مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی - مولکولی
دوره هشتم، شماره سی ام - بهار۱۳۹۷

NCMBJ
Research Article
مقاله تحقیقی

تجزیه فیلوژنی و تکاملی توالی نوکلئوتیدی جایگاه ژن بتالاکتوگلوبولین

بتول اصغری ، غلامرضا داشاب *

گروه علوم دامی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

چکیده

سابقه و هدف: مطالعه حاضر به منظور آگاهی از روند تکاملی و مولکولی توالی نوکلئوتیدی جایگاه ژن بتالاکتوگلوبولین در پستانداران، آنالیز فیلوژنی و روند انتخاب طبیعی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: توالی نوکلئوتیدی جایگاه ژن بتالاکتوگلوبولین در گونه‌های مورد مطالعه از بانک اطلاعاتی ژنوم (NCBI) به‌دست آمده و هم‌تراز شدند. درصد جانشینی و جایگزینی نوکلئوتیدها با روش حداکثر درست‌نمایی و هم‌چنین ترسیم درخت فیلوژنتیک به روش Neighbor- Joining به‌دست آمدند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد جانشینی انتقالی بیش‌تر از جانشینی تقاطعی است و نسبت d_N/d_S برابر ۰/۷۰ محاسبه شد که نشان دهنده انتخاب خالص در طی تکامل این جایگاه ژنی است. نتایج درخت فیلوژنتیک نشان‌دهنده مسیرهای تکاملی مختلف ژن بتالاکتوگلوبولین در گونه‌های مختلف شامل پنج دسته از گونه‌های (گاو، بوفالو وگاومیش)، (گوسفند و بز)، اسب و گراز وحشی بود که گاو، بوفالو و گوسفند بیش‌ترین قرابت را داشتند.

بحث: جهش و انتخاب در طی سالیان گذشته سبب به‌وجود آمدن پروتئین‌های جدید، واریته‌های جدید و سبب تثبیت عملکرد آن‌ها در طی روند تکامل و پیشرفت در جهت خالص‌سازی عملکرد آنها گردیده است.

نتیجه‌گیری: بر اساس این تحقیق، نواحی حفاظت شده بخش اندکی از توالی ژن بتالاکتوگلوبولین را تشکیل می‌دهد که این امر نشان دهنده چندشکلی بالای این ژن و هم‌چنین مستعد بودن آن به تغییرهای نوکلئوتیدی و جهش می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: انتخاب طبیعی، بتالاکتوگلوبولین، پستانداران، روند تکاملی، فیلوژنی

مقدمه

بتا لاکتوگلوبولین (BLG)، پروتئین عمده آب پنیر شیر نشخوارگنندگان است که دارای وزن مولکولی برابر با ۱۸ کیلو دالتون (Kd) می‌باشد. در حیوانات دیگر از جمله اسب، سگ، خوک و گربه وجود دارد، ولی در انسان، خرگوش و موش وجود ندارد. در خوک و اسب به دو صورت BLGI و BLGII و در سگ و گربه نیز دارای ۲ و ۳ زیرمجموعه می‌باشد، در حالی که در نشخوارکنندگان فقط به یک شکل دیده می‌شود (۱۳).

توالی cDNA و ژنومیک BLG برای اولین بار در گوسفند توسط گایا در سال ۱۹۸۶ (۷)، گاو توسط هریس در سال ۱۹۸۸ (۹) و در بز توسط الکساندر در سال ۱۹۸۹ (۲)، شناسایی شده است. عملکرد قطعی فیزیولوژیکی، این ژن هنوز روشن نشده است، ولی از جمله فعالیت‌های آن می‌توان به موارد زیر اشاره کرد (۲): بتا لاکتوگلوبولین (BLG)، پروتئین لیپوکالین است که می‌تواند به بسیاری از مولکول‌های آب‌گریز اتصال یابد و نشان‌دهنده نقش آن در انتقال گروه‌ها است که از جمله این گروه‌ها می‌توان به انتقال رتینول در شیر اشاره نمود (۳)، که به کسب ایمنی غیرفعال از طریق آغوز کمک می‌کند (۱۲). هم‌چنین، در شرایط استرس به‌عنوان عامل کاهنده اثرهای استرس فعال می‌شود (۴).

