجیره‌ای پلیمراز بر روی ژل آگارز یک درصد تفکیک شدند و سپس نمونه‌ها به‌منظور تعیین توالی به شرکت بایونیر کره جنوبی (Bioneer; South Korea) ارسال شدند.

به‌منظور رسم ماتریس فواصل ژنتیکی، در مرحله اول توالی مورد توافق قسمتی از راه‌انداز ژن بتاکازئین با توالی‌های موجود در پایگاه NCBI تحت فرایند BLAST مورد مقایسه قرار گرفتند. طی این فرایند تعداد ۱٦۰ توالی از ۹ جنس و گونه مختلف که با نواحی مورد مطالعه هم‌پوشانی داشتند، از این پایگاه دریافت و تحت رویه Clustal برنامه MEGA v5 (Tamura et al. 2013) با توالی‌های به‌دست آمده در این مطالعه همردیف‌سازی (Alignment) شدند (جدول ۲). ماتریس فواصل ژنتیکی به‌وسیله نرم‌افزار CLC Main Workbench 5.5 محاسبه شد و درخت فیلوژنتیکی این فواصل به‌وسیله نرم‌افزار MEGA v5 رسم شد (شکل‌های ۲ و ۳). تمامی توالی‌ها از پایگاه اطلاعاتی NCBI جمع‌آوری شدند.

جهت شناسایی هاپلوتایپ‌ها از رویه Alignment نرم‌افزار CLC Workbench (https://www.qiagenbioinformatics.com/) 5.5 استفاده شد. بدین منظور ابتدا توالی‌ها ویرایش شدند و سپس برای هریک از نمونه‌ها قسمتی از توالی کامل ژن بتاکازئین بدست آمد. در مرحله بعد با هم‌ردیف کردن توالی‌ها جهش‌ها مشخص شد. همانطور که در توالی‌های هم‌ردیف شده در شکل‌های ٤ و ٥ مشاهده می‌شود پس از هم‌ردیف کردن نمونه‌ها قسمت‌های مشترک بین همه نمونه‌ها با علامت " - " مشخص شدند و قسمت‌های متفاوت با فلش در آن جایگاه مشخص تعیین شدند.

جدول ۱- مشخصات و توالی آغازگر استفاده شده در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز

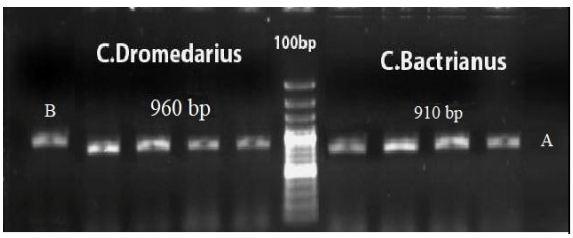
نام	توالی	طول قطعه (bp)	دمای اتصال (°C)	منبع
Scence	5′ CAAGATACTGAATATGGTTCCCTGT 3′	۹۱۰ (دوکوهان)	٦٤° C	طراحی شد (به‌وسیله primer premier5)
Anti-scence	3′ GTTCTATGACTTATACCAAGGGACA 5′	۹٦۰ (تک‌کوهان)	٦٤° C	

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.4.4.0]

در ابتدا صحت خوانش‌های توالی‌های کروماتوگرام (با فرمت ab1) به‌وسیله نرم‌افزار Chromas Lite 2.1 (Chromas Lite 2.1.1 by Australia Technelysium Pty Ltd) مورد بررسی قرار گرفت. توالی‌یابی ابتدا و انتهای هر کدام از فایل‌های ورودی مقداری خطا داشت اما سایر قسمت‌های توالی با کیفیت مناسب خوانش شده بودند. در مرحله بعد توالی رفت و برگشت هر کدام از نمونه‌ها (پس از هم سو کردن توالی رفت و برگشت) به کمک CLC Workbench 5.5 زیر هم‌چینی شدند و توالی توافقی برای هرکدام از نمونه‌ها تهیه شد. توالی توافقی برای نمونه‌های هرکدام از شترهای تک‌کوهان و دوکوهان نیز به همین روش تهیه شد.

