دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشهای تولیدات دامی

"مقاله پژوهشی"

آنالیز تفاوت ژنتیکی ژن‌های مرتبط با پاسخ ایمنی بین گاوهای نژاد خالص و آمیخته سیستانی و مونت‌بیلیارد با استفاده از داده‌های RNA-Seq

بتول اصغری اسفدن[۱]، غلامرضا داشاب[۲]، محمدحسین بنابازی[۳] و محمد رکوعی[۴]

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

تاریخ ارسال: ۹۹/۰۳/۳۱ تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۷/۱۶
صفحه: ۱۳۴ تا ۱۴۵

چکیده

جهش در طول توالی ژن‌ها سبب بروز تغییرات نوکلئوتیدی و درنتیجه ایجاد عملکرد جدید در ژن‌ها می‌شود. هدف از مطالعه حاضر، ارزیابی تنوع ژنتیکی و تحلیل بیان متفاوت ژن‌های مرتبط با سیستم ایمنی در بین دو جمعیت گاوهای نژاد خالص و آمیخته سیستانی و مونت‌بیلیارد بود. در این مطالعه از نتایج مربوط به آنالیز بیان افتراقی در بین جمعیت گاوهای نژاد خالص و آمیخته سیستانی و مونت‌بیلیارد با استفاده از داده‌های RNA-Seq جهت تجزیه ژنتیکی و ترسیم درخت فیلوژنتیکی استفاده شد. توالی‌های نوکلئوتیدی با روش ClustalW توسط نرم‌افزار MegaAlign هم‌ردیف‌ـ سازی شدند و درخت فیلوژنتیکی و ماتریس تفاوت و تشابه توالی‌ها ترسیم شد. بر اساس نتایج این تحقیق، میانگین اختلاف نوکلئوتیدها و تعداد کل جهش‌ها برای ژن‌های مورد مطالعه در بین جمعیت‌های گاو نژاد خالص و آمیخته سیستانی و مونت‌بیلیارد به‌ترتیب در محدوده‌ی (۲۵۹۸/٦٦-۱۸٦) و (۳۸۹۸-۷٤) قرار داشت. هم‌چنین، نواحی حفاظت شده بخش اندکی از توالی ژن‌های مورد مطالعه را تشکیل دادند که این امر نشان‌دهنده چند شکلی بالای این ژن‌ها و هم‌چنین مستعد بودن به تغییرات نوکلئوتیدی و جهش می‌باشد. نتایج حاصل از درخت فیلوژنی توالی نوکلئوتیدی ژن‌های مورد مطالعه نشان داد که تنوع ژنتیکی و واگرایی برای ژن‌های مورد مطالعه در بین جمعیت‌های گاو نژاد خالص، آمیخته سیستانی و مونت‌بیلیارد و ایندیکوس وجود دارد. میزان عددی نسبت جایگزینی d_N/d_S برای ژن‌های مورد مطالعه نشان‌دهنده انتخاب مثبت این ژن‌ها بود.

واژه‌های کلیدی: تکامل، تنوع ژنتیکی، جهش، فیلوژنتیک، گاو سیستانی

مقدمه

در کشور ایران تنوع شرایط اقلیمی و متعاقب آن انتخاب طبیعی، در طی سالیان متمادی سبب تمایز بیش از یک صد توده دامی و طیور شده است که از نظر ژنتیکی متنوع و از ذخایر ژنتیکی ایران محسوب می‌شوند (۴۴،۲). طبق آخرین آمار رسمی وزارت جهاد کشاورزی، تعداد ۱۸۸۳۰ واحد صنعتی گاوداری با ظرفیت ۲۰۴۸۵۶۳ رأس گاو شیرده در کشور مشغول فعالیت هستند. طی سال‌های ۱۳۸۳ تا ۱۳۸۷ تولید شیر دارای یک روند رو به رشد بوده است (۲۸). باوجود روند افزایشی تولید شیر در کشور، اما هنوز سرانه مصرف شیر از حد استاندارد جهانی پایین‌تر است. سرانه مصرف شیر در کشور برای هر نفر برابر با ۹۵ کیلوگرم می‌باشد، درحالی‌که سرانه مصرف شیر در جهان برابر با ۱۶۹ کیلوگرم و در اروپا برابر با ۳۵۰ کیلوگرم در سال است (۲۸). با توجه به نتایج پژوهش‌های مختلف انجام‌شده روی گاوهای ایران (۴۱،۳۲،۲۷،۱۵،۷،۱۱،۱۲) و آمار و اطلاعات موجود می‌توان دریافت که این دام‌ها باید از جنبه‌های گوناگون مورد مطالعه قرار گیرند. به‌علاوه، گاو سیستانی گاوی کوهان‌دار است که نشان‌دهنده تعلق آن به گونه‌ی باس ایندیکوس یا زبو می‌باشد. از خصوصیات این نژاد، مقاومت بالا به بیماری‌ها، آسان‌زایی، قانع‌بودن و کم‌توقعی به کمیت و کیفیت غذا، قابلیت تطابق‌پذیری به محیط زیست جدید، قدرت شنا و تعلیف در آب‌های دریاچه هامون و مهم‌تر از همه، مقاومت به گرما و تغییرات جوی می‌باشد (۲۴). متأسفانه به‌دلیل خشک‌شدن دریاچه هامون و عدم رشد نی، امکان تغذیه رایگان این دام از بین رفته و تولید با تأمین خوراک کنسانتره برای دامدار مقرون‌به‌صرفه نیست. به‌همین دلیل بخش عمده پرورش‌دهندگان و روستاییان منطقه تمایلی به پرورش نژاد خالص این دام ندارند و گرایش به آمیخته‌گری با اسپرم گاو مونت‌بیلیارد در منطقه وجود داشته است.

گاو نژاد مونت‌بیلیارد از نژادهای فرانسوی است که بیشتر جهت تولید شیر و فرآورده‌های لبنی پرورش داده می‌شود. هرچند این نژاد یک نژاد شیری است، اما برای پرواربندی و تولید گوشت نیز بسیار سودآور است. به‌همین دلیل گاو نژاد مونت‌بیلیارد را نژادی شیری-گوشتی می‌دانند (۴۵).

در حال حاضر جمعیت نژاد سیستانی به کمتر از ده هزار رأس رسیده است که کاهش جمعیت آن یک زنگ خطر در نابودی این نژاد ارزشمند است. لذا شایسته است برای حفظ، گسترش و شناخت پتانسیل‌های آن برنامه‌های کوتاه، میان و درازمدت اجرا نمود و از این ذخیره ارزشمند ژنی برای توسعه و خط‌مشی پژوهشی استفاده نمود.

آمیخته‌گری یک روش متداول برای بهره‌مندی از تفاوت‌های ژنتیکی و قابلیت ترکیب‌پذیری عام و خاص ژن‌ها در نژادهای مختلف به‌منظور افزایش قابلیت‌های موجود با

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-10-30]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1400.12.31.12.3]
[DOI: 10.52547/rap.12.31.134]

ترکیب ساختار ژنوم نژادهای مختلف است (۲۴). اثرات برنامه‌های آمیخته‌گری در گاو بر روی بیان ژن، مسیرهای متابولیکی، مولکولی و عملکردهای بیولوژیکی هنوز مشخص نشده است و تعداد مطالعات اندکی برای دستیابی به این هدف در حال حاضر وجود دارد.

در مطالعه‌ای به منظور تجزیه بیان افتراقی ژن‌ها در گاو سیستانی خالص و آمیخته آن با مونت‌بیلیارد با استفاده از داده‌های *RNA-Seq*، نتایج بیانگر بیان متفاوت ژن‌های *vWF*، *CXCR4*، *CCL5* و *RGS1* در دو جمعیت خالص و آمیخته بود و با آنالیز آنتولوژی مشخص شد که این ژن‌ها دخیل در مسیر پاسخ التهابی توسط سایتوکاین‌ها و شیموکاین‌ها بودند که نقش مهمی را در پاسخ ایمنی در برابر پاتوژن‌ها، بیماری‌ها ازجمله ورم پستان و شرایط نامطلوب ایفا می‌کنند (۵).