نویسنده مسئول :
گروه علوم دامی، دانشگاه زابل
پستالکترونیکی: dashab@uoz.ac.ir
تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۲/۱۲
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۹/۳۰

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-11-04]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1397.8.30.7.2]

فیلوژنی مولکولی از اطلاعات توالی‌های نوکلئوتیدی برای احیا کردن روابط تکاملی بین گونه‌های مختلف و برآورد زمان واگرایی گونه‌ها استفاده می‌گردد. روابط فیلوژنتیک میان ژن‌ها و موجودات را می‌توان با یک درخت فیلوژنتیک شرح داد که قابل مقایسه با شجره‌نامه‌ای است که ژن‌ها یا موجودات بسیار شبیه را نشان می‌دهد و واژه‌های مختلف این نمودار (یعنی ریشه، ساقه، شاخه، گره و برگ) نیز یادآور درختان هستند. گره‌های خارجی (انتهایی) یا تاکسون باقی‌مانده که واحدهای تاکسونومی فعال نامیده می‌شوند، یک واژه ژنتیکی است که می‌تواند انواعی از تاکسون‌های قابل مقایسه را نشان دهد. گره‌های داخلی نیز به نام واحدهای تاکسونومیکی فرضی نامیده می‌شوند و تأکیدی بر این است که جد فرضی out[1]ها (واحدهای تاکسونومی فعال) هستند. گروهی از تاکسون‌ها که متعلق به شاخه‌های یکسانی هستند، منشأ منوفیلیتیک دارند، یک خوشه نامیده می‌شوند. الگوی شاخه‌زایی (یعنی ترتیب گروه‌ها) توپولوژی (Topology) درخت نامیده می‌شود (۱۶).

اشتباه در جایگزینی یک پورین با پورین دیگر و یک پیریمیدین با پیریمیدین دیگر، حالتی است که به آسانی رخ می‌دهد. این جهش‌ها، جهش انتقالی (Transition) نام دارند. جایگزینی پورین با پیریمیدین و عکس آن، جهش تقاطعی(Transversion) نامیده می‌شود. جهش در ژن‌هایی که به نتاج می‌رسند و حضور همزمان آن‌ها با ژن‌های اصلی به چندریختی(Polymorphism) می‌انجامد. تکامل پیامد دگرگونی در فراوانی آلل‌هاست که فراوانی ژن نامیده می‌شود. نظر به این که برخی آلل‌ها در طول زمان از دست می‌روند و فراوانی سایر آلل‌ها تا صددرصد افزایش می‌یابد، این آلل‌ها در جمعیت تثبیت می‌شوند. تکامل بلندمدت یک گونه، از تثبیت موفق آلل‌های خاص حاصل می‌شود که بازتاب پایداری جهش‌ها است. آهنگ پایداری این جهش‌ها در جمعیت، نرخ تکاملی یا نرخ پایداری نامیده می‌شود (۱).

بر اساس نظریه نرخ تکاملی پروتئین‌ها فاصله ژنتیکی دو توالی رمز کننده پروتئین یکسان، اما جدا شده از گونه‌های مختلف با زمان انشعاب دو گونه به‌طور خطی نسبت دارد. به‌علت این‌که پروتئین‌های متفاوت رفتار مشابهی نشان می‌دهند، فرض می‌گردد که نرخ تکاملی برای هر پروتئین معین در طول زمان ثابت است. این پیشنهاد اشاره به‌وجود یک نوع ساعت مولکولی دارد که در ژن‌های مختلف سریع‌تر یا کندتر کار می‌کند، اما در مورد هر ژن معین میان دودمان‌های مختلف فیلوژنتیک، نرخ ثابتی دارد. اگر ساعت مولکولی را برای زمان واگرایی در گونه‌های مختلف بپذیریم نرخ تکاملی یک ژن قابل محاسبه است، پس این اطلاعات به آسانی برای تعیین تاریخ ناشناخته انشعابی میان دو گونه فقط با مقایسه توالی DNA یا اسیدآمینه تعیین می‌شود؛ بالعکس، اگر اطلاعات مربوط به زمان انشعاب میان دو گونه شناخته شود، پس نرخ تکاملی نوکلئوتیدی از یک ژن معین قابل دستیابی است (۱).