نتایج و بحث

به‌منظور بررسی عملکرد آغازگرهای اختصاصی برای بخشی از راه‌انداز ژن بتاکازئین، الکتروفورز محصولات واکنش زنجیره‌ای پلیمراز بر روی ژل یک درصد انجام شد. مطابق شکل ۱، آغازگرها به‌خوبی فعالیت نموده و قطعات اختصاصی برای ناحیه راه‌انداز ژن بتاکازئین را تکثیر نموده‌اند. به‌عنوان کنترل منفی، مواد تشکیل دهنده واکنش زنجیره‌ای پلیمراز به‌جز DNA (Master mix) استفاده شد که در بخش A در شکل ۱ مشخص شده‌است. در این قسمت هیچ باندی مشاهده نشد که نشان از عدم آلودگی این مواد به DNA ناخواسته می‌باشد. برای کنترل مثبت از آغازگرهای اختصاصی برای بخشی از راه‌انداز ژن آلفا لاکتالبومین استفاده شد (Saedi et al. 2017). این قسمت با کد دسترسی KP217170 به طول ۱۰۱۲ جفت‌باز در قسمت B شکل ۱ نشان داده شده‌است.



شکل ۱- الکتروفورز محصولات PCR برای ناحیه راه‌انداز ژن بتاکازئین در شترهای تک‌کوهان و دوکوهان به‌ترتیب با طول ۹۶۰ و ۹۱۰ جفت‌باز بر روی ژل آگارز یک درصد. A نشان‌دهنده کنترل منفی با Master mix واکنش زنجیره‌ای پلیمراز و B نشان‌دهنده کنترل مثبت با آغازگرهای اختصاصی برای راه انداز ژن آلفا لاکتالبومین در شیر شتر با طول ۱۰۱۲ می‌باشد.

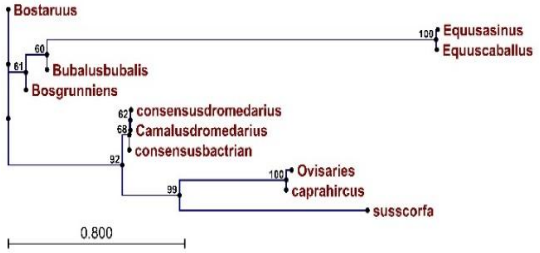
جدول ۲- توالی های دریافت شده از NCBI جهت آنالیز فیلوژنتیک

جنس و گونه	تعداد توالی دریافت شده
Sus scrofa	۵۱
Ovis aries	۶۰
Capra hircus	۳۲
Bos Taurus	۳
Bubalus bubalis	۲
Equus caballus	۵
Equus asinus	۲
Bos grunniens	۳
Camelus dromedaries	۲

یکی از اهداف این تحقیق تعیین توالی مورد توافق برای شترهای تک‌کوهان و دوکوهان بود. به‌منظور تعیین توالی قسمتی از راه‌انداز ژن بتاکازئین برای هرکدام از نمونه‌ها از نرم‌افزار CLC Main Workbench 5.5 استفاده شد. پس از زیر هم‌چینی توالی مورد توافق برای ژن بتاکازئین برای گونه شتر تک‌کوهان و دوکوهان ایران به‌دست آمد که به‌ترتیب ۹۶۰ و ۹۱۰ جفت‌باز طول داشت و در پایگاه اطلاعاتی NCBI به‌ترتیب با شماره دسترسی KR611005-KR611009 و KR610995-KR611004 برای اولین بار (برای شترهای تک‌کوهان و دوکوهان ایران) ثبت شد. فواصل ژنتیکی بین توالی گونه‌های مورد مطالعه محاسبه و نتایج آن در شکل ۲ نشان داده شده‌است.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Camalusdromedarius	1		0	0	296	277	277	278	294	232	255	256
consensusdromedarius	2	1		0	296	277	277	278	294	232	255	256
consensusbactrian	3	1	2		296	277	277	278	294	232	255	256
caprahircus	4	421	421	420		337	337	336	2	234	491	492
Bostaruus	5	407	408	406	400		0	1	335	325	264	265
Bosgrunniens	6	406	407	405	399	0		1	335	325	264	265
Bubalusbubalis	7	406	407	405	398	1	1		336	326	265	266
Ovisaries	8	431	431	430	2	416	415	414		232	489	490
susscorfa	9	453	453	452	496	525	524	524	609		418	416
Equusacaballus	10	486	487	485	690	485	484	482	694	629		1
Equusasinus	11	486	487	485	691	486	485	483	695	633	6	

شکل ۲ – ماتریس فواصل ژنتیکی



شکل ۳- درخت فیلوژنی توالی راه‌انداز ژن بتاکازئین شترهای تک‌کوهان و دوکوهان ایران و گونه‌های دیگر گرفته شده از بانک ژن NCBI .