سایتوکاین‌ها و شیموکاین‌ها جزء واسطه‌های ایمنی هستند که نقش مهمی در کنترل و تنظیم پاسخ ایمنی ایفا می‌کنند (۳۷،۲۱). سایتوکاین‌ها گروه بزرگی از مولکول‌های پیام‌رسان بوده که ترکیب شیمیایی آن‌ها شامل پروتئین‌ها، پپتیدها و گلیکوپروتئین‌ها می‌باشند. سایتوکاین‌ها در ابتدا توسط سلول‌های سیستم ایمنی به‌منظور شروع تعاملات سلول به سلول جهت تولید یک پاسخ ایمنی آزاد می‌شوند. پاسخ ایمنی به‌صورت هشدار و به‌کارگیری تعداد بیشتری از سلول‌های سفید خون به‌منظور مبارزه با عفونت توسط این پیام‌رسان شیمیایی (سایتوکاین‌ها) انجام می‌گیرد. درواقع، سایتوکاین‌ها در تنظیم عملکرد سیستم ایمنی حیاتی هستند. سایتوکاین‌ها واسطه‌هایی از پاسخ التهابی هستند که بعد از اینکه بافت زنده آسیب دید، تولید می‌شوند. التهاب ناشی از سایتوکاین‌ها یک مکانیزم دفاعی بوده که به حفظ آسیب موضعی کمک می‌کند. شیموکاین‌ها نیز نقش مهمی را در هموستازی، بلوغ لکوسیت‌ها و پاسخ ایمنی و مکانسیم بیماری‌ها دارند (۴،۱).

ژن *CXCR4*[1]، متعلق به گروه گیرنده‌های شیموکاین است (۸). در تعدادی از فرآیندهای رشد از جمله خون‌سازی (هماتوپویزیس)، رگ‌زایی (آنژیوژنز) و ارگانوژنز و هم‌چنین در طیف گسترده‌ای از بیماری‌های ناشی از ویروس نقش دارد (۵۱،۸). اشلی و همکاران (۶)، گزارش کردند که ژن *CXCR4* در تنظیم تشکیل جفت و لانه‌گزینی در گوسفند نقش دارد. ژن *CCL5*[2]، ژن مرتبط با سیستم ایمنی و متعلق به خانواده *cc* شیموکاین است. گیلبرت و همکاران (۱۷)، دریافتند که *CCL5* در سلول‌های اندوتلیال بافت پستان تحریک‌شده با اشرشیاکلای و لیپوپلی ساکارید در گاو در تنظیم بالادستی[3] نقش دارد. ژن *RGS1*[4] فعالیت Gai GTPase را تسریع می‌کند و در فعال‌سازی سیگنال‌های سلول‌های T و B دخیل است (۱۹،۱۶). مطالعات انجام‌شده روی این ژن، نقش *RGS1* را در کنترل هموستاز لنفوسیت‌ها گزارش کرده‌اند (۱۶). ژن *vWF*[5]، پروتئین لازم برای چسبندگی پلاکت و تشکیل ترومبوز می‌باشد که به‌طور خاص در سلول‌های اندوتلیال، در پیش‌سازهای پلاکت (megakaryocytes) و پلاسما سنتز می‌شود (۲۳).

از دلایل تغییر بیان ژن در بین دو نژاد، بروز جهش‌های چند شکلی تک نوکلئوتیدی موجود در جایگاه ژنی، اثر محیط و اثرات تنظیمی (روابط بین ژن‌ها که به‌صورت شبکه‌های ژنی می‌توانند بروز کنند) را می‌توان نام برد. SNPها جابجایی ثابت یک باز است که فراوانی بیش از یک درصد در یک جمعیت داشته باشد و می‌تواند در اینترون، اگزون یا پروموتور ژن قرار گیرد (۹). هم‌چنین متیلاسیون نواحی CpG ژن‌های با بیان متفاوت و حتی ژنوم آمیخته می‌تواند از دلایل تفاوت بیان در بین دو جمعیت خالص و آمیخته سیستانی و مونت‌بیلیارد باشد (۹).

تجزیه و تحلیل‌های فیلوژنتیکی تخمینی هستند از اینکه چگونه اعضاء یک خانواده در طی دوره تکاملی از هم انشقاق پیدا کرده‌اند. این روابط به‌وسیله مطالعه جهش‌های جایگزینی، حذف، ازدیاد و جهش با آرایش مجدد تعیین می‌شود که در معرض انتخاب طبیعی قرار می‌گیرد (۴۳). از طرف دیگر، در اواخر دهه ۸۰ میلادی مطالعات و بررسی‌های به‌عمل‌آمده روشن نمود که مکانیسم‌های مولکولی در زمره مهم‌ترین فرایندهای ژنتیکی (مشتمل بر همانندسازی DNA، رونویسی، ترجمه و حتی نحوه تنظیم ژن‌ها) هستند (۳۶). ماده ژنتیکی[6] یک سلول دارای تعداد زیادی ژن می‌باشد که هیچ‌گاه به‌طور هم‌زمان بیان نمی‌شوند و در یک‌زمان خاص فقط تعداد کمی از آن‌ها بیان شده و پروتئین یا آنزیم مورد نیاز سلول را تولید می‌نمایند (۴۸). نیاز به بیان ژن توسط محیطی که در آن رشد می‌کند کنترل می‌شود و در صورت عدم نیاز به فرآورده ژن، آن ژن به‌صورت خاموش و غیرفعال باقی خواهد ماند (۳۵). ساز و کار بیان ژن اولین بار در باکتری E.coli کشف شد. بیان ژن‌های یوکاریوتی تحت کنترل موقت و چندبعدی می‌باشد. تنها یک مجموعه نسبتاً کوچک از تمام ژنوم در هر یک از انواع بافت‌ها بیان می‌شود و نیز بیان ژن‌ها به مرحله نمو بستگی دارد (۳۴). بنابراین، بیان ژن در یوکاریوت‌ها برای هر بافت اختصاصی است. همچنین مقدار محصولات ژن که در همان بافت و نیز در سایر بافت‌هایی که آن محصول را می‌سازند، ساخته شده سبب تنظیم بیان آن ژن می‌شود (۳۳). یکی از اقدامات اساسی در حیوانات اهلی مطالعه ژن‌ها و پروتئین‌های مرتبط با صفات اقتصادی و مطالعه آن‌ها در سطح سلولی یا کروموزومی است (۱۴،۲۲). علاوه بر این تحلیل فیلوژنتیک روابط بین ژن‌ها یا قطعات ژنی را با توجه به تاریخچه‌ی مشترک ژن‌ها یا قطعات ژنی محاسبه می‌کند. حفظ تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های بومی در نقاط مختلف ایران، به‌دلیل اندازه کم‌جمعیت آنان، برای انجام برنامه‌های اصلاح نژادی و افزایش تولید ضروری است. با تحلیل فیلوژنتیکی و بررسی روابط تکاملی می‌توان توالی ژن‌ها در بین جمعیت‌های مختلف را مورد مقایسه قرارداد و به دنبال آن تفاوت و شباهت‌های موجود در بین توالی‌ها را شناسایی کرد (۲،۴۵).

هدف از تحقیق حاضر تجزیه و تحلیل دلایل تنوع ژنتیکی ژن‌های با بیان متفاوت معنی‌دار مرتبط با صفات ایمنی در بین

1- C-X-C chemokine receptor type 4
2- C-C motif chemokine ligand 5
3- Upregulated
4- Regulator of G-protein signaling 1
5- Von Willebrand factor
6- DNA

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-10-30]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1400.12.31.12.3]
[DOI: 10.52547/rap.12.31.134]

جمعیت‌های گاوهای نژاد خالص و آمیخته سیستانی و مونت‌بیلیارد در جهت رسیدن به شناخت کافی از عوامل تأثیرگذار بر بیان معنی‌دار این ژن‌ها در بین جمعیت‌های مورد مطالعه بود. لذا با شناخت میزان، مسیر و محل‌های حساس به تغییرها در طی تکامل، می‌توان از این اطلاعات در مطالعات تکمیلی جهت دستیابی به آلل‌های ویژه برای بهبود صفات تولیدی و ایمنی استفاده نمود.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از داده‌های RNA-Seq مربوط به گاو نژاد خالص سیستانی و آمیخته آن با مونت‌بیلیارد استفاده شد. به این منظور در ابتدا از سیاهرگ دمی گاوهای نژادهای خالص و آمیخته سیستانی و مونت‌بیلیارد (دو تیمار و برای هر تیمار دو تکرار بیولوژیکی) خون‌گیری شدند. RNA با استفاده از کیت *RNAEsay* شرکت کیاژن (کیاژن، والنسیا، کالیفرنیا، آمریکا)، طبق دستورالعمل پروتکل‌های سازنده استخراج شد. جهت ساخت کتابخانه cDNA و تعیین توالی، نمونه‌ها به شرکت BGI چین (شنژن، چین) انتقال داده شدند. پس از اخذ داده‌ها، تمامی مراحل آماده‌سازی و تجزیه و تحلیل آن‌ها اعم از (کنترل کیفیت داده‌ها، ویرایش داده‌ها، مکان‌یابی خوانش‌ها بر روی ژنوم مرجع، تلفیق ترانسکریپت‌ها و آنالیز بیان افتراقی) در محیط گرافیکی (GNU) سیستم عامل لینوکس انجام شد. پس از تجزیه داده‌های *RNA-Seq* مربوط به چهار نمونه گاوهای نژادهای خالص و آمیخته سیستانی و مونت‌بیلیارد، ۴۵ ژن شناسایی شدند که تفاوت بیان معنی‌داری در بین دو جمعیت مورد مطالعه داشتند. تجزیه‌های آنتالوژی، مسیرهایی متابولیسمی که در آن ژن‌ها درگیر هستند را نشان می‌دهد که نتایج این مطالعه با ۴۵ ژن با بیان متفاوت، بیانگر ۱۵ مسیر مختلف بودند که در این بین فقط مسیر پاسخ التهابی توسط سایتوکاین‌ها و شیموکاین‌ها تفاوت معنی‌داری داشتند (FDR<۰/۰۵q)؛ که در واقع نشان می‌دهد که تفاوت بین نژاد خالص و آمیخته سیستانی و مونت‌بیلیارد مربوط به سیستم ایمنی است. هم‌چنین مشخص شد که ژن‌های *vWF*، *CXCR4*، *CCL5* و *RGS1* ژن‌های با بیان معنی‌داری هستند که دخیل در مسیر پاسخ التهابی توسط سایتوکاین‌ها و شیموکاین‌ها می‌باشند که مبنای مطالعه‌ی حاضر قرار گرفتند (جدول ۱). پس از استخراج توالی ژن‌های مورد مطالعه، هم‌ردیفی[1] آن‌ها با الگوریتم Clustal W با نرم‌افزار MEGA (نسخه ۶) (۴۶) انجام گرفت.