بنابراین، هدف از مطالعه حاضر تعیین روابط تکاملی توالی‌های نوکلئوتیدی ژن بتالاکتوگلوبولین و نحوه انتخاب در طول تکامل است. ابتدا درخت فیلوژنتیک برای توالی‌های بتالاکتوگلوبولین که در بانک اطلاعاتی قابل دسترس هستند ترسیم می‌گردد و هم‌چنین با استفاده از این توالی‌ها، میزان، مسیر و محل‌های حساس به تغییرهایی در طول تکامل شناسایی می‌شود. با اجرای مراحل فوق در تحقیق حاضر می‌توان به شناخت کافی از ساختار ژنی بتالاکتوگلوبولین دست یافته و از آن‌ها در مطالعه‌های تکمیلی جهت دست‌یابی به آلل‌های ویژه برای بهبود صفت‌های تولیدی استفاده کرد.

مواد و روش‌ها

شناسایی و ویرایش توالی‌های ژنی بتالاکتوگلوبولین: به‌منظور شناسایی توالی‌های ژنی بتا لاکتوگلوبولین، اطلاعات مربوط به توالی‌های نوکلئوتیدی DNA و mRNA ژن بتا-لاکتوگلوبولین برای گاو شناسایی شد. هم‌چنین، با استفاده از ابزار BLAST در بانک‌های اطلاعاتی ژنوم، توالی ژنی بتالاکتوگلوبولین برای سایر گونه‌های مورد نظر نیز به‌دست آمد (جدول ۱). جهت مقایسه توالی‌ها و اطلاع از فراسنجه‌های ژنتیکی ابتدا توالی ژنی بتالاکتوگلوبولین در گاو با توالی سایر گونه‌ها با استفاده از Clustal W هم‌تراز شدند. سپس تعداد جهش‌ها، تنوع نوکلئوتیدی، تعداد جایگاه‌هایی که در آن‌ها جایگزینی مشابه یا غیرمشابه اتفاق افتاده، درصد تفرق ژنی،

[1]Operating Taxonomic Unite

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-11-04]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1397.8.30.7.2]

تبدیل ژنی (Conversion) و هم‌چنین تنوع آن‌ها با استفاده از نرم‌افزار Dnaspv5 (۹) محاسبه گردید.

فیلوژنی و تعیین مسیر تکاملی: ترسیم درخت فیلوژنتیک توالی ژن بتالاکتوگلوبولین برای گونه‌های مورد بررسی با استفاده از نرم‌افزار MEGA6 (۱۵) انجام گرفت. پس از ویرایش توالی‌ها و حذف نواحی غیر ناهمگون، درخت فیلوژنی با استفاده از روش اتصال-همسایگی (NJ) ترسیم گردید. در این روش از ماتریس (Q) استفاده می‌شود که مشتمل بر کل شاخه‌ها بوده و کم‌ترین مقدار که بیان کننده شباهت بالای دو شاخه باشد را انتخاب کرده و در یک انشعاب از درخت فیلوژنی به‌کار می‌برد. مقادیر Bootstrapping به‌وسیله ۱۰۰۰ بار نمونه‌گیری مجدد به‌دست آمدند. ترسیم درخت فیلوژنی به‌وسیله روش NJ با استفاده از رابطه ۱ انجام شد.

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

در رابطه بالا؛ $d(i, j)$: فاصله بین شاخه i و j، k: شاخه k ام درخت، r: تعداد کل شاخه‌ها و $Q(i, j)$: مقدار عددی شاخه‌های i و j است.

بررسی تغییرهای نوکلئوتیدی که باعث تغییر اسیدهای آمینه شده‌اند (d_N) نسبت به تغییرهای نوکلئوتیدی که تأثیری در اسید آمینه حاصله نداشته‌اند (d_S)، یک روش مفید و بسیار کارآمد جهت تشخیص روند انتخاب طبیعی در طول تکامل برای ژن‌ها می‌باشد (۱۱). بنابراین، با استفاده از مقدار عددی این نسبت ($d_N \backslash d_S$) روند انتخاب طبیعی برای ژن بتالاکتوگلوبولین با نرم‌افزار HIV_SNAP v2.1.1 (۷) محاسبه گردید. مقادیر d_N و d_S به‌ترتیب با استفاده از روابط ۲ و ۳ قابل محاسبه هستند.