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.4.4.0]

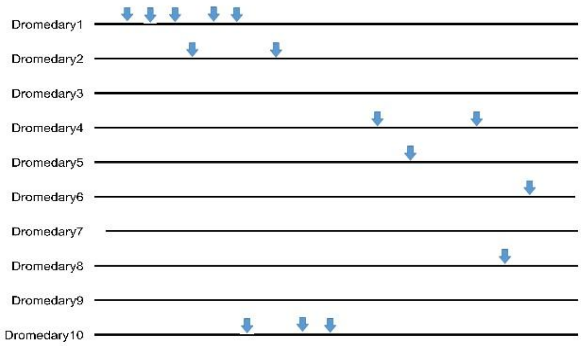
با توجه به شکل ۲، شترهای دوکوهان ایران کم‌ترین فاصله ژنتیکی را با توالی ثبت شده از شترهای تک‌کوهان در پایگاه اطلاعاتی NCBI و پس از آن بیش‌ترین شباهت را با گونه شتر تک‌کوهان ایران بررسی شده در این مطالعه (*Camelus dromedaris*) و سپس بیش‌ترین شباهت یا کم‌ترین فاصله ژنتیکی را با گونه گاو کوهان‌دار (*Bos grunniens*) داشتند. در این بین کم‌ترین شباهت توالی به‌دست آمده برای شترهای دوکوهان ایران با الاغ (*Equus Asinus*) به‌دست آمد. البته در این بین بیش‌ترین فاصله ژنتیکی نسبت به هم متعلق به دو گونه بز (*Capra hircus*) و الاغ (*Equus Asinus*) بود.

بر اساس فواصل ژنتیکی به‌دست آمده در شکل ۳ حیوانات به سه شاخه تقسیم می‌شوند. در شاخه‌ی شماره سه، دو زیر شاخه مشاهده می‌شود که در آن گونه‌های شتر در نزدیک‌ترین فاصله نسبت به هم قرار دارند. بر اساس نتایج به‌دست آمده از درخت فیلوژنی نیز، بالاترین درصد تطابق با شترهای ایرانی پس از شتر تک کوهان ثبت شده در NCBI (*Camelus dromedaries*) متعلق به گاو کوهان‌دار (*Bos grunniens*) است و کم‌ترین تطابق با شتر در بین گونه‌های بررسی شده متعلق به الاغ (*Equus Asinus*) و اسب (*Equus ferus* caballus) می‌باشد.

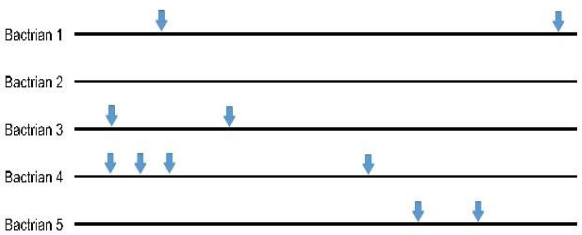
هشت نوع هاپلوتایپ متفاوت در شتر تک‌کوهان (شکل ٤) و پنج هاپلوتایپ در شتر دوکوهان (شکل ٥) شناسایی شد. ولی در توالی توافقی نهایی پس از زیرهم‌چینی توالی توافقی شترهای ایران با توالی ثبت شده در پایگاه اطلاعاتی NCBI جهشی گزارش نشد. در توالی توافقی شترهای تک‌کوهان و دوکوهان توسط پایگاه اطلاعاتی سافت بری[1] در مجموع ۳۲ موتیف مشاهده شد که ۲۹ عدد غیرتکراری و از این بین تنها ۱۹ عدد شناخته شده بودند که در جدول ۳ مشاهده می‌شود.