جدول ۱- ژن‌های با بیان متفاوت در بین جمعیت گاوهای خالص و آمیخته سیستانی و مونت‌بیلیارد

Table 1. Genes with different expressions among the population of purebred and crossbreed Sistani and Montebeliardecows

نام ژن	جایگاه ژنی
CCL5	۱۹:۱۴۸۲۳۴۶۹-۱۴۸۳۱۱۵۷
RGS1	۱۶:۱۲۳۱۴۱۹۱-۱۳۳۱۸۲۹۲
CXCR4	۲:۶۱۵۸۲۱۲۴-۶۱۵۸۵۸۳۸
vWF	۵:۱۰۴۶۰۳۴۳۱-۱۰۴۷۲۷۳۰۱

۱- در ستون جایگاه ژن، عدد سمت چپ شماره‌ی کروموزوم و اعداد بعد از آن شماره نوکلئوتید شروع و پایان ژن را نشان می‌دهد.

شاخص‌های تنوع مولکولی از قبیل تعداد جهش‌ها، تعداد هاپلوتیپ‌ها، تنوع نوکلئوتیدی، مکان‌های چند شکل، چند شکلی حذف و اضافه، شاخص توزیع گاما به‌منظور برآورد نرخ یا ضریب ناهمگونی بین مکان‌های مورد بررسی، تعداد جایگاه‌هایی که در آن‌ها جایگزینی مشابه و غیرمشابه اتفاق افتاده و هم‌چنین تنوع آن‌ها از نرم‌افزار DnaSP (نسخه ۵) (۳۱) استفاده شد. تنوع هاپلوتیپی بر اساس روش حداکثر درست‌نمایی و فاصله ژنتیکی بر اساس مدل تامورا-نئی (MCL) انجام گرفت.

ترسیم درخت فیلوژنتیکی، روابط تکاملی بین توالی نوکلئوتیدی ژن‌های مورد مطالعه با استفاده از نرم‌افزار MEGA با ۱۰۰۰۰ تکرار با روش آماری Bootstrap مورد بررسی قرار گرفت. پس از ویرایش توالی‌ها و حذف نواحی غیرکدکننده، درخت فیلوژنتیکی با استفاده از روش اتصال همسایگی (NJ) ترسیم شد. در این روش، درخت فیلوژنی بر اساس مدل MCL از ماتریس (Q) استفاده می‌نماید.

در رابطه بالا:

$$1) Q(i,j) = (r-2)d(i,j) - \sum d(j,k)$$

$d(i,j)$: فاصله بین شاخه i و j و jjk: شاخه kام درخت، r تعداد کل شاخه‌ها، Q (i,j): مقدار عددی شاخه‌های i و j.

بررسی تغییرات نوکلئوتیدی که باعث تغییر اسیدهای آمینه شده‌اند (d_N) نسبت به تغییرات نوکلئوتیدی که تأثیری در اسیدآمینه حاصله نداشته‌اند (d_S)، یک روش مفید و بسیار کارآمد جهت تشخیص روند انتخاب طبیعی در طول تکامل برای ژن‌ها می‌باشد. بنابراین، با استفاده از مقدار عددی این نسبت (d_N/d_S) روند انتخاب طبیعی برای ژن‌های موردمطالعه با نرم‌افزار HIV_SN v2.1.1 (۲۹) شناسایی گردید. مقادیر d_N وd_S به‌ترتیب با استفاده از روابط ۲ و ۳ محاسبه شدند:

$$2) d_N = -3.4\, Ln\,(1 - 4.3\, P_N)$$

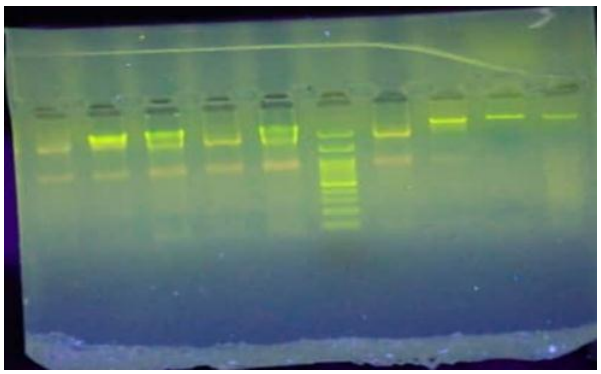
$$3) d_S = -3.4\, Ln\,(1 - 4.3\, P_S)$$

در روابط بالا، P_N: نسبت جایگاه‌های دارای جایگزینی نامشابه و P_S: نسبت جایگاه‌های دارای جایگزینی مشابه می‌باشند. معنی‌دار بودن مقدار عددی (d_N/d_S) با آزمون فیشر در سطح احتمال ۵٪ بررسی شد.

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-10-30]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1400.12.31.12.3]
[DOI: 10.52547/rap.12.31.134]

نتایج و بحث

RNA استخراج شده از کیفیت مطلوبی برخوردار بودند و پس از تأیید کیفیت برای توالی‌یابی ارسال شدند (شکل ۱). به‌منظور تعیین همولوژی و مقایسه میزان تفرق در توالی ژن‌های مورد مطالعه از داده‌های توالی‌یابی (*RNA-Seq*) در گاوهای نژاد خالص سیستانی و آمیخته سیستانی و مونت‌بیلیارد و همچنین توالی‌های نوکلئوتیدی چهار جایگاه ژنی مرتبط با صفات ایمنی زیرگونه باس ایندیکوس[1] به‌عنوان مرجع از بانک ژنی *NCBI* استخراج شدند (جدول ۲). درصد توالی بازهای مختلف در چهار جایگاه ژنی در نژاد خالص و آمیخته آن با مونت‌بیلیارد در مقایسه با ژنوم مرجع زیرگونه باس ایندیکوس در جدول ۳ ارائه شده است.



شکل ۱- کیفیت RNA استخراج شده از نمونه خون جهت تهیه کتابخانه cDNA و توالی یابی

Figure 1. RNA quality extracted from blood samples for cDNA library and sequencing

جدول ۲- اندازه ژن و شماره دسترسی ژن‌ها مورد مطالعه در زیر گونه باس ایندیکوس

Table 2. Gene size and access number of genes studied under the Bos indicus

نام ژن	شماره دسترسی	تعداد جفت باز
CCL5	XM_019982502.1	۸۵۶
RGS1	XM_019976764.1	۱۳۲۲
CXCR4	XM_019973389.1	۱۶۹۵
vWF	XM_019959953.1	۸۶۰۰

جدول ۳- درصد بازهای مختلف در چهار جایگاه ژنی مرتبط با صفات ایمنی در نژاد خالص سیستانی و آمیخته آن با مونت‌بیلیارد

Table 3. Percentage of different bases in four loci gene associated with immune traits in pure Sistani breed and its crosses with Montbiliarde