$$(۲)\quad d_N = -۳/۴\ Ln(۱-۴/۳P_N)$$

$$(۳)\quad d_S = -۳/۴(۱-۴/۳P_S)$$

در روابط بالا، P_N، نسبت جایگاه‌های دارای جایگزینی نامشابه و P_S نیز نسبت جایگاه‌های دارای جایگزینی مشابه می‌باشند. معنی‌دار بودن مقدار عددی $d_N \backslash d_S$ با آزمون فیشر در سطح احتمال ۵ درصد بررسی گردید. هم‌چنین، در تحقیق حاضر برای شناسایی نواحی Open Reading Frame (ORF)، توالی ژن بتالاکتوگلوبولین گاو با شماره دست‌یابی بانک ژنی (X۱۴۷۱۲,۱)، از NCBI ORF Finder استفاده شد.

نتایج و بحث

اطلاعات مربوط به توالی نوکلئوتیدی جایگاه ژن بتالاکتوگلوبولین در گونه‌های اهلی و سایر موجودات مورد بررسی در جدول ۱ آورده شده است. تعداد کل جهش‌هایی که در طی تکامل این ژنها رخ داده است برابر ۴۹۳ جهش شناسایی شد که توزیع آن‌ها در طول ژنوم متفاوت بودند. تعداد جایگاه‌های چندشکل نیز ۲۸۴ جایگاه بود که روند انتخاب مثبت در این ژن‌ها را توجیه می‌کند.

درخت فیلوژنتیک روابط تکاملی توالی‌های نوکلئوتیدی این ژن‌ها را نشان می‌دهد (شکل ۱). مقادیر Bootstrapping بالا در محل انشعاب شاخه‌های درخت نشان می‌دهد که درخت فیلوژنی نوکلئوتیدهای موردنظر از درجه اعتماد بالایی برخوردار است.

نوکلئوتیدهای ژن بتالاکتوگلوبولین در گونه‌های مورد بررسی بر پایه مسیر تکاملی به پنج دسته تقسیم شدند. دسته اول مربوط به گونه‌های گاو، گاومیش و بوفالو دسته دوم مربوط به گونه‌های گوسفند و بز، دسته سوم، چهارم و پنجم به‌ترتیب مربوط به گونه‌های اسب، گربه و گراز وحشی (که به‌عنوان خوک وحشی نیز شناخته می‌شود)، بودند. طبق نتایج به‌دست آمده، گاو، بوفالو و گوسفند قرابت بیش‌تری داشتند. هم‌چنین، شباهت بالای درون گروه‌های گربه، اسب و دسته چهارم (گراز وحشی) دیده می‌شود.

ارتباط تکاملی موجودات را می‌توان بر اساس تشابه و همسانی توالی مولکولی آن‌ها درک نمود. اولین فرضیه در فیلوژنتیک بر این اساس است که توالی‌های مولکولی مورد استفاده در ساختار فیلوژنتیکی همولوگ هستند، یعنی یک جد مشترک دارند و در طی زمان از هم فاصله گرفته‌اند. واگرایی فیلوژنتیکی با دو شاخه شدن نشان داده می‌شود. بدین معنی که شاخه والدین به دو شاخه دختر، انشعاب می‌یابد. فرضیه دوم در فیلوژنتیک این است که هر ناحیه‌ای در توالی به‌صورت مستقل تکامل می‌یابد و تفاوت توالی‌ها، اطلاعات کافی و مفیدی را در جهت ساخت

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-11-04]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1397.8.30.7.2]

