دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشهای تولیدات دامی

"مقاله پژوهشی"

مطالعه بیوانفورماتیکی ژنوم میتوکندری در دو زیرگونه گاو *هلشتاین* (*Bos taurus*) و *کلیستانی* (*Bos indicus*) با استفاده از داده‌های *RNA-Seq*

احمد تمروسی[۱]، غلامرضا داشاب[۲]، محمد حسین بناءبازی[۳] و علی مقصودی[۴]

۱- کارشناسی ارشد ژنتیک و اصلاح دام، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران
۲- دانشیار ژنتیک و اصلاح دام، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران، (نویسنده مسوول: dashab@uoz.ac.ir)
۳- استادیار ژنتیک و اصلاح دام، بخش پژوهشهای بیوتکنولوژی، موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
۴- دانشیار ژنتیک و اصلاح دام، گروه علوم دامی و بیوانفورماتیک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۵/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۶/۲۰
صفحه: ۱۷۲ تا ۱۸۴

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: ظهور نسل جدید توالی‌یابی ترانسکریپتوم به بهبود صحت کلی پیش‌بینی بیان ژن‌های مختلف با استفاده از توالی‌های کوتاه RNA-Seq کمک کرده است.این فناوری می‌تواند یک دیدگاه جامع‌تری نسبت به ژنومیک عملکردی در بسیاری از گونه‌ها با یک توالی ژن منحصر به فرد داشته باشد. هدف از انجام تحقیق حاضر بررسی دلایل ساختاری بیان متفاوت ژن‌های میتوکندری در دو زیرگونه گاو هلشتاین و کلیستانی شامل ژن‌های ND3، ND4، ND4L، ND5 و ND6 بود که در فرآیندهای مهمی از جمله متابولیسم انرژی در مقابله با تنش‌های زیستی و غیرزیستی و نیز مقاومت به بیماری نقش دارند.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه از داده‌های *RNA-Seq* مربوط به ادغام ۴۰ نمونه از مرکز گاو شیری دانشگاه ویسکانسین آمریکا (*Bos taurus*) و ۴۵ گاو ماده *کلیستانی* (*Bos indicus*) در مزرعه گوجایتپیر شهر باهاوالپور واقع در ایالت پنجاب پاکستان استفاده شد. برای انجام این مطالعه جهت بررسی سطح پوشش ترانسکریپتومی و اختلافات ژنتیکی در بین پنج ژن میتوکندری که شامل نواحی چندشکلی، نواحی حذف و اضافه، نواحی اتصال و درصد انواع جایگزینی‌های نوکلئوتیدی انتقالی و تقاطعی از نرم‌افزارهای IGB، MEGA6 و DnaSPV.5 استفاده شد.

یافته‌ها: بیشترین ناحیه و طول حذف در تمام ژن‌های مورد مطالعه مربوط به ژنوم هلشتاین و بیشترین طول و ناحیه اتصال مربوط به گاو کلیستانی بود. بیشترین تعداد نواحی حذف در گاوهای *هلشتاین* و *کلیستانی* مربوط به ژن *ND4* به ترتیب با ۷۴ و ۶۶ نقطه و کمترین نواحی حذف مربوط به *ND4L* به ترتیب با ۹ و ۴ ناحیه حذف بودند. ژن‌های *ND4* و *ND4L* هیچ ناحیه اتصال نداشتند، اما ژن‌های *ND5* و *ND6* در دو نژاد *هلشتاین* و *کلیستانی* به‌ترتیب با ۱ و ۲ ناحیه اتصال موجب افزایش ژنوم به ترتیب با طول ۱۱ و ۲۲ جفت باز شدند. بالاترین سطح پوشش ترانسکریپتومی در ژن‌های ND3 و ND4 و کمترین پوشش در جایگاه ژن ND6 مشاهده شد. تعداد نواحی چندشکل در جایگاه ND5 بیشتر از سایر ژن‌ها و برابر با ۳۸ ناحیه چندشکلی بود. همچنین، نتایج نشان داد که درصد جانشینی انتقالی در بازها بیشتر از جانشینی تقاطعی هست که می‌تواند دلیل پایداری تغییرات در طی تکامل باشند. بنابراین، برخی از دلایل ساختاری ژن‌های میتوکندری که در دو زیرگونه هلشتاین و کلیستانی بیان متفاوت داشتند، می‌تواند مربوط به حذف و اضافه، نواحی چندشکلی، سطح پوشش ترانسکریپتومی و نوع و میزان جایگزینی‌های انتقالی و تقاطعی باشند که در طی تکامل دو زیرگونه بوجود آمده است.

نتیجه‌گیری: انتخاب شدید برای تولید شیر در گاوهای هلشتاین نسبت به نژاد کلیستانی منجر به کاهش طول ژنوم میتوکندری و تغییرات در ساختار نوکلئوتیدی برخی ژن‌های میتوکندری شده که نتیجه آن تغییر بیان ژن‌ها و عکس‌العمل متفاوت به شرایط متفاوت محیطی می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: بیان ژن، پوشش ترانسکریپتومی، حذف و اضافه، کلیستانی، هلشتاین

مقدمه

شواهد باستان‌شناسی و ژنتیکی حاکی از آن است که گاوهای مدرن ممکن است ناشی از دو رویداد اهلی کردن گاو (*بوس پریمنیگوس*) در جنوب غربی آسیا باشد که به‌ترتیب باعث به وجود آمدن گاوهای تائورین (*بوس تائروس*) و زبو (*بوس ایندیکوس*) شدند (۱۴،۲۱). با این حال، اهلی شدن مستقل در آفریقا (۴،۱۳) و شرق آسیا (۲۲) نیز فرض شده است و داده‌های DNA باستانی امکان تداخل ژنی از گاو وحشی را افزایش می‌دهند.

زیرگونه‌ها و نژادهای گاو به لحاظ مورفولوژیکی متفاوت بوده‌اند و در ابتدا با حضور یا عدم حضور یک کوهان از همه متمایز می‌شدند (۱۸). داده‌های مولکولی به ترتیب نشانگر دوگانگی عمده تائورین-زبویین (*taurine-zebuine*) برای نژادهای گاو در آسیا است، اما شواهد نشان می‌دهد که گاوهای زبوی آفریقایی از گونه‌های *بوس تائروس* اولیه بوسیله تلاقی اجدادی و اجتناب از نرها با واسطه ژنتیک *بوس ایندیکوس* نشأت گرفته است (۴).

توالی DNA میتوکندری (mtDNA) می‌تواند یک ابزار زنده برای استقرار محل‌های اهلی‌سازی باشد. نقطه کانونی تنوع mtDNA گاوهای کوهان‌دار در شبه‌جزیره هند با توجه به مناطق فراگیر، نشان‌دهنده اهلی شدن *Bos indicus* در هند و پس از مهاجرت به جنوب غرب آسیا، چین و جنوب شرقی آسیا است (۶). به طور مشابه، *Bos taurus* دارای بیش‌ترین تنوع در جنوب غربی آسیا با چهار هاپلوگروه mtDNA مختلف شامل T1، T2، T3 و T4 می‌باشند (۳۰). عملکرد ژنتیکی DNA میتوکندری برای اولین بار در دهه ۱۹۸۰ به کمک توالی‌یابی کامل ژنوم میتوکندری چند گونه از پستانداران گزارش شد. نتایج این مطالعات نشان داد که DNA میتوکندری دارای یک ناحیه غیرکدشونده (D-Loop) و نواحی کد شونده متشکل از ۳۷ ژن، شامل ۱۳ پروتئین و ۲۲ tRNA که ۲۰ اسیدآمینه را شناسایی می‌کنند و ۲ rRNA و فاقد پروتئین‌های هیستون و اینترون است (۲،۱۲،۱۶).

ژنوم میتوکندری کدکننده تعداد محدودی پروتئین است که تمامی آن‌ها از اجزای اصلی سیستم فسفوریلاسیون اکسیداتیو می‌باشند، علاوه بر این تمام RNAهای ریبوزومی و بسیاری از tRNAهای مورد نیاز برای ترجمه این پروتئین‌ها در میتوکندری نیز، توسط ژنوم این اندامک کد می‌شود؛ دیگر پروتئین‌های میتوکندری توسط ژنوم هسته کد شده، که تصور

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1400.12.34.20.7]
[DOI: 10.52547/rap.12.34.172]

بر این است که این ژن‌ها از ژنوم میتوکندری‌های اجدادی به هسته منتقل شده‌اند (۸).

mtDNAهای حیوانی حاوی ژن‌هایی هستند که RNAهای ریبوزومی زیرواحد بزرگ و کوچک، بیست و دو RNA (tRNA) و ۱۳ پروتئین که همه اجزای فرآیند فسفوریلاسیون اکسیداتیو هستند را رمزگذاری می‌کنند. زیر واحدهای *ATPase*، *سیتوکروم b* (*cytb*)، زیرواحدهای *سیتوکروم c اکسیداز* (*COX1, COX2, COX3*) و *NADH دهیدروژناز* شامل هفت زیرواحد (*ND1, ND2, ND3, ND4, ND4L, ND5, ND6*) هستند (۹).

ظهور نسل جدید توالی‌یابی ترانسکریپتوم به بهبود صحت کلی پیش‌بینی ژن با استفاده از توالی‌یابی کوتاه *RNA-Seq* کمک کرده است. علاوه بر این، این فناوری می‌تواند یک دیدگاه جامع‌تری نسبت به ژنومیک عملکردی در بسیاری از گونه‌های ناشناخته با یک توالی ژنی منحصر به فرد با طول کامل و تفسیر ژن با دقت ارائه دهد. در نتیجه در توسعه منابع داده‌های ترانسکریپتوم از منابع ژنتیکی مفید و کارآمدتر هستند (۱۷). ترانسکریپتوم مطالعه کاتالوگ‌های رونوشت در یک سلول، بافت، یا ارگانیسم برای یک مرحله توسعه خاصی یا شرایط فیزیولوژیکی است (۲۹).