ژنوم	درصد گوانین	درصد سیتوزین	درصد تیمین	درصد آدنین
	جایگاه ژنی CCL5			
مرجع باس ایندیکوس	۲۶/۶	۳۴/۲	۲۰	۲۶/۶
خالص سیستانی	۲۵/۲	۳۱/۹	۲۱/۹	۲۵/۲
آمیخته سیستانی و مونت بیلیارد	۲۵/۲	۳۱/۹	۲۱/۹	۲۵/۲
میانگین کل	۲۵/۶	۳۲/۷	۲۱/۳	۲۵/۲
	جایگاه ژنی RGS1			
مرجع باس ایندیکوس	۲۲/۳	۱۹/۴	۲۵/۳	۳۳
خالص سیستانی	۲۲/۲	۱۷/۱	۲۸/۲	۳۳/۵
آمیخته سیستانی و مونت بیلیارد	۲۲/۲	۱۷/۱	۲۸/۲	۳۳/۵
میانگین کل	۲۱/۶	۱۷/۸	۲۷/۲	۳۳/۳
	جایگاه ژنی CXCR4			
مرجع باس ایندیکوس	۲۲/۲	۲۴	۳۰/۲	۲۳/۶
خالص سیستانی	۲۱/۱	۲۳/۱	۳۱/۸	۲۴
آمیخته سیستانی و مونت بیلیارد	۲۱/۷	۲۳/۱	۳۱/۸	۲۴
میانگین کل	۲۱/۴	۲۳/۴	۳۱/۳	۲۳/۹
	جایگاه ژنی vWF			
مرجع باس ایندیکوس	۳۰/۷	۳۱/۷	۱۸/۷	۱۸/۹
خالص سیستانی	۲۷/۷	۲۷	۲۴/۵	۲۰/۸
آمیخته سیستانی و مونت بیلیارد	۲۷/۷	۲۷	۲۴/۵	۲۰/۸
میانگین کل	۲۸/۷	۲۸/۵	۲۲/۶	۲۰/۸

1- Bos indicus

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-10-30]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1400.12.31.12.3]
[DOI: 10.52547/rap.12.31.134]

در این مطالعه با تجزیه توالی نوکلئوتیدی چهار جایگاه ژنی، بیشترین تعداد جایگاه چندشکل در ژن *vWF* و کمترین تعداد جایگاه چندشکل در ژن *CXCR4* شناسایی شد. جایگاه ژنی *vWF* با طول ۸۴۷۳ جفت باز، شامل ۳۸۹۸ جایگاه چندشکل و ۶۵۶ جایگاه دارای داده گم‌شده بود. برای این ژن دو هاپلوتیپ در جمعیت گاو نژاد سیستانی و آمیخته مونت‌بیلیارد به‌دست آمد که شامل ۲۰/۸ درصد آدنین، ۲۳/۶ درصد تیمین، ۲۸/۵ درصد سیتوزین و ۲۸/۷ درصد گوانین بودند (جدول ۳). همانطور که مشخص است در این ژن مقادیر سیتوزین و گوانین بالاتر از مجموع آدنین و تیمین بود. ژانگ و همکاران (۵۰) اولین افرادی بودند که چندشکلی‌های تک‌نوکلئوتیدی (SNP[1]) در ناحیه پروموتور برای ژن *vWF* را گزارش کردند. این نویسندگان چهار SNP را برای این ژن شناسایی کردند. اخیراً مشخص شده است که سه تا از این چند شکلی‌های تک نوکلئوتیدی (-1051G/A،-123C/T و -1185A/G) با سطوح بیان ژن *vWF* در پلاسما ارتباط معنی‌داری دارند (۲۰،۲۶).

هم‌چنین گزارش شده است که در یکی از این چندشکلی‌ها (1185A/G)، هموزیگوت‌های AA به‌طور معنی‌داری با سطوح بالای ژن *vWF* در پلاسما در ارتباط بوده و هموزیگوت‌های GG کمترین سطح و هتروزیگوت‌های AG سطح متوسطی از *vWF* را در پلاسما دارند (۲۶). در مطالعه‌ای دیگر، ارتباط بین چندشکلی ژن *vWF* با بیماری دیابت نوع اول مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که بین چندشکلی Thr789Ala و سطوح بیان *vWF* در پلاسما ارتباط وجود دارد (۳۰). هاروی و همکاران (۲۰)، چند شکلی تک نوکلئوتیدی را برای ژن *vWF* در موقعیت نوکلئوتید (۱۷۹۳- (nt)) ثبت کردند و گزارش کردند که ارتباط معنی‌داری بین این چندشکلی و سطوح بیان ژن *vWF* در پلاسما وجود دارد.

با تجزیه توالی جایگاه ژنی *RGS1* با طول ۱۳۱۶ جفت باز، ۲۷۹ جایگاه چندشکل و ۴۱ جایگاه دارای داده گم‌شده شناسایی شدند. در جایگاه مذکور نیز دو هاپلوتیپ در جمعیت گاو نژاد سیستانی خالص و آمیخته مونت‌بیلیارد مشاهده شد که شامل ۳۳/۳ درصد آدنین، ۲۷/۲ درصد تیمین، ۱۷/۸ درصد سیتوزین و ۲۱/۶ درصد گوانین بودند (جدول ۳). بالابودن آدنین و تیمین باعث متمایزربودن نرخ ژنتیکی این ژن شده و هم‌چنین پایین‌بودن مجموع سیتوزین و گوانین باعث شده نرخ جهش در این ژن بالا و تنوع ژنتیکی بالایی داشته باشد. در مطالعه‌ای به بررسی ارتباط چندشکلی‌های تک‌نوکلئوتیدی (rs2816316) ژن *RGS1* و (rs17810546) ژن *IL12A* با خطر ابتلا به بیماری سیالیک در انسان با روش متاآنالیز پرداخته شد (۱۸). آن‌ها گزارش کردند که شواهد قابل توجهی برای کاهش خطر ابتلا به بیماری سیالیک در ارتباط با آلل C در چندشکلی تک‌نوکلئوتیدی rs2816316 و افزایش خطر ابتلا با آلل G در چندشکلی تک‌نوکلئوتیدی rs17810546 یافته‌اند. چندشکلی rs2816316، در مهاجرت لنفوسیت‌ها نقش دارد و می‌تواند در تجمع سلول‌ها در توسعه سیستم ایمنی و هم در عفونت برون‌زا نقش داشته باشد (۱۰).

توالی ژن *CCL5*، با ۸۳۱ جفت باز شامل ۵۴ جفت باز فاصله و یا داده گم‌شده و ۱۹۷ جایگاه چندشکل بودند. هم‌چنین دو هاپلوتیپ برای ژن *CCL5* در جمعیت گاو نژاد خالص و آمیخته سیستانی و مونت‌بیلیارد مشاهده شد که محتوای توالی مورد توافق به‌دست آمده از هاپلوتیپ‌ها شامل ۲۰/۵ درصد آدنین، ۲۱/۳ درصد تیمین، ۳۲/۷ درصد سیتوزین و ۲۵/۶ درصد گوانین بودند. در توالی جایگاه ژنی مذکور، مجموع سیتوزین و گوانین ۵۸/۳ بود که میزان بالای سیتوزین و گوانین به‌علت داشتن سه پیوند هیدروژنی، یکی از عوامل اصلی محافظت این ناحیه از ژن *CCL5* در مقابل عوامل جهش‌زا است (جدول ۳). یانگ و همکاران (۴۹)، در مطالعه‌ای به شناسایی واریانت‌هایی از ژن *CCL5* و مقایسه بیان آن‌ها در بین غدد پستان سالم و آلوده به ورم پستان در گاو هلشتاین پرداختند. آن‌ها دو رونوشت جدید (g.1647 C>T and g.1804 G>A) برای این ژن در غدد پستان شناسایی کردند و گزارش کردند که این رونوشت‌ها بیان کمتری در مقایسه با *CCL5* مرجع در بافت سالم و آلوده غدد پستان دارند. آلکمبر و همکاران (۳)، در مطالعه ای به بررسی ارتباط بین بروز سل و چند شکلی تک نوکلئوتیدی ژن CCL5 (-28 C<G) پرداختند. آن‌ها گزارش کردند که ارتباطی بین این چند شکلی تک نوکلئوتیدی و بروز سل در انسان وجود ندارد.

جایگاه ژنی *CXCR4* با طول ۱۷۰۴ جفت باز، ۷۴ جایگاه چند شکل و ۱۶۹۳ جایگاه دارای داده گم‌شده بودند. برای این ژن نیز دو هاپلوتیپ در جمعیت گاو نژاد خالص و آمیخته سیستانی و مونت‌بیلیارد مشاهده شد که شامل ۲۳/۹ درصد آدنین، ۳۱/۳ درصد تیمین، ۲۳/۴ درصد سیتوزین و ۲۱/۴ درصد گوانین بودند (جدول ۳). در این ژن نیز مقادیر آدنین و تیمین بالاتر از مجموع گوانین و سیتوزین بود که می‌تواند یکی از دلایل تنوع ژنتیکی بالاتر در این ژن در مقایسه با سایر جایگاه‌های ژنی باشد. با مطالعه‌ای که روی ژن *CXCR4* توسط (۴۲،۱۳) انجام شد، یک چندشکلی تک‌نوکلئوتیدی (C/T) rs2228014 در کدون ۱۳۸ برای این ژن گزارش شد (۴۲،۱۳). تنگ و همکاران (۴۷)، گزارش کردند که این چند شکلی با مراحل III و IV و همچنین متاستاز در غدد لنفاوی در سرطان دهان در ارتباط است. در مطالعه‌ای دیگر به بررسی ارتباط چند شکلی تک نوکلئوتیدی (rs2228014) ژن *CXCR4* با سرطان سینه در انسان پرداختند و گزارش کردند که بیان بالایی از این ژن در سطح پروتئین و *mRNA* در بافت آلوده سینه وجود دارد، ولی بین بیان بالای این ژن و وجود چندشکلی rs2228014 ارتباطی وجود ندارد (۴۰).