یکی از اهداف این مطالعه جست‌وجوی تفاوت‌های تک‌نوکلئوتیدی بود که جهشی در توالی‌ها یافت نشد. علت این امر می‌تواند حفاظت شدید ناحیه راه‌انداز به‌دلیل وظیفه تنظیمی آن باشد. در مطالعه Debeljak et al. (2005)، ۲۰۰۵ تراکم عناصر تنظیمی در ۷۵۰ باز اولیه راه‌انداز تمامی گونه‌ها زیاد گزارش نشد و بر خلاف آن این تراکم بین ناحیه‌ی ۷۵۰- تا ۱۰۰۰- و ۱۵۰۰- تا ۲۰۵۰- زیاد به‌دست آمد. از آنجایی که توالی به‌دست آمده از این تحقیق تنها تا باز ۱۱٤۸- توالی‌یابی شده بود، باز هم ۵۷ درصد از موتیف‌های پیدا شده یعنی ۱۱ موتیف از ۱۹ موتیف در این ناحیه قرار داشت. پس نتایج این مطالعه این قسمت از نتایج Debeljak et al. (2005) را تایید کرد.

اما نتیجه‌ی دیگر Debeljak et al. (2005) این بود که در بین ناحیه ۷۵۰- تا ۱۳۰۰- تمامی گونه‌ها حداقل دو موتیف STAT5 مشاهده می‌شود که در این مورد ما به چنین نتیجه‌ای نرسیدیم و این موتیف مشاهده نشد که شاید دلیل آن عدم توالی‌یابی تا باز ۱۳۰۰- بود. از دیگر نتایج این افراد که توسط این تحقیق تایید شد می‌توان به حضور موتیف AP-۱ و OCT-۱ اشاره کرد که سهم هر کدام یک موتیف بود که البته OCT-۱ قبلا در موش و گوسفند مشاهده شده بود. Rosen et al. (1999) گزارش کردند که C/EBP یک خانواده موتیف شدیدا حفاظت شده‌است که در دایمریزاسیون و اتصال DNA بسیار اهمیت دارند. به گفته روزن و همکاران این فاکتورها در راه‌انداز ژن بتاکازئین موش شامل چهار موتیف بین نواحی ۸۲- تا ۲٤۰- بود که در شتر این موتیف شامل دو تکرار و در نواحی ۸۷٤- و ٤٦۷- مشاهده شد.



شکل ٤- نمای کامل زیر هم‌چینی ۱۰ نمونه توالی‌یابی شده شتر تک‌کوهان جهت یافتن تفاوت‌های تک‌نوکلئوتیدی



شکل ٥- نمای کامل عمل زیرهم‌چینی پنج نمونه توالی‌یابی شده شتر دوکوهان جهت یافتن تفاوت‌های تک‌نوکلئوتیدی

[1] -www.softberry.com

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.4.4.0]

جدول ۳- موتیف‌های شناسایی شده در قسمتی از راه‌انداز ژن بتاکازئین شیر شتر تک‌کوهان و دوکوهان ایران

نام موتیف	توالی موتیف	مکان در ژن
AP-1	TGACTTCT	-۵۳۸
Evi-1	TGACAAGATAA	-٤۳۰
TFII-I	TACTCCCT	-۵۹۳
MyoD	CACCTG	-۳۸۸
ISGF2	CTTTCTCTTT	-٦۲۲
Oct-1	ACTTCCAT	-۸٦۵
C/EBP	GAGGAGGG	-۸۷٤ و -٤٦۷
CAC-binding	GGTGGGG	-٦۸۷
TFIID	TTCATAAA	-۹۸۹
kni/knrl/egon	AACTAAATC	-۵٤۳
PBX proteins	ATCAATCA	-۹۸۷
Brn-3	ATAATTAAT	-۵۱۹
ESF-1	TCAGCTGA	-۸۲۲ و -۸۱۵
c-Myb	TGGCCGTTG	-۳۷۵
Stat92E	TTCATGGAA	-۸۲۵
Fkh	CTTTGTAAA	-۹۵۰
Bhlh	CCATCTGC	-۸۷۳
Spi-1/PU.1	CTTCCTCC	-۸۵۲
Ngn3	GCAGATGG	-۸٦٦
OCT- FACTOR (IGNFA)	ATGCAAAT	-۱۰۲۲

در مطالعات Saedi et al. (2017) بر روی ناحیه پروموتوری ژن آلفا لاکتالبومین شیر درشترهای تک‌کوهان و دوکوهان ایران، چهار جهش در شتر تک‌کوهان و سه جهش در شتر دوکوهان مشاهده شد اما در این مطالعه با وجود فراوانی بیش‌تر هاپلوتایپی (هشت هاپلوتایپ برای شتر تک کوهان و پنج هاپلوتایپ برای شتر دو کوهان) نسبت به مطالعه ذکر شده (پنج هاپلوتایپ در شتر تک کوهان و چهار هاپلوتایپ در شتر دو کوهان) جهشی یافت نشد. دلیل این موضوع می تواند حفاظت بیشتر از راه‌انداز ژن بتاکازئین در برابر جهش در مقایسه با راه‌انداز ژن آلفا لاکتالبومین در شیر شتر باشد.