پوشش ترانسکریپتوم یا عمق توالی مورد نیاز برای یک مطالعه خاص می‌تواند تحت تأثیر عوامل مختلفی از جمله اندازه ژنوم، پیچیدگی متن و اهداف مطالعه باشد. به طور کلی، هرچه متن پیچیده‌تر باشد، برای پوشش مناسب، عمق توالی بیشتر لازم است (۷). بسته به هدف تجزیه و تحلیل رونوشت، نیاز به عمق توالی متفاوت است.

در مطالعه‌ای به منظور بررسی منشأ و میزان تنوع ژنتیکی نژادهای گاو بومی در چین، با استفاده از چندشکلی ژنوم میتوکندری، نتایج فیلوژنتیک توالی‌های نوکلئوتیدی ژن *CYTB* به طول ۱۴۰ جفت باز نشان داد که توالی ژن مذکور به دو سلسله ژنتیکی متمایز شامل تائورین (*بوس تائروس*) و زبو (*بوس ایندیکوس*) طبقه‌بندی شدند. ژنوم میتوکندری گاوهای زبو در نژادهای جنوبی غالب هستند، در حالی ژنوم میتوکندری تائورین در نژادهای شمالی غالب است (۵).

نژاد *کلیستانی* (*Bos indicus*) شباهت بسیار زیادی با نژاد سیستانی دارد و به تحمل حرارت و مقاومت در برابر کنه و بیماری مشهور است (۱۱). در مقابل گاو *هلشتاین* جزء نژادهای غالب در صنعت گاو شیری است. علت انتخاب این دو نژاد تفاوت فنوتیپی قابل توجه بین این دو نژاد است (۲۳،۱۹). از آنجایی که در برخی از ژن‌های میتوکندری تفاوت بیان ژن بین دو زیرگونه *هلشتاین* و *کلیستانی* مشاهد شده و با توجه به اهمیت ژن‌های موجود در فرآیندهای مهمی از جمله متابولیسم انرژی که در مقابله با تنش‌های زیستی و غیرزیستی و نیز مقاومت به بیماری نقش دارند، انجام یک مطالعه که پوشش ترانسکریپتومی را در ژنوم میتوکندری را بررسی کند، ضروری می‌باشد. لذا هدف از مطالعه حاضر بررسی دلایل بیان متفاوت در ژنوم میتوکندری در بین دو نژاد *هلشتاین* و *کلیستانی* و پیدا کردن دلایل احتمالی بیان متفاوت می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه از داده‌های *RNA-Seq* مربوط به ادغام ۴۰ نمونه از مرکز گاو شیری دانشگاه ویسکانسین آمریکا (*Bos taurus*) و ۴۵ گاو ماده *کلیستانی* (*Bos indicus*) در مزرعه گوجایتپیر شهر باهاوالپور واقع در ایالت پنجاب پاکستان استفاده شد. این داده‌ها در مطالعه Huang و همکاران (۱۵) تولید شدند. به طور خلاصه، تهیه کتابخانه‌های مذکور شامل مراحل برش mRNA به قطعات کوچکتر، رونویسی معکوس آنها (ساخت cDNA)، اتصال آغازگرهای توالی‌یابی، انتخاب قطعات با اندازه مناسب (حدود ۳۰۰ جفت باز) و غنی سازی از طریق PCR بود.

کتابخانه آماده شده برای هر نژاد روی یک خط دستگاه IIx. Illumina Genome Analyzer توالی‌یابی شد. نتیجه توالی‌یابی تولید ۲۱،۰۷۸،۴۷۷ و ۲۰،۹۴۰،۰۶۳ خوانش کوتاه جفتی (از هر دو انتها توالی یابی شده) به طول ۷۵ جفت باز به ترتیب برای نژادهای *هلشتاین* و *کلیستانی* بود. داده‌های خام برای هر نژاد در تاریخ ۲۲ ژولای ۲۰۱۳ در بخش آرشیو خوانش‌های کوتاه (Short (sequence) Read Arshive (SRA)) بانک اطلاعاتی مرکز ملی اطلاعات بیوتکنولوژی (NCBI) منتشر شده و با فرمت sra بصورت رایگان و عمومی از لینک‌های زیر قابل دریافت است: نژاد *کلیستانی*: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra/SRS454433 و نژاد *هلشتاین*: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra/SRS454432

تجزیه و بیان افتراقی ژن‌ها و فراخوانی ترانسکریپتوم نمونه جمعیت گاو *هلشتاین* آمریکا و گاو *کلیستانی* پاکستان بیانگر اختلافات بیان ژن‌های میتوکندری (mtDNA) در دو نژاد حکایت داشت که هدف مطالعه حاضر قرار گرفت تا دلایل بیان متفاوت آنها توضیح داده شود (۱،۲۵،۲۶). لذا اطلاعات توالی ترانسکریپتوم ژن‌های مذکور استخراج و با ژنوم مرجع دو زیرگونه گاو شامل *Bos taursus* و *Bos indicus* مقایسه و تفاوت ساختار ساختمانی ژن‌ها و سطح پوشش ژن‌ها تحلیل شدند.

استخراج ژن‌های میتوکندری

با استفاده از پایگاه‌های داده ژنومی NCBI به آدرس: (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/) و Ensembl به آدرس: (https://asia.ensembl.org/index.html) توالی پنج ژن میتوکندری برای گاو *هلشتاین* (*Bos taurus*) و گاو *کلیستانی* (*Bos indicus*) استخراج و به فرمت FASTA ذخیره گردید. اطلاعات مربوط به شماره دسترسی، نام ژن، موقعیت در ژنوم میتوکندری در دو نژاد *هلشتاین* و *کلیستانی* در جداول ۱ ارائه شده است.

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1400.12.34.20.7]
[DOI: 10.52547/rap.12.34.172]

جدول ۱- مشخصات مربوط به پنج ژن میتوکندری در گاو *هلشتاین* (*Bos taurus*) و *کلیستانی* (*Bos indicus*)
Table 1. Specifications of five mitochondrial genes in *Holstein* (*Bos taurus*) and Choleistani (*Bos indicus*) cattle

ردیف	شماره حاشیه نویسی ژن	نام ژن	جایگاه ژن	نوع ژن	p_value	q_value
			هلشتاین			
۱	ENSBTAG00000043568	MT-ND3	MT:9822-10168	کدکننده پروتئین	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۱
۲	ENSBTAG00000043577	MT-ND4	MT:10238-11906	کدکننده پروتئین	۰/۰۰۱۵	۰/۰۱
۳	ENSBTAG00000043563	ND5	MT:12108-14440	کدکننده پروتئین	۰/۰۰۲	۰/۰۲
۴	ENSBTAG00000043546	MT-ND6	MT:12108-14440	کدکننده پروتئین	۰/۰۰۰۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱
۵	ENSBTAG00000043559	MT-ND4L	MT:10238-11906	کدکننده پروتئین	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۱
			کلیستانی			
۱	ENSBTAG00000043568	MT-ND3	MT:9822-10168	کدکننده پروتئین	۰/۰۰۱	۰/۰۱
۲	ENSBTAG00000043577	MT-ND4	MT:10238-11906	کدکننده پروتئین	۰/۰۲	۰/۰۵۵
۳	ENSBTAG00000043563	ND5	MT:12108-14440	کدکننده پروتئین	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱۵
۴	ENSBTAG00000043546	MT-ND6	MT:12108-14440	کدکننده پروتئین	۰/۰۰۲	۰/۰۵
۵	ENSBTAG00000043559	MT-ND4L	MT:10238-11906	کدکننده پروتئین	۰/۰۰۵	۰/۰۰۱

بیان کمی ژن‌های میتوکندری در دو نژاد *هلشتاین* و *کلیستانی* که در مطالعه حاضر استفاده شدند، در جداول ۲ ارائه شده است. اطلاعات حاضر از تجزیه بیان افتراقی گاوهای *هلشتاین* و *کلیستانی* از مطالعه سلیم‌پور (۲۵) استخراج شدند.