1- Single Nucleotide Polymorphisms

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-10-30]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1400.12.31.12.3]
[DOI: 10.52547/rap.12.31.134]

جدول ۴- برآورد حداکثر درصد جابجایی توالی نوکلئوتیدی چهار جایگاه ژنی مرتبط با صفات ایمنی در نژاد خالص سیستانی و آمیخته آن با مونت‌بیلیارد بر اساس مدل تامورا–نئی

Table 4. Maximum composite likelihood estimation of nucleotide substitution in four loci gene related to immune traits in pure Sistani breed and its crosses with Montbiliarde ased on Tamura-Nei model.

نام جایگاه ژنی	G (%)	C (%)	T/U (%)	A (%)	
			ژنCCL5		
A	۱۱/۱۳	۸/۷۲	۵/۶۵	-	A
T/U	۶/۹۵	۱۵/۹۳	-	۵/۵۵	T/U
C	۶/۹۵	-	۱۰/۳۳	۵/۵۵	C
G	-	۸/۷۲	۵/۶۵	۸/۸۹	G
			ژن RGS1		
A	۹/۱۷	۴/۷۳	۷/۱۹	-	A
T/U	۵/۷۹	۹/۴۲	–	۸/۸۴	T/U
C	۵/۷۹	–	۱۴/۳۲	۸/۸۴	C
G	–	۴/۷۳	۷/۱۹	۱۴/۲۱	G
			ژن CXCR4		
A	۱۲/۶۵	۶/۵۵	۸/۷۵	–	A
T/U	۶	۷/۴۲	–	۶/۶۷	T/U
C	۶	–	۹/۹۲	۶/۶۷	C
G	–	۶/۵۵	۸/۷۵	۱۴/۰۷	G
			ژن vWF		
A	۱۴/۵۴	۶/۸۳	۵/۴۳	–	A
T/U	۶/۸۸	۱۵/۱۷	–	۴/۸۵	T/U
C	۶/۸۸	–	۱۲/۰۶	۴/۸۵	C
G	–	۶/۸۳	۵/۴۳	۱۰/۲۵	G

احتمال جایگزینی هر ورودی از یک پایه (ردیف) پایه دیگر است که مجموع آن برابر ۱۰۰ است. در این جدول درصد جهش‌های انتقالی (جایگزینی پورین به پورین دیگر و یا پیریمیدین به پیریمیدین دیگر) به‌صورت پررنگ و جهش تقاطعی (جایگزینی پورین به پیریمیدین و برعکس) به‌صورت ایتالیک نشان داده شده‌اند.

جایگزینی نوکلئوتیدی بر اساس مدل تامورا–نئی به‌صورت میزان جایگزینی‌های نوع انتقالی و متقاطع محاسبه شد و نتایج حاکی از آن بود که بیشترین میزان جایگزینی در توالی نوکلئوتیدی جایگاه‌های ژنی مورد مطالعه از نوع جایگزینی انتقالی بودند (جدول ۴)؛ زیرا جهش به نوکلئوتیدهای نامشابه پایدارتر است و این جهش‌ها می‌توانند برگشت‌پذیر هم باشند. هم‌چنین نسبت جایگزینی انتقالی به تقاطعی (Transition/Transversion) برای ژن‌های *CCL5*، *RGS1*، *CXCR4* و *vWF* به‌ترتیب ۰/۸۵، ۷۷/۸۵، ۰/۰ و ۱/۰۶ به‌دست آمد که نشان می‌دهد گونه‌های مورد بررسی برای ژن‌های مورد مطالعه روند جهشی و تغییرپذیری داشته‌اند.

به‌دلیل این‌که تعداد جایگاه‌های چند شکل وابسته به تعداد نمونه می‌باشند، لذا از فراسنجه دیگری یعنی تنوع نوکلئوتیدی یا هتروزیگوسیتی در سطح نوکلئوتید استفاده شد که به طول DNA و تعداد نمونه بستگی ندارد و عبارت از متوسط تفاوت نوکلئوتیدی بین دو توالی در هر جایگاه می‌باشد (۳۸). میزان تنوع نوکلئوتیدی و تنوع هاپلوتیپی برحسب جفت باز برای ژن‌های مورد مطالعه در بین جمعیت‌های گاو نژاد خالص و آمیخته سیستانی و مونت‌بیلیارد در جدول (۵) ارائه شده است. نتایج به‌دست‌آمده حاکی از سطح تنوع بسیار بالا و عدم وجود مناطق حفاظت‌شده در جایگاه‌های ژنی مورد مطالعه در بین جمعیت‌های گاو نژاد خالص و آمیخته سیستانی و مونت‌بیلیارد بودند. میزان تنوع در جایگاه‌های ژنی مورد مطالعه در بین جمعیت‌های گاو نژاد خالص و آمیخته سیستانی و مونت‌بیلیارد در محدوده‌ی (۰/۰۲–۰/۳۰) بودند (جدول ۵). هم‌چنین میانگین اختلاف نوکلئوتیدها (واگرایی نوکلئوتیدی) و تعداد کل جهش‌ها در ژن‌های مورد مطالعه در بین جمعیت‌های گاو نژاد خالص و آمیخته سیستانی و مونت‌بیلیارد به‌ترتیب در محدوده‌ی (۲۵۹۸/۶۶–۱۸۶) و (۳۸۹۸–۷۴) قرار داشت. این نتایج نشان می‌دهد که جهش عامل مهمی در شکل‌گیری نوکلئوتیدها و در نتیجه بیان متفاوت در جایگاه‌های ژنی مورد مطالعه در بین جمعیت گاوهای نژاد خالص و آمیخته سیستانی و مونت‌بیلیارد می‌باشد.

جدول ۵- شاخص‌های تنوع ژنتیکی توالی نوکلئوتیدی در چهار جایگاه ژنی مرتبط با صفات ایمنی در نژاد خالص سیستانی و آمیخته آن با مونت‌بیلیارد

Table 5. The indexes of genetic variation of nucleotide sequencing in four loci gene related to immune traits in pure Sistani breed and its crosses with Montbiliarde

ژن	S	H	Hd	Pi	Eta	K
CCL5	۱۹۷	۲	۰/۶۶	۰/۱۵	۱۹۷	۱۳۱/۳۳
RGS1	۲۷۹	۲	۰/۶۶	۰/۱۴	۲۷۹	۱۸۶
CXCR4	۷۴	۲	۰/۶۶	۰/۰۲	۷۴	۴۹/۳۳
vWF	۳۸۹۸	۲	۰/۶۶	۰/۳۰	۳۸۹۸	۲۵۹۸/۶۶

S: تعداد جایگاه چندشکلی، H: تعداد هاپلوتیپ‌ها، Hd: تنوع هاپلوتیپی، Pi: تنوع نوکلئوتیدی، Eta: تعداد کل جهش‌ها،K: تفاوت نوکلئوتیدها بین جمعیت یا گونه‌ها (واگرایی نوکلئوتیدی)

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-10-30]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1400.12.31.12.3]
[DOI: 10.52547/rap.12.31.134]

شاخص‌های تجزیه نواحی حفاظت‌شده ژن‌های مورد مطالعه در بین جمعیت گاوهای نژاد خالص و آمیخته سیستانی و مونت‌بیلیارد در جدول ۶ ارائه شده است. تعداد نواحی حفاظت شده در جایگاه‌های ژنی *CCL5*، *RGS1*، *CXCR4* و *vWF* به‌ترتیب (۱، ۵ و ۱۱) به‌دست آمد. کمترین و بیشترین حد آستانه حفاظت و طول حفاظت مربوط به ژن‌های *vWF* و *CXCR4* بودند. نتایج نشان داد که بخش کوچکی از توالی ژن‌های مذکور حفاظت شده است که این امر نشان‌دهنده چندشکلی بالای این ژن‌ها و همچنین مستعدبودن آن‌ها به تغییرات نوکلئوتیدی و جهش بوده که سبب به‌وجودآمدن پروتئین‌های جدید و همچنین عملکردهای جدید آن می‌گردد.