سپاسگزاری

آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشکده علوم دامی دانشگاه فردوسی مشهدکه امکان این تحقیق را فراهم کرد. کشتارگاه مشهد (به‌خاطرامکان فراهم کردن نمونه خون شتر تک کوهان). ایستگاه تحقیقات منابع طبیعی و امور دام استان اردبیل (به‌خاطر امکان فراهم کردن نمونه خون شتر دو کوهان).

منابع

Debeljak MA, RUŠ A, Frajman POLONA, Lenasi TINA, Narat MOJCA, Baldi ANTONELLA, Dovc PETER (2005). Functional analysis of the bovine beta-and kappa casein gene promoters using homologous mammary gland derived cell line. Archives Animal Breeding 48:334-345.

Farrell HM, Jimenez-Flores R, Bleck GT, Brown EM, Butler JE, Creamer LK, Swaisgood HE (2004). Nomenclature of the proteins of cows' milk-sixth revision. Journal of dairy science 87:1641-1674.

Gatesy J, Hayashi C, Cronin MA, Arctander P (1996). Evidence from milk casein genes that cetaceans are close relatives of hippopotamid artiodactyls. Molecular biology and evolution 13:954963.

Haddadin MSY, Gammoh SI, Robinson RK (2008) Seasonal variation in the chemical composition of camel milk in Jordan. Journal of Dairy Research 75:8-12.

Konuspayeva G, Faye B, Loiseau G (2009) The composition of camel milk: a metaAnalysis of the Literature data. Journal of Food Composition and Analysis 22:95-101.

Kamiński S, Cieślińska A, Kostyra E (2007). Polymorphism of bovine beta-casein and its potential

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.4.4.0]

effect on human health. Journal of applied genetics 48:189-198.
KAPPELER S, FARAH Z, PUHAN Z (1998). Sequence analysis of Camelus dromedarius milk caseins. Journal of Dairy Research 65:209-222.
Mishra BP, Mukesh M, Prakash B, Sodhi M, Kapila R, Kishore A, Bujarbaruah KM (2009). Status of milk protein, b-casein variants among Indian milch animals. Indian Journal of Animal Sciences 79:722-5.
Michael R, Leuze, Tatiana V Karpinets, Mustafa H Syed, Alexander S, Beliaev and Edward C, erbacher (2012). Binding Motifs in Bacterial Gene Promoters Modulate Transcriptional Effects of Global Regulators CRP and ArcA. Gene Regulation and Systems Biology 6: 93-107.
Rosen ED, Sarraf P, Troy AE, Bradwin G, Moore K, Milstone DS, Mortensen RM (1999). PPARγ is required for the differentiation of adipose tissue in vivo and in vitro. Molecular cell 4:611-617.
Salmen SH, Abu-Tarboush HM, Al-Saleh AA, Metwalli, AA (2012). Amino acids content and electrophoretic profile of camel milk casein from different camel breeds in Saudi Arabia. Saudi journal of biological sciences 19:177-183.
Saedi N, Tahmoorespur M, Nassiri M, Sekhavati M, RAEI TM (2017). Sequencing and analysis of partial promoter region of Alpha lactalbumin gene in Iranian dromedary and bactrian camels. (In Farsi).
Singh S, Kumar P, Bhattacharya TK, Bushan B, Sharma A (2007). Comparative study of the nucleotide sequence of the beta casein gene of buffalo (bubalus bubalis) with various livestock species. Buffalo bulleitn ibic, kasetsart university, po box 1084 bangkok 10903, Thailand 26:1.
Shamsia SM (2009) Nutritional and therapeutic properties of camel and human milks. International Journal of Genetics and Molecular Biology 1:52-58.
Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipski A, Kumar S (2013). MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. Molecular biology and evolution 30:2725-2729.
CLC Genomics Workbench 5.5 (https://www.qiagenbioinformatics.com/)

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1396.12.4.4.0]