جدول ۲- بیان کمّی ایزوفرم‌های ژن‌های میتوکندری در گاو *هلشتاین* (*Bos taurus*) و گاو *کلیستانی* (*Bos indicus*)
Table 2. Quantitative expression of isoforms of mitochondrial genes in *Holstein* (*Bos taurus*) and Cholestani (*Bos indicus*)

ردیف	شماره حاشیه نویسی ژن	نام ژن	جایگاه ژن	طول	سطح پوشش	FPKM	FPKM conf-lo	FPKM conf-hi
				هلشتاین				
۱	ENSBTAG00000043568	*ND3*	MT:9822-10168	۳۴۶	۱۲۹۴۰/۲	۶۴۵۳/۸۴	۶۳۶۸/۱۷	۶۵۳۹/۵۲
۲	ENSBTAG00000043577	*ND4*	MT:10528-11906	۱۳۷۸	۳۰۱۳/۴۸	۱۵۱۳/۲۷	۱۴۴۸/۲۷	۱۵۷۸/۲۶
۳	ENSBTAG00000043559	*ND4L*	MT:10238-10535	۲۹۷	۳۱۳۶/۸۸	۱۵۷۵/۲۳	۱۴۹۴/۹۲	۱۶۵۵/۵۴
۴	ENSBTAG00000043563	*ND5*	MT:12108-13929	۱۸۲۱	۱۶۴۳/۴۵	۸۳۴/۵۹۸	۷۹۸/۲۶۸	۸۷۰/۹۲۷
۵	ENSBTAG00000043546	*ND6*	MT:13912-14440	۵۲۸	۲۱۴۵/۸۷	۱۰۸۹/۷۴	۱۰۳۷/۴۹	۱۱۴۲
				کلیستانی				
۱	ENSBTAG00000043568	*ND3*	MT:9822-10168	۳۴۶	۲۵۲۴۲/۴	۱۱۶۶۱/۹	۱۱۵۳۳/۱	۱۱۷۹۰/۷
۲	ENSBTAG00000043577	*ND4*	MT:10528-11906	۱۳۷۸	۴۲۴۲/۳	۱۹۱۰/۲۹	۱۸۲۹/۱۳	۱۹۹۱/۴۵
۳	ENSBTAG00000043559	*ND4L*	MT:10238-10535	۲۹۷	۲۰۴۵/۹۴	۹۲۱/۲۷۷	۸۶۳/۹۰۴	۹۷۸/۶۵
۴	ENSBTAG00000043563	*ND5*	MT:12108-13929	۱۸۲۱	۱۱۳۳/۱۲	۶۰۲/۹۳۹	۵۷۶/۳۶۱	۶۲۹/۵۱۸
۵	ENSBTAG00000043546	*ND6*	MT:13912-14440	۵۲۸	۲۰۷۳/۹۷	۱۱۰۳/۵۷	۱۰۵۰/۳۸	۱۱۵۶/۷۷

محاسبه سطح پوشش ژنومی یا کاوریج

جهت بررسی سطح پوشش ترانسکریپتومی ژن‌های میتوکندری و تعیین اختلافات ژنتیکی در پنج ژن میتوکندری در دو نژاد *هلشتاین* و *کلیستانی* از برنامه IGB نسخه 9.1.0 استفاده شد (۱۰) که مراحل انجام کار و تجزیه‌ها به شرح ذیل می‌باشند: بارگذاری فایل داده‌های کمی بیان افتراقی ژن‌ها در قالب فرمت gtf به همراه ژنوم مرجع و سپس تجزیه سطح پوشش ژنومی می‌باشد. همچنین در قالب برنامه مذکور اختلافات ساختار ژنتیکی هر کدام از ژن‌ها شامل نواحی چندشکل، نواحی حذف و اضافه و نواحی اتصال به تفکیک برای هر ژن میتوکندری بررسی گردید.

مقایسه دقیق‌تر توالی نوکلئوتیدی ژن‌های میتوکندری در دو نژاد *هلشتاین* و *کلیستانی* به منظور تعیین مکان نواحی چندشکل (SNP) و همچنین محاسبه درصد انواع جایگزینی‌های مختلف انتقالی و تقاطعی از برنامه MEGA6 (۲۸) و DnaSpV.5 (۲۰) استفاده شدند. بدین منظور نواحی ORF (Open reading frame) پنج ژن میتوکندری در دو نژاد *هلشتاین* و *کلیستانی* از برنامه IGB به همراه ژنوم مرجع نواحی مذکور به عنوان رفرنس استخراج و ویرایش گردید و در قالب فرمت FASTA در تجزیه با MEGA6 و DnaSPV.5 مورد استفاده قرار گرفت، به منظور توالی ژن های میتوکندری دو زیرگونه با ژنوم مرجع همردیف شدند. همچنین نواحی ORF به توالی اسیدآمینه نیز ترجمه شده و سپس برای محاسبه شاخص‌هایی مانند درصد جایگزینی تقاطعی و انتقالی و نسبت آنها مورد استفاده قرار گرفتند.

نتایج و بحث

دانش تنوع، تمایز و ساختار ژنتیکی جمعیت اطلاعات حیاتی برای حفاظت و مدیریت منابع ژنتیکی حیوانی را فراهم می‌نماید (۲۴). اگر فنوتیپ و ژنوتیپ هیچ تفاوتی بین افراد نشان ندهند، انتخاب برای ویژگی‌های پرورشی مهم موفق نخواهد بود. بنابراین، حفظ تنوع ژنتیکی در جمعیت گاو جهان برای تأمین منابع ژنتیکی برای مواجهه با چالش‌های اجتماعی در آینده از جمله امنیت غذایی، افزایش رقابت برای پرورش و تنوع بیشتر در شرایط آب و هوایی متفاوت حائز اهمیت می‌باشد (۳).

تغییرات حذف در تعدادی از بازهای DNA موجب می‌شود تا طول DNA تغییر کند. جهش‌های حذفی کوچک یک یا چند

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1400.12.34.20.7]
[DOI: 10.52547/rap.12.34.172]

جفت باز را از ژن حذف می‌کنند، در حالیکه جهش‌های حذفی بزرگتر می‌توانند کل یک ژن یا چندین ژن مجاور را نیز حذف کنند. حذف موجب می‌شود تا عملکرد پروتئین یا پروتئین‌های حاصله نیز تغییر یابند. نتایج تغییرات به واسطه حذف در ساختار ژنتیکی ژنوم میتوکندری در دو نژاد *هلشتاین* و *کلیستانی* به واسطه حذف نقطه‌ای در جدول ۳ ارائه شده است. بیشترین تعداد نواحی حذف در گاوهای *هلشتاین* و *کلیستانی* مربوط به ژن *ND4* به ترتیب با ۷۴ و ۶۶ نقطه و کمترین نواحی حذف مربوط به *ND4L* به ترتیب با ۹ و ۴ ناحیه حذف بودند. در جایگاه *ND4* در ۷۴ ناحیه حذف ۸۶ باز و در نژاد *کلیستانی* در ۶۶ ناحیه ۶۹ باز نسبت به ژنوم مرجع تغییرات به واسطه حذف داشتند. همچنین، در ناحیه *ND4L* تعداد بازهای حذف شده در دو نژاد *هلشتاین* و *کلیستانی* به ترتیب ۱۰ و ۵ باز بودند. نتایج بیانگر این هست که در دو نژاد *هلشتاین* و *کلیستانی* در تمام جایگاه ژنی، هم تعداد نواحی حذف و هم تعداد بازهای حذف شده در نژاد *هلشتاین* بیشتر از نژاد *کلیستانی* بودند. لذا یکی از دلایل سازگاری بیشتر نژاد *کلیستانی* نسبت به تغییرات شرایط محیطی و حساسیت کمتر به بیماری‌ها و همچنین تفاوت بیان بیشتر در ژن‌های مذکور به واسطه ژنوم بزرگتر باشد.

جدول ۳- نواحی حذف در دو نژاد *هلشتاین* و *کلیستانی* در ژنوم میتوکندری

Table 3. Deletion regions in *Holstein* and *Cholistani* breeds in the mitochondrial genome

ردیف	نام ژن	*هلشتاین*		*کلیستانی*	
		تعداد ناحیه	تعداد حذف	تعداد ناحیه	تعداد حذف
۱	*ND3*	۴۲	۴۸	۲۲	۲۲
۲	*ND4*	۷۴	۸۶	۶۶	۶۹
۳	*ND4L*	۹	۱۰	۴	۵
۴	*ND5*	۵۹	۶۸	۲۰	۲۴
۵	*ND6*	۳۶	۳۹	۱۳	۱۳

نواحی اتصال یا جانک در ژنوم میتوکندری

نتایج نواحی اتصال در ژن‌های میتوکندری در دو نژاد *هلشتاین* و *کلیستانی* در جدول ۴ ارائه شده است. ژن‌های *ND4* و *ND4L* هیچ ناحیه اتصال نداشتند، اما ژن‌های *ND5* و *ND6* در دو نژاد *هلشتاین* و *کلیستانی* به ترتیب با ۱ و ۲ ناحیه اتصال موجب افزایش ژنوم به ترتیب با طول ۱۱ و ۲۲ جفت باز شدند. بنابراین، همان‌طور که ملاحظه می‌شود، نژاد *کلیستانی* علی‌رغم این که تعداد ناحیه حذف کمتری داشت، همچنین با افزایش طول ژنوم با اتصال در سه تا از ژن‌های مورد مطالعه شامل *ND5*، *ND6* و *ND3* به ترتیب با طول ۲۲، ۲۲ و ۱۱ جفت باز همراه بود.

جدول ۴- تعیین نواحی اتصال یا جانک در mtDNA نژادهای *هلشتاین* و *کلیستانی*

Table 4. Determination of junk regions in mtDNA in *Holstein* and *Cholistani* breeds

ردیف	نام ژن	*هلشتاین*		*کلیستانی*	
		تعداد ناحیه	تعداد اتصال	تعداد ناحیه	تعداد اتصال
۱	*ND3*	–	–	۱	۱۱
۲	*ND4*	–	–	–	–
۳	*ND4L*	–	–	–	–
۴	*ND5*	۱	۱۱	۲	۲۲
۵	*ND6*	۱	۱۱	۲	۲۲

مهم‌ترین ویژگی توالی‌یابی نسل جدید *RNA-seq* این است که هر باز از کتابخانهcDNA چندین بار توالی‌یابی می‌شود. تعداد دفعاتی که یک موقعیت در آزمایش توالی‌یابی می‌شود (به عبارت دیگر تعداد خوانش‌هایی که شامل این موقعیت هستند) کاوریج (عمق توالی‌یابی) نامیده می‌شوند. وجود چندین خوانش در یک موقعیت یکسان برای حذف خطاهای توالی‌یابی و مهم‌تر از آن برای تشخیص هتروزیگوسیتی لازم است. از دیدگاه اقتصادی مطلوب است که سطح پوشش مناطق توالی‌یابی شده پیوسته باشد و گسستگی (وجود نواحی با کاوریج بسیار بالا یا بسیار پایین) در آن نباشد. نتایج سطح پوشش ترانسکریپتومی در دو نژاد *هلشتاین* و *کلیستانی* در جدول ۵ و تصاویر نواحی کاوریج در شکل ۱ ارائه شده است.