جدول ۶- شاخص‌های تجزیه مناطق حفاظت شده چهار جایگاه ژنی مرتبط با صفات ایمنی در نژاد خالص سیستانی و آمیخته آن با مونت‌بیلیارد
Table 6. The indexes of conserved regions of four loci gene related to immune traits in pure Sistani breed and its crosseswith Montbiliarde

نام ژن	C	MWL	CT
CCL5	۰/۷۷	۶۰	۰/۸۷
RGS1	۰/۷۹	۵۴	۰/۸۹
CXCR4	۰/۹۵	۶۷	۱
vWF	۰/۵۶	۹۱	۰/۶۶

C: حفاظت توالی، MWL: حداقل طول حفاظت،CT: حد آستانه حفاظت

یک روش بسیار کارآمد و مفید جهت تشخیص روند انتخاب طبیعی در طول زمان، نسبت جهش‌هایی که موجب تغییر در ترکیب اسیدآمینه می‌شود به جهش‌هایی که تغییری در ترکیب اسیدآمینه ایجاد نمی‌کنند (d_N/d_S) است (۳۹). اگر این نسبت بیشتر از یک باشد انتخاب مثبت، اگر کمتر از یک باشد انتخاب خالص و اگر برابر یک باشد انتخاب خنثی را در طی تکامل این ژن‌ها نشان می‌دهد (۴۴). مقدار عددی این نسبت (d_N/d_S) برای ژن‌های مورد مطالعه در بین جمعیت‌های خالص و آمیخته سیستانی و مونت‌بیلیارد در جدول ۷ ارائه شده است. مقدار این شاخص در تمام جایگاه‌های مورد مطالعه به‌جز جایگاه *CXCR4* بیش از یک بودند، لذا نتایج حاکی از روند انتخاب مثبت در ژن‌های مذکور می‌باشد.

جدول ۷- تعیین روند انتخاب طبیعی در چهار جایگاه ژنی مرتبط با صفات ایمنی در نژاد خالص سیستانی و آمیخته آن با مونت‌بیلیارد
Table 7. The indexes of neutral selection of four loci gene related to immune traits in pure Sistani breed and its crosseswith Montbiliarde

ژن	شاخص‌های روند انتخاب طبیعی		
	d_N	d_S	d_N/d_S
CCL5	۲/۷	۲/۶۳	۱/۰۳
RGS1	۲/۳۹	۱/۸۲	۱/۳۱
CXCR4	۱/۸۸	۲/۳۷	۰/۷۹
vWF	۲/۳۸	۱/۸۲	۱/۳۱

نتایج فاصله ژنتیکی در بین جمعیت‌های گاو نژاد خالص و آمیخته سیستانی و مونت‌بیلیارد در جایگاه‌های ژنی مورد مطالعه در جدول ۸ آورده شده است. از آن‌جایی که فواصل ژنتیکی بین حیوانات مختلف به‌صورت دو به دو هستند، اعداد حاصله، نمایانگر جانشینی نوکلئوتیدها بین توالی‌های مورد بررسی می‌باشند. فاصله ژنتیکی بین دو حیوان با همبستگی فیلوژنتیکی بین حیوانات مرتبط خواهد بود. در نتیجه از این شاخص می‌توان برای دوری و نزدیکی ژنتیکی حیوانات مختلف استفاده نمود. همانگونه که از اطلاعات جدول ۸ نمایان است، بیشترین فاصله ژنتیکی در دو جمعیت خالص و آمیخته سیستانی در جایگاه ژنی *vWF* می‌باشد. همچنین نتایج حاصل از جدول فواصل ژنتیکی و میزان اختلاف نوکلئوتیدی صحت ترسیم درخت فیلوژنتیک را تأیید می‌کند.

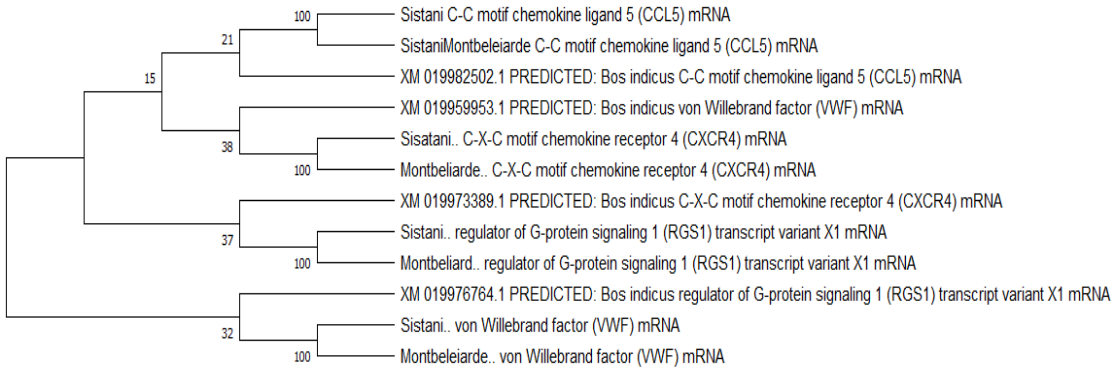
[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-10-30]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1400.12.31.12.3]
[DOI: 10.52547/rap.12.31.134]

جدول ۸- ماتریس برآورد فاصله ژنتیکی چهار جایگاه ژنی مرتبط با صفات ایمنی در نژاد خالص سیستانی و آمیخته آن با مونت‌بیلیارد

Table 8. Genetic distance matrix of four loci gene related to immune traits in pure Sistani breed and its crosses with Montbiliarde

جایگاه ژنی	گونه	۱	۲	۳
CCL5	گاو نژاد زبو (۱)	–	۰/۰۲۲	۰/۰۲۲
	گاو نژاد خالص سیستانی (۲)	۰/۲۸	–	۰/۰
	گاو نژاد آمیخته سیستانی و مونت‌بیلیارد (۳)	۰/۲۸	۰/۰	–
RGS1	گاو نژاد زبو (۱)	–	۰/۰۱۶	۰/۰۱۶
	گاو نژاد خالص سیستانی (۲)	۰/۲۵	–	۰/۰
	گاو نژاد آمیخته سیستانی و مونت‌بیلیارد (۳)	۰/۲۵	۰/۰	–
CXCR4	گاو نژاد زبو (۱)	–	۰/۰۰۵	۰/۰۰۵
	گاو نژاد خالص سیستانی (۲)	۰/۰۴۵	–	۰/۰
	گاو نژاد آمیخته سیستانی و مونت‌بیلیارد (۳)	۰/۰۴۵	۰/۰	–
vWF	گاو نژاد زبو (۱)	–	۰/۰۱۵	۰/۰۱۵
	گاو نژاد خالص سیستانی (۲)	۰/۷۳	–	۰/۰
	گاو نژاد آمیخته سیستانی و مونت‌بیلیارد (۳)	۰/۷۳	۰/۰	–

در مطالعات تکاملی، طبقه‌بندی شامل تشکیل فیلوژنی نیز است، درختان فیلوژنتیک مسیرهای تکاملی را نشان می‌دهند و می‌توان از آن‌ها برای درک روابط تکاملی استفاده نمود. به‌عبارت دیگر هر چه موجودات مورد بررسی مشابهت بیشتری در مولکول‌های توارثی داشته باشند، خویشاوندی نزدیک‌تری دارند. در بیش تر موجودات از داده‌های مربوط به توالی DNA برای تعیین روابط تکاملی استفاده می‌شود. از آنجایی‌که چنین داده‌هایی کمتر تحت تأثیر نتایج انتخاب قرار می‌گیرند، بهتر می‌توانند روابط فیلوژنتیکی واقعی را منعکس کنند. وجود تعداد بیشتر شاخه‌های درخت نشان‌دهنده تنوع ژنتیکی بالاست (۲۵). در این مطالعه، برای رسم درخت فیلوژنتیکی توالی‌های نوکلئوتیدی ژن‌های مورد مطالعه مربوط به جمعیت گاوهای نژاد خالص و آمیخته سیستانی و مونت‌بیلیارد از روش اتصال مجاور (NJ) با بوت‌استراپ ۱۰۰۰۰ استفاده شد. بررسی درخت فیلوژنتیکی نشان داد که تنوع ژنتیکی و واگرایی برای ژن‌های مورد مطالعه در بین جمعیت‌های گاو نژاد خالص، آمیخته سیستانی و مونت‌بیلیارد و باس ایندیکوس وجود دارد (شکل ۲).