درخت‌های فیلوژنتیکی بدون ابهام فراهم می‌کنند. روش اتصال مجاور (NJ) ترسیم درخت فیلوژنی، درخت را با یافتن پی‌درپی جفت‌های نزدیک به‌هم رسم می‌کند، که جفت outها با یک گره‌ی داخلی به‌هم وصل می‌شوند. این روش تلاش نمی‌کند تا شبیه‌ترین outها را خوشه‌بندی کند، اما به‌جای آن، طول همه شاخه‌های داخلی و سپس طول کل درخت را حداقل می‌نماید. در ابتدا، اولین شاخه داخلی وارد می‌شود و طول درخت حاصل محاسبه می‌شود. الگوریتم پی‌درپی هر جفت ممکن از outها را متصل نموده و سرانجام جفت outهایی که منجر به کوتاه‌ترین درخت گردد را به‌هم وصل می‌کند. هنگامی که دو توالی واگرا باشد، به‌احتمال در یک موقعیت معین دو یا چند جهش متوالی رخ داده است (۱). در این خصوص همان‌طورکه در شکل (۱) مشخص شده است، توالی مربوط به یکی از گونه‌های گاو اهلی از سایر گونه‌های این گروه جدا شده است که به‌احتمال وجود جهش در این توالی، علت واگرایی آن از دیگر توالی گونه‌های مربوط به این گروه است. فاصله ژنتیکی حاصل از این رویدادهای چندگانه در دو توالی نسبت به آنچه از درصد تفاوت دو توالی به‌دست می‌آید، بیش‌تر است. هر چه توالی‌ها واگراتر باشد، اثر رویدادهای چندگانه بزرگ‌تر است.

سویار و همکاران نیز نتایجی مشابه با تحقیق حاضرگزارش نمودند. به‌طوری‌که طی گزارش آن‌ها بیش‌ترین قرابت ژنی مربوط به گاو، گوسفند و بوفالو بوده است و هم‌چنین شباهت بالای درون گروه‌های اسب، گربه و سگ گزارش کرده‌اند (۱۰). پیوتت و همکاران نیز با بررسی فیلوژنتیک پروتئین‌های مربوط به گروه لیپوکالین از جمله بتالاکتوگلوبولین، نتایجی مشابه با نتایج تحقیق حاضر گزارش می‌نمایند، به‌طوری‌که آن‌ها نیز بیش‌ترین قرابت ژنی را در گاو، گوسفند و بز و هم‌چنین شباهت بالایی در بین اسب، سگ و گربه را گزارش کردند (۱۴).

نتایج حاصل از تغییرهای نوکلئوتیدی که باعث تغییر اسیدهای آمینه شده‌اند (d_N) نسبت به تغییرهای 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 است (۱۱). 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 (۸). مقدار عددی این نسبت ($d_N \backslash d_S$) که برابر ۰/۷۰ است (جدول ۲) روند انتخاب خالص در طی تکامل برای ژن بتالاکتوگلوبولین را نشان می‌دهد.

جدول ۲. پارامترهای تعیین روند انتخاب طبیعی در جایگاه ژن بتالاکتوگلوبولین

پارامتر*	مقدار عددی	انحراف استاندارد
d_N	۰/۸۸	۰/۰۱۷
d_S	۱/۲۵	۰/۰۲۵
d_N/d_S	۰/۷۰	۰/۰۱

*تغییرهای نوکلئوتیدی که باعث تغییر اسیدهای آمینه شده‌اند (d_N)، تغییرهای نوکلئوتیدی که تأثیری در اسید آمینه حاصله نداشته‌اند (d_S)، مقدار عددی (d_N/d_S) نشان دهنده روند انتخاب طبیعی.

نتایج حاصل از درصد جابه‌جایی توالی نوکلئوتیدهای ژن بتالاکتوگلوبولین در جدول ۳ آورده شده است. مقادیر بالای جانشینی مربوط به بازهای پیریمیدینی است، به‌طوری‌که این مقدار برای تبدیل تیمین به سیتوزین ۲۳/۲۵ درصد و برای تبدیل سیتوزین به تیمین برابر ۱۳/۶۲ درصد محاسبه گردید. این مقادیر برای بازهای پورینی کم‌تر و به‌ترتیب برای تبدیل آدنین به گوانین و گوانین به آدنین برابر ۱۷/۳۲ و ۱۱/۰۷ درصد بودند.

مقادیر جایگزینی حاصل در این بررسی با مقادیر ذکر شده توسط سایر محققین که بیش‌ترین میزان جانشینی را جانشینی بازهای پیریمیدینی گزارش کرده‌اند، مطابقت دارد. علت این تغییرها را می‌توان به متیله شده سیتوزین نسبت داد. هم‌چنین، میزان جایگزینی بازهای پیریمیدینی به پورینی و پورینی به پیریمیدینی نیز ۱/۵۵ درصد بود.