جدول ۵- نتایج پوشش ژنومی یا کاوریج در بین ژن‌های میتوکندری در دو نژاد *هلشتاین* و *کلیستانی*

Table 5. Results of coverage transcriptome among mitochondrial genes in *Holstein* and *Cholistani* breeds

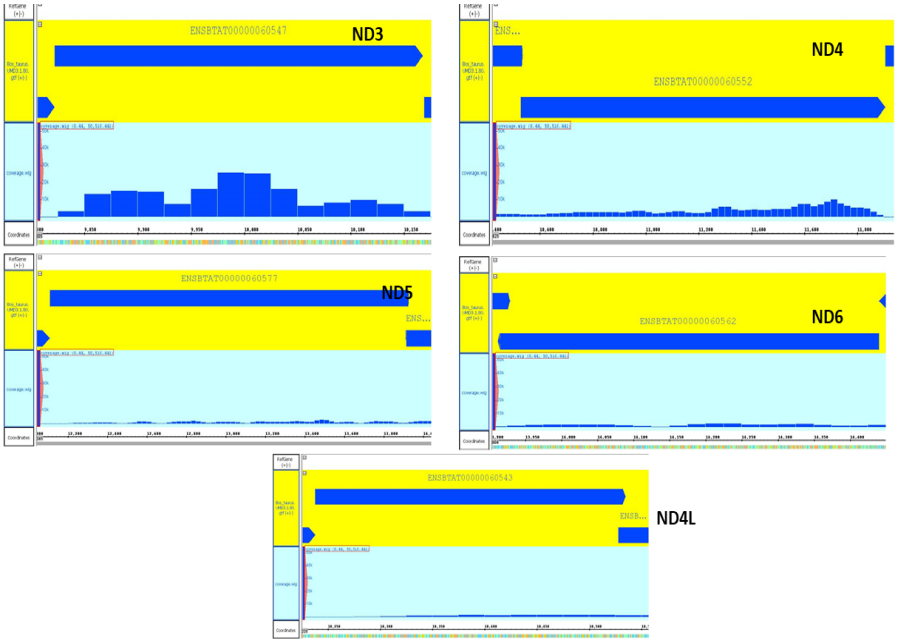
ردیف	نام ژن	نقطه شروع	نقطه پایان	طول	فراوانی
۱	*ND3*	۹۸۲۲	۱۰۱۶۸	۳۴۶	+
۲	*ND4*	۱۰۵۲۸	۱۱۹۰۶	۱۳۷۸	+
۳	*ND5*	۱۲۱۰۸	۱۳۹۲۶	۱۸۱۸	+
۴	*ND6*	۱۴۴۴۰	۱۳۹۱۵	۵۲۵	-
۵	*ND4L*	۱۰۲۳۸	۱۰۵۳۲	۲۹۴	+

نتایج پوشش ترانسکریپتومی در پنج جایگاه ژن میتوکندری در دو نژاد *هلشتاین* و *کلیستانی* در شکل ۱ ارائه شده است. بیشترین سطح پوشش در ژن *ND3* در نواحی نوکلئوتیدی T به شماره توالی ۹۹۷۵ الی نوکلئوتید A به شماره ۹۹۹۹ قرار داشت. بیشترین پوشش ترانسکریپتومی در جایگاه ژنی *ND4* در دو نژاد *هلشتاین* و *کلیستانی* در نواحی

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1400.12.34.20.7]
[DOI: 10.52547/rap.12.34.172]

نوکلئوتیدی T به شماره توالی ۱۱۷۰۰ الی نوکلئوتید T به شماره ۱۱۷۲۴ و در انتهای ژن بود و نواحی ابتدایی ژن سطح پوشش کمتر از ۱۰k داشت، اما همچنان پیوستگی در سرتاسر ژن برقرار هست. بیشترین سطح پوشش در ژن *ND6* در نواحی نوکلئوتیدی A به شماره توالی ۱۴۲۰۰ الی نوکلئوتید A به شماره ۱۴۲۴۹ قرار داشت. در جایگاه مذکور علی‌رغم سطح پوشش بسیار پایین، اما در سرتاسر ژن گسترده شده است.

همچنین، بیشترین سطح پوشش در ژن *ND5* در نواحی نوکلئوتیدی C به شماره توالی ۱۳۴۷۵ الی نوکلئوتید A به شماره ۱۳۴۹۹ قرار داشت و در نهایت نتایج پوشش ترانسکریپتومی در جایگاه ژنی *ND4L* در دو نژاد *هلشتاین* و *کلیستانی* بیانگر بیشترین سطح پوشش در نواحی نوکلئوتیدی A به شماره توالی ۱۰۳۷۵ الی نوکلئوتید T به شماره ۱۰۵۲۴ بودند.



شکل ۱- نتایج پوشش کاوریج در پنج جایگاه ژن میتوکندری در دو نژاد *هلشتاین* و *کلیستانی*
Figure 1. Results of coverage transcriptome at the five mtDNA gene locus in *Holstein* and *Cholistani* breeds

نتایج پوشش ترانسکریپتومی بیانگر این است که دو ژن *ND3* و *ND4* دارای بالاترین سطح پوشش ترانسکریپتومی بودند، اما سایر جایگاه‌های ژنی سطح پوشش و عمق توالی‌یابی پایین بود.

تغییر در هر جفت باز، چندشکلی یا نواحی چندشکل (SNP) اطلاق می‌شود. تغییر در بازها ممکن است هم‌شکل باشند، یعنی یک باز از گروه پیریمیدین به باز دیگر از همین گروه تبدیل شده و همچنین باز از گروه پورین به باز دیگری از همین گروه تبدیل شود، به این نوع تغییرات جهش‌های انتقالی یا جایگزینی انتقالی و تبدیل باز از یک گروه با بازی از گروه دیگر را جهش یا جایگزینی تقاطعی می‌گویند. نسبت جایگزینی انتقالی به تقاطعی به عنوان شاخصی در تکامل استفاده می‌شود (۲۷).

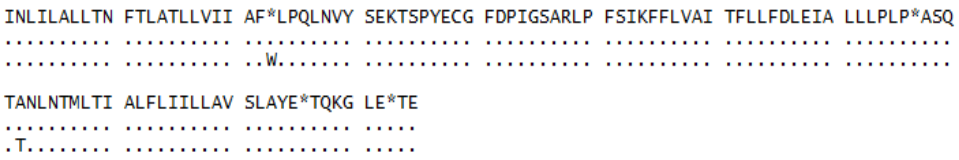
جایگزینی در توالی نوکلئوتیدی و آمینواسیدی جایگاه ژن *ND3*

مقایسه توالی نوکلئوتیدی جایگاه ژنی *ND3* با طول ۳۴۶ جفت باز در دو نژاد *هلشتاین* و *کلیستانی* شامل ۸ ناحیه چندشکل و بر اساس توالی آمینواسیدی مشتمل بر یک ناحیه چندشکلی بود که در جایگاه مذکور آمینواسید آلانین با ترئونین جایگزین شده است (شکل‌های ۲ و ۳).

```
ATAAATTTAA TACTAGCCCT CCTGACCAAT TTTACACTAG CCACCCTACT CGTCATCATC GCATTCTGAC TTCCCCAACT
.......... .......... .......... .......... .......... .......... .........G .......... 
.......... .......... .......... .......... .......... .......... .........G .......... 
AAATGTATAC TCTGAGAAAA CAAGCCCATA CGAATGTGGA TTTGACCCCA TAGGATCAGC CCGCCTTCCC TTCTCTATAA
.......... .......... .......C.. .......... .......... .......... .......... .....C.... 
AATTCTTTCT GGTAGCCATC ACATTCCTCT TATTTGACCT AGAAATTGCA CTCCTCCTAC CACTGCCATG AGCCTCACAA
.......... .......... .......... .......... .......... ......T... .......... .......... 
ACAGCAAATC TAAACACAAT GCTTACCATA GCCCTCTTCC TAATTATCCT CCTAGCTGTA AGCCTAGCCT ATGAGTGAAC
...A....C. .......... .......... .......... .......... .......... .......... ....A..... 
TCAAAAAGGA CTAGAATGAA CCGAAT
.......... .......... ......
.......... T......... ......
```

شکل ۲- نواحی چندشکل بر اساس توالی‌های نوکلئوتیدی در جایگاه ژنی *ND3* در مقایسه دو نژاد *هلشتاین* و *کلیستانی*
Figure 2. Polymorphic regions based on nucleotide sequences at the *ND3* gene locus in comparison between *Holstein* and *Cholistani* breeds

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1400.12.34.20.7]
[DOI: 10.52547/rap.12.34.172]



شکل ۳- نواحی چندشکل بر اساس توالی‌های آمینواسیدی در جایگاه ژنی *ND3* در مقایسه دو نژاد *هلشتاین* و *کلیستانی*
Figure 3. Polymorphic regions based on amino acid sequences at the ND3 gene locus in comparison between Holstein and Cholistani breeds

الگوی جایگزینی بازها در جایگاه ژنی *ND3* با طول ۳۴۶ جفت باز در دو نژاد *کلیستانی* و *هلشتاین* در جدول ۶ ارائه شده است. نسبت بازهای آدنین، تیمین، سیتوزین و گوانین در جایگاه مذکور به‌ترتیب برابر با ۳۰/۳۵، ۲۷/۱۷، ۳۰/۱۵ و ۱۲/۳۳ درصد بودند.