شکل ۲- درخت فیلوژنتیک توالی‌های نوکلئوتیدی چهار جایگاه ژنی مرتبط با صفات ایمنی در نژاد خالص سیستانی و آمیخته آن با مونت بیلیارد

Figure 2. Phylogenetic tree of nucleotide sequences of four loci gene related to immune traits in pure Sistani breed and its crosses with Montbeliarde

به‌طورکلی، بر اساس نتایج بدست آمده از تجزیه نوکلئوتیدی چهار جایگاه ژنی، مشخص شد که چند شکلی و اختلاف نوکلئوتیدی (واگرایی نوکلئوتیدی) بالایی برای ژن‌های مورد مطالعه در بین جمعیت گاوهای نژاد خالص و آمیخته سیستانی و مونت‌بیلیارد وجود دارد. هم‌چنین نواحی حفاظت‌شده بخش اندکی از توالی ژن‌های مورد مطالعه را تشکیل می‌دهند که این امر نشان‌دهنده چندشکلی بالای این ژن‌ها و هم‌چنین مستعد بودن آن به تغییرات نوکلئوتیدی و جهش می‌باشد که سبب به‌وجودآمدن پروتئین‌های جدید و همچنین عملکردهای جدید آن‌ها می‌گردد. بررسی درخت فیلوژنتیکی نیز نشان داد که تنوع ژنتیکی و واگرایی برای ژن‌های مورد مطالعه در بین جمعیت‌های گاو نژاد خالص، آمیخته سیستانی و مونت‌بیلیارد و باس ایندیکوس وجود دارد.

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-10-30]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1400.12.31.12.3]
[DOI: 10.52547/rap.12.31.134]

منابع

1. Adema, G.J., F. Hartgers, R. Verstraten, E. de Vries, G. Marland, S. Menon, J. Foster, Y. Xu, P. Nooyen, T. McClanahan, K.B. Bacon and C.G. Figdor. 1997. A dendritic-cell-derived C–C chemokine that preferentially attracts naive T cells. Nature, 387: 713.
2. Ahmadian, K., G. Rahimi Mianji, H. Sayahzadeh and H. Deldar. 2017. Assessment of Genetic diversity and phylogenetic relationship of Iranian indigenous chickens based on mitochondrial D-Loop sequences. Research on Animal Production, 8(17): 140-148 (In Persian).
3. Alqumber, M.A., R.K. Mandal, S. Haque, A.K. Panda, N. Akhter and A. Ali. 2013. A genetic association study of CCL5-28 C> G (rs2280788) polymorphism with risk of tuberculosis: a meta-analysis. PLOS ONE, 8(12): e83422.
4. Arenberg, D.A., P.J. Polverini, S.L. Kunkel, A. Shanafelt, J. Hesselgesser, R. Horuk and R.M. Strieter. 1997. The role of CXC chemokines in the regulation of angiogenesis in nonsmall cell lung cancer. Journal of Leukocyte Biology, 62: 554-562.
5. Asghari, B., G.R. Dashab, M.H. Banabazi and M. Rokouei. 2020. Evaluation of Codon usage pattern and its relation with differentially expressed genes between two populations of purebred and crossbreed Sistani and Montbeliarde cows. Research on Animal Production, 2(22): 188-198 (In Persian).
6. Ashley, R.L., A.Q. Antoniazzi, R.V. Anthonyand T.R. Hansen. 2011. The chemokine receptor CXCR4 and its ligand CXCL12 are activated during implantation and placentation in sheep. Reproductive Biology and Endocrinology, 9: 148.
7. Barazandeh, A., M.R. Mohammadabadi, M. Ghaderi and H. Nezamabadipour. 2016. Predicting CpG islands and their relationship with genomic feature in cattle by hidden markov model algorithm. Iranian Journal of Applied Animal Science, 6: 571-579.
8. Busillo, J.M. and J.L. Benovic. 2007. Regulation of CXCR4 signaling. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes, 1768: 952-963.
9. Butler, J.M. 2011. Advanced topics in forensic DNA typing: methodology. Academic press.
10. Ding, Z., K. Xiong, T.B. Issekutz. 2000. Regulation of chemokine-induced transendothelial migration of T lymphocytes by endothelial activation: Differential effects on naive and memory T cells. Journal of Leukocyte Biology, 67: 825-833.
11. Ebrahimi, Z., M.R. Mohammadabadi, A.K. Esmailizadeh, A. Khezri and A. Najmi Noori. 2015a. Association of PIT1 gene with milk fat percentage in Holstein cattle. Iranian Journal of Applied Animal Science, 5: 575-582.
12. Ebrahimi, Z., M.R. Mohammadabadi, A.K. Esmailizadeh and A. Khezri. 2015b. Association of PIT1 gene and milk protein percentage in Holstein cattle. Journal of Livestock Science and Technologies, 3: 41-49.
13. Federsppiel, B., I.G. Melhado, A.M. Duncan, A. Delaney, K. Schappert, I. Clark-Lewisand F.R. Jirik. 1993. Molecular cloning of the cDNA and chromosomal localization of the gene for a putative seven-transmembrane segment (7-TMS) receptor isolated from human spleen. Genomics, 16(3): 707-712.
14. Ghaderi-Zefrehei, M., A. Torabi, M. Esmaeilpour, M. Salimpour and M.H. Banabazi. 2020. Investigating the Function of Predicted Proteins from RNA-Seq Data in Holstein and Cholistani Cattle Breeds. Research on Animal Production, 11(28): 121-135 (In Persian).
15. Ghasemi, M., A. Baghizadeh and M.R.M. Abadi. 2010. Determination of genetic polymorphism in Kerman Holstein and Jersey cattle population using ISSR markers. Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 4: 5758-5760.
16. Gibbons, D.L., L. Abeler-Dörner, T. Raine, I.Y. Hwang, A. Jandke, M. Wencker, L. Deban, C.E. Rudd, P.M. Irving and J.H. Kehrl. 2011. Cutting edge: regulator of G protein signaling-1 selectively regulates gut T cell trafficking and colitic potential. The Journal of Immunology, 187: 2067-2071.
17. Gilbert, F.B., P. Cunha, K. Jensen, E.J. Glass, G. Foucras, C. Robert-Granié, R. Ruppand and P. Rainard. 2013. Differential response of bovine mammary epithelial cells to Staphylococcus aureus or Escherichia coli agonists of the innate immune system. Veterinary Research, 44: 40.
18. Guo, C.C., M. Wang, F.D. Cao, W.H. Huang, D. Xiao, X.G. Ye, M.L. Ou, N. Zhang, B.H. Zhang, Y. Liu and G. Yang. 2016. Meta-analysis on associations of RGS1 and IL12A polymorphisms with celiac disease risk. International Journal of Molecular Sciences, 17(4): 457.
19. Han, S.B., C. Moratz, N.N. Huang, B. Kelsall, H. Cho, C.S. Shi, O. Schwartz and J.H. Kehrl. 2005. Rgs1 and Gnai2 regulate the entrance of B lymphocytes into lymph nodes and B cell motility within lymph node follicles. Immunity, 22: 343-354.
20. Harvey, P.J., A.M. Keightley, Y.M. Lam, C. Cameron and D. Lillicrap. 2000. A single nucleotide polymorphism at nucleotide-1793 in the von Willebrand factor (VWF) regulatory region is associated with plasma VWF: Ag levels. British Journal of Hematology, 109(2): 349-353.
21. Horuk, R. 2001. Chemokine receptors. Cytokine and growth factor reviews, 12: 313-335.
22. Jafari Darehdor, A.H., M.R. Mohammadabadi, A.K. Esmailizadeh and A. Riahi Madvar. 2016. Investigating expression of CIB4 gene in different tissues of Kermani Sheep using Real Time qPCR. Journal of Ruminant Research, 4: 119-132 (In Persian).