جدول ۶- درصد جایگزینی انتقالی و تقاطعی در توالی نوکلئوتیدی جایگاه ژن *ND3* در دو نژاد *هلشتاین* و *کلیستانی*
Table 6. Percentage of transitional and transversional substitution in the nucleotide sequence of *ND3* gene locus in *Holstein* and *Cholistani*

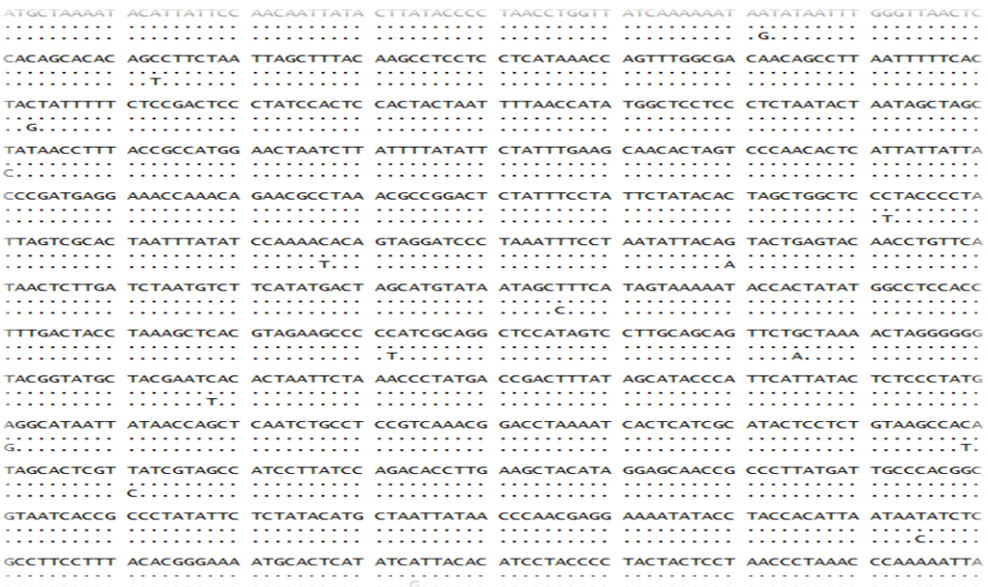
باز	A	T/U	C	G
A	-	۱/۵۵	۱/۷۲	**۱۴/۱۳**
T/U	۱/۷۳	-	**۲۰/۸۹**	۰/۷۰
C	۱/۷۳	**۱۸/۸۲**	-	۰/۷۰
G	**۳۴/۷۸**	۱/۵۵	۱/۷۲	-

*: نسبت جایگزینی از یک ردیف به ستون می‌باشد. اعداد خارج قطر(ایتالیک) جهش تقاطعی و اعداد روی قطر (**پر رنگ**) جانشینی انتقالی را نشان می‌دهند.

نتایج حاصل از درصد جایگزینی توالی‌های نوکلئوتیدی ژن *ND3* نشان داد که مقدار بالای جایگزینی انتقالی مربوط به بازهای پورینی به میزان ۴۸/۹۱ درصد بود. بدین صورت که در بازهای پورینی تبدیل آدنین به گوانین ۱۴/۱۳ درصد و گوانین به آدنین ۳۴/۷۸ درصد بودند و مجموع جایگزینی انتقالی بازهای پریمیدینی ۳۹/۷۱ درصد بود. در جایگزینی انتقالی بازهای پریمیدینی میزان تبدیل تیمین به سیتوزین ۲۰/۸۹ درصد و سیتوزین به تیمین ۱۸/۸۲ درصد بودند. همچنین میزان جایگزینی تقاطعی بازهای پورینی به پریمیدینی ۳/۲۷ درصد و پریمیدینی به پورینی ۲/۴۳ درصد محاسبه شد. نسبت جایگزینی انتقالی به تقاطعی برابر با ۷/۷۸ محاسبه شد.

جایگزینی در توالی نوکلئوتیدی و آمینواسیدی جایگاه ژن *ND4*

نتایج مقایسه توالی‌های نوکلئوتیدی جایگاه ژنی *ND4* با طول ۱۳۷۸ جفت باز در دو نژاد *هلشتاین* و *کلیستانی* بیانگر ۱۶ ناحیه چندشکلی و بر اساس توالی آمینواسیدی دو ناحیه چندشکلی را نشان داد (شکل‌های ۴ و ۵).



شکل ۴- نواحی چندشکل بر اساس توالی‌های نوکلئوتیدی در جایگاه ژنی *ND4* در مقایسه دو نژاد *هلشتاین* و *کلیستانی*
Figure 4. Polymorphic regions based on nucleotide sequences at the *ND4* gene locus in comparison between *Holstein* and *Cholistani* breeds

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1400.12.34.20.7]
[DOI: 10.52547/rap.12.34.172]

```
MLKYIIPTII LIPLTWLSKN NIIWVNSTAH SLLISFTSLL LINQFGDNSL NFSLLFFSDS LSTPLLILTI WLLPLILIAS
.......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... ..........
.......... .......... S......... .......... .......... ....V..... .......... ..........

YGMLRITLIL NPMTDFIAYP FIILSL*GII ITSSICLRQT DLKSLIAYSS VSHIALVIVA ILIQTP*SYI GATALMIAHG
.......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... ..........
.......... .......... ......W... .......... .......... .......... .......... ..........
```

شکل ۵- نواحی چندشکل بر اساس توالی‌های آمینواسیدی در جایگاه ژنی *ND4* در مقایسه دو نژاد *هلشتاین* و *کلیستانی*
Figure 5. Polymorphic regions based on amino acid sequences at the *ND4* gene locus in comparison between *Holstein* and *Cholistani* breeds

جایگزینی آمینواسیدی در جایگاه مذکور شامل تبدیل لوسین به والین و آسپارژین به سرین بودند. الگوی جایگزینی بازها در جایگاه ژنی *ND4* با طول ۱۳۷۸ جفت باز در دو نژاد *هلشتاین* و *کلیستانی* در جدول ۷ ارائه شده است. نسبت بازهای آدنین، تیمین، سیتوزین و گوانین در جایگاه مذکور به ترتیب برابر با ۳۲/۲۰، ۲۸/۶۴، ۲۸/۰۸ و ۱۱/۰۸ درصد بودند.

جدول ۷- درصد جایگزینی انتقالی و تقاطعی در توالی نوکلئوتیدی جایگاه ژن *ND4* در دو نژاد *هلشتاین* و *کلیستانی*
Table 7. Percentage of transitional and transversional substitution in the nucleotide sequence of *ND4* gene locus in *Holstein* and *Cholistani*

باز	A	T/U	C	G
A	-	۰/۸۳	۰/۸۱	**۱۱/۱۴**
T/U	۰/۹۳	-	**۲۵/۱۰**	۰/۳۲
C	۰/۹۳	**۲۵/۶۰**	-	۰/۳۲
G	**۳۲/۳۸**	۰/۸۳	۰/۸۱	-

*: نسبت جایگزینی از یک ردیف به ستون می‌باشد. اعداد خارج قطر(ایتالیک) جهش تقاطعی و اعداد روی قطر (**پر رنگ**) جانشینی انتقالی را نشان می‌دهند.

نتایج حاصل از درصد جایگزینی در توالی‌های نوکلئوتیدی ژن *ND4* نشان داد که مقدار بالای جانشینی انتقالی مربوط به بازهای پریمیدینی به میزان ۵۰/۷ درصد بود. بدین صورت که در بازهای پریمیدینی تبدیل سیتوزین به تیمین ۲۵/۶۰ درصد و تیمین به سیتوزین ۲۵/۱۰ درصد بودند. مجموع جایگزینی انتقالی بازهای پورینی ۴۳/۵۲ درصد بود و برای بازهای پورینی میزان تبدیل آدنین به گوانین ۱۱/۱۴ درصد و گوانین به آدنین ۳۲/۳۸ درصد بودند. همچنین میزان جایگزینی تقاطعی بازهای پورینی به پریمیدینی ۱/۶۴ درصد و پریمیدینی به پورینی ۱/۲۵ درصد بودند. نسبت جایگزینی انتقالی به تقاطعی برابر با ۱۷/۲۵ بود.

جایگزینی در توالی نوکلئوتیدی و آمینواسیدی جایگاه ژن *ND4L*

مقایسه توالی نوکلئوتیدی جایگاه ژنی *ND4L* با طول ۲۹۴ جفت باز در دو نژاد *هلشتاین* و *کلیستانی* ۴ ناحیه چندشکلی و بر اساس توالی آمینواسیدی یک ناحیه چندشکلی بود (شکل‌های۶ و ۷).

```
#B_taurus_Jun_2014_:_chrM                                ATGTCTATAG TATACATAAA CATTATAATA GCATTCACAG TATCTCTTGT AGGACTACTA ATATACCGAT CCCACCTAAT
#NC_006853.1:10239-10535_Bos_taurus_mitochondrion_complete_genome    .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... ..........
#NC_005971.1:10242-10538_Bos_indicus_mitochondrion_complete_genome    .......... .......... .........G .......... .......... .......... .......... ..........

#B_taurus_Jun_2014_:_chrM                                ATCCTCCCTT CTATGCTTAG AAGGAATAAT GCTATCCCTA TTCGTTATAG CAGCCCTAAC AATCCTCAAC TCACATTTTA
#NC_006853.1:10239-10535_Bos_taurus_mitochondrion_complete_genome    .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... ..........
#NC_005971.1:10242-10538_Bos_indicus_mitochondrion_complete_genome    ...T...... ..G..... .......... .......... .......... .......... .......... ..........

#B_taurus_Jun_2014_:_chrM                                CATTAGCTAG CATAATACCT ATTATCCTAC TAGTCTTCGC AGCCTGTGAA GCAGCCCTAG GTCTATCTCT ACTAGTAATA
#NC_006853.1:10239-10535_Bos_taurus_mitochondrion_complete_genome    .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... ..........
#NC_005971.1:10242-10538_Bos_indicus_mitochondrion_complete_genome    .......... .......... .......... .......... ......C... .......... .......... ..........

#B_taurus_Jun_2014_:_chrM                                GTATCAAATA CATATGGTAC TGATTATGTA CAAAACCTCA ACTTACTCCA ATGC
#NC_006853.1:10239-10535_Bos_taurus_mitochondrion_complete_genome    .......... .......... .......... .......... .......... ....
#NC_005971.1:10242-10538_Bos_indicus_mitochondrion_complete_genome    .......... .......... .......... .......... .......... ....
```

شکل ۶- نواحی چندشکل بر اساس توالی‌های نوکلئوتیدی در جایگاه ژنی *ND4L* در مقایسه دو نژاد *هلشتاین* و *کلیستانی*
Figure 6. Polymorphic regions based on nucleotide sequences at the *ND4L* gene locus in comparison between *Holstein* and *Cholistani* breeds

```
#B_taurus_Jun_2014_:_chrM                                MSIVYINIII AFTVSLVGLL IYRSHLISSL LCLEGIMLSL FVIAALTILN SHFTLASIIP IILLVFAACE AALGLSLLVI
#NC_006853.1:10239-10535_Bos_taurus_mitochondrion_complete_genome    .......... .......... .......... .......... .......... .......... .......... ..........
#NC_005971.1:10242-10538_Bos_indicus_mitochondrion_complete_genome    .........M .......... .......... .......... .......... .......... .......... ..........

#B_taurus_Jun_2014_:_chrM                                VSNTYGTDYV QNLNLLQC
#NC_006853.1:10239-10535_Bos_taurus_mitochondrion_complete_genome    .......... ........
#NC_005971.1:10242-10538_Bos_indicus_mitochondrion_complete_genome    .......... ........
```

شکل ۷- نواحی چندشکل بر اساس توالی‌های آمینواسیدی در جایگاه ژنی *ND4L* در مقایسه دو نژاد *هلشتاین* و *کلیستانی*
Figure 7. Polymorphic regions based on amino acid sequences at the *ND4L* gene locus in comparison between *Holstein* and *Cholistani* breeds

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1400.12.34.20.7]
[DOI: 10.52547/rap.12.34.172]

جایگزینی آمینواسیدی در جایگاه ژنی *ND4L* شامل تبدیل ایزولوسین به میتوین بود. الگوی جایگزینی بازها در جایگاه ژنی *ND4L* با طول ۲۹۴ جفت باز در دو نژاد *هلشتاین* و *کلیستانی* در جدول ۸ ارائه شده است. نسبت بازهای آدنین، تیمین، سیتوزین و گوانین در جایگاه مذکور به ترتیب ۳۱/۷۵، ۳۱/۶۳، ۲۴/۸۳ و ۱۱/۷۹ درصد بودند.

جدول ۸- درصد جایگزینی انتقالی و تقاطعی در توالی نوکلئوتیدی جایگاه ژن *ND4L* در دو نژاد *هلشتاین* و *کلیستانی*

Table 8. Percentage of transitional and transversional substitution in the nucleotide sequence of *ND4L* gene locus in *Holstein* and *Cholistani*

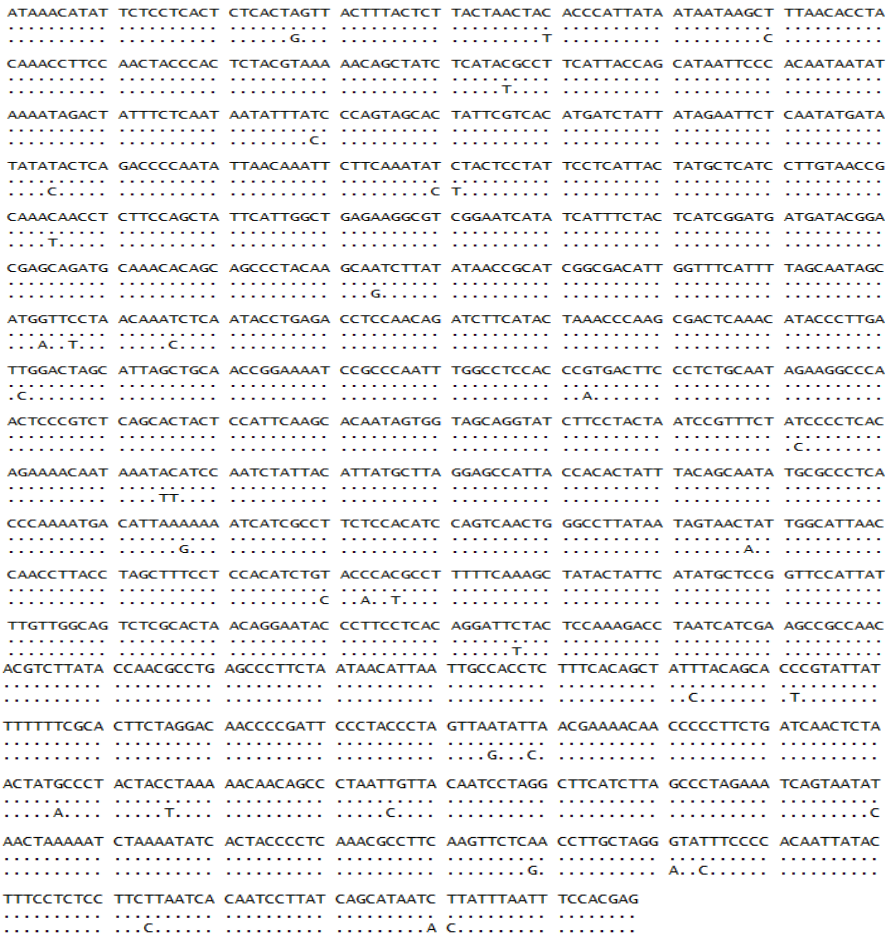
باز	A	T/U	C	G
A	-	۰/۰۱	۰/۰۱	**۱۶/۷۶**
T/U	۰/۰۱	-	**۱۶/۷۶**	۰/۰۰
C	۰/۰۱	**۲۱/۳۵**	-	۰/۰۰
G	**۴۵/۰۹**	۰/۰۱	۰/۰۱	-

*: نسبت جایگزینی از یک ردیف به ستون می‌باشد. اعداد خارج قطر (*ایتالیک*) جهش تقاطعی و اعداد روی قطر (**پر رنگ**) جانشینی انتقالی را نشان می‌دهند.

نتایج حاصل از درصد جایگزینی در توالی‌های نوکلئوتیدی ژن *ND4L* نشان داد که مقدار بالای جایگزینی انتقالی مربوط به بازهای پورینی به میزان ۶۱/۸۵ درصد بود. بدین صورت که در بازهای پورینی تبدیل آدنین به گوانین ۱۶/۷۶ درصد و گوانین به آدنین ۴۵/۰۹ درصد بودند و مجموع جایگزینی انتقالی در بازهای پریمیدینی ۳۸/۱۱ درصد بود. در بازهای پریمیدینی میزان تبدیل تیمین به سیتوزین ۱۶/۷۶ درصد و سیتوزین به تیمین ۲۱/۳۵ درصد بودند. همچنین میزان جایگزینی تقاطعی بازهای پورینی به پریمیدینی ۰/۰۲ درصد و پریمیدینی به پورینی ۰/۰۱ درصد بودند. نسبت جایگزینی انتقالی به تقاطعی ۲۴۹۹ محاسبه شد.

جایگزینی در توالی نوکلئوتیدی و آمینواسیدی جایگاه ژن *ND5*

مقایسه توالی نوکلئوتیدی جایگاه ژنی *ND5* با ۱۸۱۸ جفت باز در دو نژاد *هلشتاین* و *کلیستانی* مشتمل بر ۳۸ ناحیه چندشکلی و بر اساس توالی آمینواسیدی ۹ ناحیه چندشکلی را نشان داد (شکل‌های ۸ و ۹).



شکل ۸- نواحی چندشکل بر اساس توالی‌های نوکلئوتیدی در جایگاه ژنی *ND5* در مقایسه دو نژاد *هلشتاین* و *کلیستانی*

Figure 8. Polymorphic regions based on nucleotide sequences at the *ND5* gene locus in comparison between *Holstein* and *Cholistani* breeds

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1400.12.34.20.7]
[DOI: 10.52547/rap.12.34.172]



شکل ۹- نواحی چندشکل بر اساس توالی‌های آمینواسیدی در جایگاه ژنی *ND5* در مقایسه دو نژاد *هلشتاین* و *کلیستانی*

Figure 9. Polymorphic regions based on amino acid sequences at the *ND5* gene locus in comparison between *Holstein* and *Cholistani* breeds

الگوی جایگزینی بازها در جایگاه ژنی *ND5* با طول ۱۸۱۸ جفت باز در دو نژاد *هلشتاین* و *کلیستانی* در جدول ۹ ارائه شده است. نسبت بازهای آدنین، تیمین، سیتوزین و گوانین در جایگاه مذکور به ترتیب برابر با ۳۲/۶۴، ۲۷/۴۷، ۲۹/۳۷ و ۱۰/۵۲ درصد بودند.