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-10-30]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1400.12.31.12.3]
[DOI: 10.52547/rap.12.31.134]

23. Janel, N., A.M. Dosne, B. Obert, D. Meyer and D. Kerbiriou-Nabias.1997. Functional characterization of bovine von Willebrand factor gene promoter in bovine endothelial cells demonstrates species-specific properties. Gene, 198: 127-134.
24. Kamalzadeh, A., M. Rajabbaigy and A. Kiasat. 2008. Livestock production systems and trends in livestock industry in Iran. Journal of agriculture and social sciences, 4: 183-188.
25. Karimi, V., N. Hedayat Evrigh, R. Seyed Sharifi and S. Nikbin. 2017. Invetigation of genetic structure of Khalkhali goat using mitochondrial genome. Novin Genetic Journal, 12(2): 217-227 (In Persian).
26. Keightley, A.M., Y.M. Lam, J.N. Brady, C.L. Cameron and D. Lillicrap. 1999. Variation at the von Willebrand factor (vWF) gene locus is associated with plasma vWF: Ag levels: identification of three novel single nucleotide polymorphisms in the vWF gene promoter. The Journal of the American Society of Hematology, 93(12): 4277-4283.
27. Kharrati Koopaei, H., M.R. Mohammad Abadi, S. Ansari Mahyari, A.R. Tarang, P. Potki, A.K. Esmailizadeh. 2012. Effect of DGAT1 variants on milk composition traits in Iranian Holstein cattle population. Animal Science Papers and Reports, 30(3): 231-240.
28. Kharrati Koopaei, H., M.R. Mohammadabadi, S. Ansari Mehyari, A.K. Esmailizadeh, A. Tarang, M. Nikbakhti. 2011. Genetic variation of DGAT1 gene and its association with milk production in Iranian holstein cattle breed population. Iranian Journal of Animal Science Research, 3(2): 185-192 (In Persian).
29. Korber, B. 2000. HIV Signature and Sequence Variation Analysis. Computational Analysis of HIV Molecular. Sequences, Chapter 4: 55-72. Allen G. Rodrigo and Gerald H. learn, eds. Dordrecht, Netherland: Kluwer Academic Publishers.
30. Lacquemant, C., C. Gaucher, C. Delorme, G. Chatellier, Y. Gallois, M. Rodier, P. Passa, B. Balkau, C. Mazurier, M. Marre and P. Froguel. 2000. Association between high von Willebrand factor levels and the Thr789Ala vWF gene polymorphism but not with nephropathy in type I diabetes. Kidney International, 57(4): 1437-1443.
31. Librado, P.R. and J. Rozas. 2009. DnaSP v5: software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. Journal of Bioinformatics, 25: 1451-1452.
32. Mohammad Abadi, M.R. and A. Mohammadi. 2010. Study of beta-lactoglobulin genotypes in native and Holstein cattle of Kerman province. Journal of Animal Productions, 12(2): 61-67.
33. Mohammadabadi, M.R. 2017. Role of clostridium perfringens in pathogenicity of some domestic animals. Journal of Advances in Agriculture, 7: 1117-1121.
34. Mohammadabadi, M.R. 2019. Dlk1 gene expression in Raini Cashmere goat using Real Time PCR. Agricultural Biotechnology Journal, 11: 191-205 (In Persian).
35. Mohammadabadi, M.R., A.H.D. Jafari and F. Bordbar. 2017. Molecular analysis of CIB4 gene and protein in Kermani sheep. Brazilian Journal of Medical and Biological Research, 5: e6177.
36. Mohammadabadi, M.R. and F. Tohidinejad. 2017. Characteristics determination of Rheb gene and protein in Raini Cashmere goat. Iranian Journal of Applied Animal Science, 7: 289-295.
37. Mogensen, K.E., M. Lewerenz, J. Reboul, G. Lutfalla and G. Uzé. 1999. The type I interferon receptor: structure, function and evolution of a family business. Journal of Interferon and Cytokine Research, 19: 1069-1098.
38. Nei, M. and S. Kumar. 2000. Molecular evolution and phylogenetics. Oxford University Press.
39. Ngandu, N.K., K. Scheffler, P. Moore, Z. Woodman, D. Martin and C. Seoighe. 2008. Extensive purifying selection acting on synonymous sites in HIV-1 Group M sequences. Virology Journal, 5: 1.
40. Okuyama Kishima, M., K. Brajão de Oliveira, C.B. Ariza, C.E.C. de Oliveira, R. Losi Guembarovski, B.K. Banin Hirata, F.C. de Almeida, G.A.F. Vitiello, K.P. Trugilo, A.F.M.L. Guembarovski and J.W. Sobrinho. 2015. Genetic polymorphism and expression of CXCR4 in breast cancer. Analytical Cellular Pathology, 2015: 289510.
41. Pasandideh, M., M.R., Mohammadabadi, A.K. Esmailizadeh and A. Tarang. 2015. Association of bovine PPARGC1A and OPN genes with milk production and composition in Holstein cattle. Czech Journal of Animal Science, 60: 97-104.
42. Petersen, D.C., R.H. Glashoff, S. Shrestha, J. Bergeron, A. Laten, B. Gold, E.J. van Rensburg, M. Dean and V.M. Hayes. 2005. Risk for HIV-1 infection associated with a common CXCL12 (SDF1) polymorphism and CXCR4 variation in an African population. Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes, 40(5): 521.
43. Petersen, G. and O. Seberg. 2003. Phylogenetic analyses of the diploid species of Hordeum (Poaceae) and a revised classification of the genus. Systematic Botany, 28: 293-306.
44. Phuphuakrat, A. and P. Auewarakul. 2003. Heterogeneity of HIV-1 Rev response element. AIDS Research and Human Retroviruses, 19: 569-574.
45. Pitt, D., N. Sevane, E.L. Nicolazzi, D.E. MacHugh, S.D.E. Park, L. Colli, R. Martinez, M.W. Bruford and P. Orozco-terWengel. 2019. Domestication of cattle: two or three events? Evolutionary Applications, 12(1): 123-136. doi: 10.1111/eva.12674.
46. 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: 2725-2729.

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-10-30]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1400.12.31.12.3]
[DOI: 10.52547/rap.12.31.134]

47. Teng, Y.H., T.H. Liu, H.C. Tseng, T.T. Chung, C.M. Yeh, Y.C. Li, Y.H. Ou, L.Y. Lin, H.T. Tsai and S.F. Yang. 2009. Contribution of genetic polymorphisms of stromal cell–derived factor- 1 and its receptor, CXCR4, to the susceptibility and clinicopathologic development of oral cancer. Head and Neck: Journal for the Sciences and Specialties of the Head and Neck, 31(10): 1282-1288.
48. Tohidi nezhad, F., M.R. Mohammadabadi, A.K. Esmailizadeh and A. Najmi Noori. 2015. Comparison of different levels of Rheb gene expression in different tissues of Raini Cashmir goat. Journal of Agriculture Biotechnology, 6: 35-50 (In Persian).
49. Yang, L., R. Guo, Z. Ju, X. Wang, Q. Jiang, Y. Liu, H. Zhao, K. He, J. Li and J. Huang. 2019. Production of an aberrant splice variant of CCL5 is not caused by genetic mutation in the mammary glands of mastitis-infected Holstein cows. Molecular Medicine Reports, 19(5): 4159-4166.
50. Zhang, Z.P., M. Blombäck, N. Egberg, G. Falk and M. Anvret. 1994. Characterization of the von Willebrand factor gene (VWF) in von Willebrand disease type III patients from 24 families of Swedish and Finnish origin. Genomics, 21(1): 188-193.
51. Zou, Y.R., A.H. Kottmann, M. Kuroda, I. Taniuchi and D.R. Littman. 1998. Function of the chemokine receptor CXCR4 in haematopoiesis and in cerebellar development. Nature, 393: 595.

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-10-30]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1400.12.31.12.3]
[DOI: 10.52547/rap.12.31.134]

Analysis of Genetic Differences in Genes Associated with Immune Response Among Purebred and Crossbreed Sistani and Montebeliarde Cow Populations using RNA-Seq Data

Batool Asghari Esfadan[1], Gholamreza Dashab[2], Mohammad Hossein Bonabazi[3] and Mohammad Rokouei[4]

1- PhD Student, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Zabol University, Zabol, Iran
2- Associate Professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Zabol University, Zabol, Iran, (Corresponding author: dashab@uoz.ac.ir)
3- Assistant Professor, Department of Biotechnology Research, Animal Science Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Karaj, Iran
4- Associate Professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Agriculture, Zabol University, Zabol, Iran
Received: 20 June, 2020 Accepted: 7 October, 2020

Abstract

Mutations during gene sequencing lead to nucleotide changes, resulting in new function in gene. The aim of the present study was to evaluate the genetic diversity and analysis the reasons for the differential expression of immune-related genes between the two populations of purebred and crossbreed Sistani and Montebeliarde cows. In this study, the results of the analysis of differential expression among the population of purebred and crossbreed Sistani and Montebeliarde cows using RNA-Seq data were used for genetic analysis and phylogenetic tree mapping. Clustal W nucleotide sequences were aligned using the MegaAlign software, and the phylogenetic tree and matrix of differences and similarities of the sequences were plotted. Based on the results of this study, the mean difference between nucleotides (nucleotide divergence) and the total number of mutations for the studied genes among purebred and crossbreed Sistani and Montebeliarde populations were in the range (2598-1869) and (3898-74) . Also, conserved regions make up a small part of the sequence of genes studied, indicating a high polymorphism of these genes and their susceptibility to nucleotide changes and mutations. The results of the phylogenetic tree for the nucleotide sequence of the studied genes showed that there is genetic diversity and divergence in the studied genes among purebred and crossbreed Sistani and Montebilliard and Indicus populations. The numerical value of the d_N/d_S ratio for the studied genes indicated the positive selection for these genes.

Keywords: Evolution, Genetic diversity, Mutations, Phylogenetic, Sistani cows

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-10-30]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1400.12.31.12.3]
[DOI: 10.52547/rap.12.31.134]