جدول ۹- درصد جایگزینی انتقالی و تقاطعی در توالی نوکلئوتیدی جایگاه ژن *ND5* در دو نژاد *هلشتاین* و *کلیستانی*

Table 9. Percentage of transitional and transversional substitution in the nucleotide sequence of *ND5* gene locus in *Holstein* and *Cholistani*

باز	A	T/U	C	G
A	-	۱/۳۷	۱/۴۶	**۸/۵۳**
T/U	۱/۶۲	-	**۲۸/۴۵**	۰/۵۲
C	۱/۶۲	**۲۶/۶۱**	-	۰/۵۲
G	**۲۶/۴۶**	۱/۳۷	۱/۴۶	-

*: نسبت جایگزینی از یک ردیف به ستون می‌باشد. اعداد خارج قطر(ایتالیک) جهش تقاطعی و اعداد روی قطر (**پر رنگ**) جانشینی انتقالی را نشان می‌دهند

نتایج حاصل از درصد جایگزینی در توالی‌های نوکلئوتیدی ژن *ND5* نشان داد که مقدار بالای جایگزینی انتقالی مربوط به بازهای پریمیدینی به میزان ۵۵/۰۶ درصد بود. بدین صورت که در بازهای پریمیدینی تبدیل سیتوزین به تیمین ۲۶/۶۱ درصد و تیمین به سیتوزین ۲۸/۴۵ درصد بودند. مجموع جانشینی انتقالی در بازهای پورینی ۳۴/۹۹ درصد بود که تبدیل آدنین به گوانین ۸/۵۳ درصد و گوانین به آدنین ۲۶/۴۶ درصد را شامل می‌شد. همچنین میزان جایگزینی تقاطعی بازهای پورینی به پریمیدینی ۲/۸۳ درصد و پریمیدینی به پورینی ۲/۱۴ درصد بودند. نسبت جایگزینی انتقالی به تقاطعی ۴/۴۵ بود.

جایگزینی در توالی نوکلئوتیدی و آمینواسیدی جایگاه ژن *ND6*

مقایسه توالی‌های نوکلئوتیدی جایگاه ژنی *ND6* با طول ۵۱۹ جفت باز در دو نژاد *هلشتاین* و *کلیستانی* مشتمل بر ۹ ناحیه چندشکلی و بر اساس توالی آمینواسیدی ۳ ناحیه چندشکلی بود (شکل‌های ۱۰ و ۱۱)



شکل ۱۰- نواحی چندشکل بر اساس توالی‌های نوکلئوتیدی در جایگاه ژنی *ND6* در مقایسه دو نژاد *هلشتاین* و *کلیستانی*

Figure 10. Polymorphic regions based on nucleotide sequences at the *ND6* gene locus in comparison between *Holstein* and *Cholistani* breeds

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-11-10]

[DOR: 20.1001.1.22518622.1400.12.34.20.7]

[DOI: 10.52547/rap.12.34.172]



شکل ۱۱- نواحی چندشکل بر اساس توالی‌های آمینواسیدی در جایگاه ژنی *ND6* در مقایسه دو نژاد *هلشتاین* و *کلیستانی*
Figure 11. Polymorphic regions based on amino acid sequences at the *ND6* gene locus in comparison between *Holstein* and *Cholistani* breeds

جایگزینی آمینواسیدی شامل تبدیل ترئونین به آلانین، ترئونین به والین و ایزولوسین به والین بودند. الگوی جایگزینی بازها در توالی نوکلئوتیدی جایگاه ژنی *ND6* با طول ۵۲۵ جفت باز دو نژاد *هلشتاین* و *کلیستانی* در جدول ۱۰ ارائه شده است. نسبت بازهای آدنین، تیمین، سیتوزین و گوانین در جایگاه مذکور به ترتیب برابر با ۲۱/۷۸، ۴۱/۲۷، ۸/۴۴ و ۲۸/۵۱ درصد بودند.

جدول ۱۰- درصد جایگزینی انتقالی و تقاطعی در توالی نوکلئوتیدی جایگاه ژن *ND6* در دو نژاد *هلشتاین* و *کلیستانی*
Table 10. Percentage of transitional and transversional substitution in the nucleotide sequence of *ND6* gene locus in *Holstein* and *Cholistani*

باز	A	T/U	C	G
A	-	۰/۰۱	۰/۰۰	**۱۷/۳۶**
T/U	۰/۰۰	-	**۱۱/۷۸**	۰/۰۰
C	۰/۰۰	**۵۷/۵۶**	-	۰/۰۰
G	**۱۳/۲۶**	۰/۰۱	۰/۰۰	-

*: نسبت جایگزینی از یک ردیف به ستون می‌باشد. اعداد خارج قطر(*ایتالیک*) جهش تقاطعی و اعداد روی قطر (**پر رنگ**) جانشینی انتقالی را نشان می‌دهند.

نتایج حاصل از درصد جایگزینی در توالی‌های نوکلئوتیدی ژن *ND6* نشان داد که مقدار بالای جانشینی انتقالی مربوط به بازهای پریمیدینی به میزان ۶۹/۳۴ درصد بود. بدین صورت که در بازهای پریمیدینی تبدیل سیتوزین به تیمین ۵۷/۵۶ درصد و تیمین به سیتوزین ۱۱/۷۸ درصد بودند. مجموع جانشینی انتقالی در بازهای پورینی ۳۰/۶۲ درصد محاسبه شد که میزان تبدیل آدنین به گوانین ۱۷/۳۶ درصد و گوانین به آدنین ۱۳/۲۶ درصد بودند. همچنین میزان جایگزینی تقاطعی بازهای پورینی به پریمیدینی ۰/۰۱ درصد و پریمیدینی به پورینی صفر درصد بودند. نسبت جایگزینی انتقالی به تقاطعی ۲۴۹۹ بود.

نتیجه‌گیری کلی

بیشترین ناحیه و طول حذف در تمام ژن های میتوکندری در ژنوم *هلشتاین* و بیشترین طول و ناحیه اتصال مربوط به ژنوم *کلیستانی* بودند. نتایج بیانگر این بود که ژن‌های *ND3* و *ND4* به ترتیب با طول ۳۴۶ و ۱۳۷۸جفت باز، بیشترین سطح پوشش ترانسکریپتومی در ژنوم میتوکندری را در بین دو نژاد *هلشتاین* و *کلیستانی* دارا بودند و کمترین سطح پوشش ترانسکریپتومی مربوط به ژن *ND6* با طول ۵۲۵ جفت باز بود. در بین ژن‌های میتوکندری، ژن *ND5* با ۳۸ ناحیه چندشکلی نوکلئوتیدی و ۹ تغییر آمینواسیدی در زنجیره پروتئینی بیشترین و جایگاه ژنی *ND6*L با ۹ جایگاه چندشکلی و سه تغییر آمینواسیدی کمترین نواحی چندشکلی را نشان دادند که این امر نشان‌دهنده این می‌باشد که شرایط محیطی و تغییرات تکاملی تا چه حدی بر میزان تغییرات و اختلافات ژنوم زیرگونه‌های مورد مطالعه مؤثر بوده و به طور کل مسیر بیوشیمیایی ژنوم را تا چه حد تحت تأثیر قرار داده است. همچنین، تفاوت‌های قابل توجهی در نسبت جایگزینی انتقالی و تقاطعی در جایگاه‌های مورد مطالعه مشاهده شد که بیشتر تغییرات مربوط به جانشینی انتقالی بودند و درصد جانشینی تقاطعی خیلی کم بود و این مسئله بیانگر پایداری تغییرات در ژنوم هست. نسبت تغییرات جایگزینی انتقالی به تقاطعی نیز در ژن *ND5* کمترین و در ژن *ND6* و *ND4L* بیشترین بود. بنابراین، دلیل ساختاری تفاوت بیان در بین جایگاه‌های ژنی میتوکندری می‌تواند عواملی مانند حذف و اضافه ژنوم، میزان نواحی چندشکلی و درصد پوشش ترانسکریپتومی باشند.

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1400.12.34.20.7]
[DOI: 10.52547/rap.12.34.172]

منابع

1. Banabazi, M.H., M. Ghaderi-Zefrehei, I. Imumorin and S. Peters. 2013. Whole transcriptome value index (WTVI): A methodology for integrating functional sequences from RNA-Seq data into animal selection. 21st International Conference on Plant and Animal Genome, 12-16 pp, San Diego, United States.
2. Bao, H., C. Zhao, L. Zhang, J. Li and C. Wu. 2008. Single-nucleotide polymorphisms of mitochondrially coded subunit genes of cytochrome c oxidase in five chicken breeds: Full-Length Research Paper. DNA Sequence, 19(5): 461-464.
3. Barazandeh, A., M.R. Mohammadabadi, M. Ghaderi-Zefrehei, F. Rafeied and I.G. Imumorin. 2019. Whole genome comparative analysis of CpG islands in camelid and other mammalian genomes. Mammalian Biology, 98: 73-79.
4. Bradley, D.G., D.E. MacHugh, P. Cunningham and R.T. Loftus. 1996. Mitochondrial diversity and the origins of African and European cattle. Proc. Natl Acad. Science, 93: 5131-5135.
5. Cai, X., H. Chen, C. Lei, S. Wang, K. Xue and B. Zhang. 2007. mtDNA diversity and genetic lineages of eighteen cattle breeds from Bos taurus and Bos indicus in China. Genetica, 131(2): 175-183.
6. Chen, Y.F., C.H. Kao, Y.T. Chen, C.H. Wang, C.Y. Wu, C.Y. Tsai, F.C. Liu, C.W. Yang, Y.H.Wei, M.T. Hsu, S.F. Tsai and T.F.Tsai. 2009. Cisd2 deficiency drives premature aging and causes mitochondria-mediated defects in mice. Genes & Development, 23(10): 1183-1194.
7. Cloonan, N., A.R. Forrest, G. Kolle, B.B.A. Gardiner, G.J. Faulkner, M.K. Brown, D.F. Taylor, A.L. Steptoe, S. Wani, G. Bethel, A.J. Robertson, A.C. Perkins, S.J. Bruce, C.C. Lee, S.S. Ranade, H.E. Peckham, J.M. Manning, K.J. McKernan and S.M. Grimmond. 2008. Stem cell transcriptome profiling via massivescale mRNA sequencing. Nature Methods, 5: 613-619.
8. Cooper, G.M. and R.E. Hausman. 2007. The cell: a molecular approach. 4th edition Washigton, D.C., Sunderland, Mass., ASM Press.
9. Faure, E. and J.P. Casanova. 2006. Comparison of chaetognath mitochondrial genomes and phylogenetical implications. Mitochondrion, 6(5): 258-262.
10. Freese, N.H., D.C. Norris and A.E. Loraine. 2016. Integrated genome browser: Visual analytics platform for genomics. Bioinformatics, 32(14): 2089-2095.
11. Fries, R. and A. Ruvinsky. 1999. The Genetics of Cattle. New York: CABI Publising.
12. Gray, M.W. 2012. Mitochondrial evolution. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology, 4(9): a011403.
13. Hanotte, O. and H. Jianlin. 2005. Genetic characterization of livestock populations and its use in conservation decision-making. Villa Gualino, Turin, Italy–5-7 March, 131-136.
14. Helmer, D., L. Gourichon, H. Monchot, J. Peters and M. Segui. 2005. Identifying early domestic cattle from Pre-Pottery Neolithic sites on the Midddle Euphratesusing sexual dimorphism. In The first steps of animal domestication: new archaeozoological approaches (eds J.-D. Vigne, D. Helmer & J. Peters), 86-95 pp. Oxford, UK: Oxbow Books.
15. Huang, W., A. Nadeem, B. Zhang, M. Babar, M. Soller and H. Khatib. 2012. Characterization and comparison of the leukocyte transcriptomes of three cattle breeds. PLoS One, 7(1): e30244.
16. Kujoth, G.C., P.C. Bradshaw, S. Haroon and T.A. Prolla. 2007. The role of mitochondrial DNA mutations in mammalian aging. PLoS Genetics, 3(2): e24.
17. Lee, D.J. and C.P. Hong. 2019. Transcriptome atlas by long-read RNA sequencing: Contribution to a reference transcriptome, transcriptome analysis, Miroslav Blumenberg, IntechOpen, DOI: 10.5772/intechopen.84920. Available from: https://www.intechopen.com/chapters/65985
18. Lenstra, J.A. and D.G. Bradley. 1999. Systematics and phylogeny of cattle. In: Fries, R., A. Ruvinsky (eds) The Genetics of Cattle, CAB Int: Wallingford, 1-14 pp.
19. Levin, J., X. Adiconis, M. Yassour, D. Thompson, M. Guttman, M. Berger and A. Regev. 2010. Development and evaluation of RNA-Seq methods. Genome Biology, 11(Suppl 1): 1-1.
20. Librado, P. and J. Rozas. 2009. DnaSP v5: software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. Journal of Bioinformatics, 25: 1451-1452.
21. Loftus, R.T., D.E. MacHugh, D.G. Bradley, P.M. Sharp and P. Cunningham. 1994. Evidence for two independent domestications of cattle. Proc. National Academy of Sciences, 91: 2757-2761.
22. Mannen, H., M. Kohno, Y. Nagata, S. Tsuji, D.G. Bradley, J.S. Yeo, D. Nyamsamba, Y. Zagdsuren, M. Yokohama, K. Nomura and T. Amano. 2004. Independent mitochondrial origin and historical genetic differentiation in north eastern Asian cattle. Molecular Phylogenetic Evolution, 32: 539-544.
23. Marguerat, S. and A. Bähler. 2010. RNA-seq: from technology to biology. Cellular and Molecular Life Sciences, 67(4): 569-579.
24. Moradian, H., A.K. Esmailizadeh, M. Asadi and M.R. Mohammadabadi. 2019. Whole genome detection of recent selection signatures in Sarabi cattle: a unique Iranian taurine breed. Genes & Genomics, 96(11): 1-13.
25. Salimpour, M. 2016. Differential gene expression analysis between the *Holstein* and *Cholistani* (a Pakistani breed) population using RNA sequencing (RNA-seq). University of Tehran, IRAN.

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1400.12.34.20.7]
[DOI: 10.52547/rap.12.34.172]

26. Salimpour, M., S.R. Miraei-Ashtiani and M.H. Banabazi. 2019. Differential gene expression of two bovine *Bos Taurus* (*Holstein*) and *Bos Indicus* (*Cholistani*) sub-species using RNA-Seq data. Iranian Journal of Animal Science, 50(1): 47-55 (In Persian).
27. Tamura, K. and M. Nei. 1993. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. Molecular Biology and Evolution, 10: 512-526.
28. Tamura, K., G. Stecher, D. Peterson, A. Filipski and S. Kumar. 2013. MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. Molecular Biology and Evolution, 30(12): 2725-2729.
29. Tang, F., C. Barbacioru, Y. Wang, E. Nordman, C. Lee, N. Xu, X. Wang, J. Bodeau, B.B. Tuch, A.K. SiddiquiLao and and M.A. Surani. 2009. mRNA-Seq whole-transcriptome analysis of a single cell. Nature Methods, 6(5): 377.
30. Troy, C.S., D.E. MacHugh, J.F. Bailey, D.A. Magee, R.T. Loftus, P. Cunningham, A.T. Chamberlain, B.C. Sykes and D. G. Bradley. 2001. Genetic evidence for Near-Eastern origins of European cattle. Nature, 410: 1088-1091.

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1400.12.34.20.7]
[DOI: 10.52547/rap.12.34.172]

Bioinformatics Study of mtDNA Genes in Two Subspecies of *Holstein* (*Bos taurus*) and *Cholistani* (*Bos indicus*) Cattle Using RNA-Seq Data

Ahmad Tamroosi[1], Gholam Reza Dashab[2], Mohammad Hossein Banabazi[3] and Ali Maghsoudi[4]

1- M.Sc. of Animal Breeding and Genetic, Department of Animal Science, College of Agriculture, Uinersity of Zabol, Zabol, Iran
2- Associate Professor of Animal Breeding and Genetic, Department of Animal Science, College of Agriculture, Uinersity of Zabol, Zabol, Iran, (Correspoding Author: dashab@uoz.ac.ir)
3- Assistant Professor, Department of Biotechnology, Animal Science Research Institute of Iran (ASRI), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran
4- Associate Professor of Animal Breeding and Genetic, Department of Animal Science and Bioinformatic, College of Agriculture, Uinersity of Zabol, Zabol, Iran
Received: 6 August, 2021 Accepted: 11 September, 2021

Extended Abstract

Introduction and Objective: The advent of the new generation of transcriptome sequencing has helped to improve the overall accuracy of different gene expression predictions using short *RNA-Seq* sequences. This technology can provide a more comprehensive view of functional genomics in many species with a unique gene sequence. The aim of this study was to investigate the structural reasons for different expression of mitochondrial genes in two subspecies of *Holstein* and *Cholistani* cattle, including *ND3*, *ND4*, *ND4L*, *ND5* and *ND6* genes, which are involved in important processes such as energy metabolism against stress. Biological and non-biological as well as disease resistance are involved.

Material and Methods: In this study, *RNA-Seq* data were used to integrate 40 samples from the University of Wisconsin Dairy Cattle Center (*Bos taurus*) and 45 Christian cows (*Bos indicus*) at the Gujaratpir farm in Bahawalpur, Punjab, Pakistan. IGB, MEGA6 and DnaSPV.5 software were used to investigate the level of transcriptome coverage and genetic differences among the five mitochondrial genes, which included polymorphic regions, deletion and addition regions, binding regions and the percentage of transitional and transversional nucleotide substitutions.

Results: The highest deletion region and length in all studied genes was related to *Holstein* genome and the highest length and binding region was related to *Cholistani* cattle. The highest number of deletions in *Holstein* and *Cleistani* cows were related to *ND4* gene with 74 and 66 points, respectively, and the lowest deletions were related to *ND4L* with 9 and 4 deletion sites, respectively. The *ND4* and *ND4L* genes had no binding regions, but the *ND5* and *ND6* genes in the *Holstein* and *Cleistian* breeds with 1 and 2 binding regions increased the genome by 11 and 22 bp, respectively. The highest level of transcriptome coverage was observed in *ND3* and *ND4* genes and the lowest level was observed in *ND6* gene locus. The number of polymorphic regions in *ND5* locus was more than other genes and equal to 38 polymorphic regions. The results also showed that the percentage of transitional substitution in bases is higher than transversional substitution which can be the reason for the stability of changes during evolution. Therefore, some of the structural reasons for mitochondrial genes that were expressed differently in both *Holstein* and *Cholistani* subspecies could be related to deletion and addition, polymorphic regions, transcriptome coverage level, and type and amount of transitional and intersecting substitutions during the evolution of the two subspecies.

Conclusion: Intense selection for milk production in *Holstein* cows compared to the *Cholistani* breed has led to a reduction in the length of the mitochondrial genome and changes in the nucleotide structure of some mitochondrial genes, resulting in altered gene expression and different responses to different environmental conditions.

Keywords: Addition and deletion, *Cholistani*, Gene Expression, *Holstein*, Transcriptome Coverage

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1400.12.34.20.7]
[DOI: 10.52547/rap.12.34.172]