نتایج حاصل از آنالیز نواحی حفاظت شده در قطعه هم‌تراز شده از ژن بتالاکتوگلوبولین در گونه‌ها و نژادهای مختلف آن‌ها نشان داد، که بخش کوچکی از توالی ژن بتالاکتوگلوبولین در طی روند تکامل حفظ شده است که این امر نشان دهنده چندشکلی بالای این ژن و هم‌چنین مستعد بودن آن به تغییرهای نوکلئوتیدی و جهش می‌باشد، که سبب به‌وجود آمدن

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-11-04]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1397.8.30.7.2]

پروتئین‌های جدید و هم‌چنین عملکردهای جدید آن شده است.

تفرق ژنتیکی مجموع کل ویژگی‌های ژنتیکی یک گونه است و به‌عنوان راه‌حلی در جهت سازگاری با تغییرهای محیطی شناخته شده است. به‌عبارت دیگر بیان‌گر تعدادی از افراد یک جمعیت است که دارای آلل‌هایی هستند که منطبق با شرایط محیطی می‌باشند و این افراد بیش‌ترین احتمال برای زنده‌مانی و شرکت در ایجاد نسل بعدی را دارند. برآوردها نشان داد که درصد تفرق بین گونه‌ها بر اساس روش آماری حداکثر درست-نمایی (ML) و نسبت جایگزینی کل، برابر با ۱/۳۶ بوده است. هم‌چنین، درصد تنوع نوکلئوتیدی ۰/۳۸ درصد به‌دست آمد.

تبدیل ژنی (conversion)، فرآیندی است که طی آن یک توالی DNA جایگزین توالی همولوگ آن می‌شود. این فرآیند می‌تواند به صورت آللی، به این معنی که یک آلل جایگزین یک آلل دیگر از همان ژن شود و یا به این صورت که یک توالی پارالوگ DNA تبدیل به دیگری شود، نیز تعریف می‌شود. تبدیل ژنی آللی در طی میوز رخ می‌دهد، که در طی آن نوترکیبی بین مکان‌های هتروزیگوتی منجر به عدم تطابق در جفت شدن بازها می‌شود. این عدم تطابق شناسایی شده و توسط فرآیندهای سلولی اصلاح می‌شود که منجر به تبدیل آللی به آلل دیگر می‌شود. تبدیل ژنی یک فرآیند اساسی ژنتیکی در جدایی گونه‌هاست، که به‌عنوان شبکه اتصال دهنده بین توالی‌های DNA در بین افراد یک گونه عمل می‌کند که این شبکه منجر به یکسان سازی، انسجام و یک‌پارچگی توالی DNA در بین گونه‌ها می‌شود (۱).

در این تحقیق، براساس آنالیز صورت گرفته جهت شناسایی نواحی که در آن‌ها تبدیل صورت گرفته با استفاده از نرم‌افزار Dnaspv5، ده ناحیه در بین توالی‌ها شناسایی شد که در آن‌ها تبدیل ژنی رخ داده است (جدول۴).

همانگونه که قبلا ذکر شده است، برای شناسایی نواحی (ORF) Open Reading Frame، توالی ژن بتالاکتوگلوبولین گاو با شماره دست‌یابی بانک ژنی X۱۴۷۱۲,۱، از NCBI ORF Finder استفاده شد، کد آغازین ATG و کد پایانی آن نیز TGA بود که در (شکل ۳) نشان داده شده است.

نتیجه گیری

به‌طورکلی نتایج تحقیق حاضر نشان داد که ژن بتالاکتوگلوبولین از پراکندگی کروموزومی و وظایف بیولوژیکی مختلفی برخوردار است. بر اساس این تحقیق، نواحی حفاظت شده بخش اندکی از توالی ژن بتالاکتوگلوبولین را تشکیل می-دهد که این امر نشان‌دهنده چندشکلی بالای این ژن و هم-چنین مستعد بودن آن به تغییرهای نوکلئوتیدی و جهش می-باشد. تعداد کل جهش‌هایی که در طی تکامل این جایگاه ژنی رخ داده است برابر ۴۹۳ و همچنین تعداد جایگاه‌های چندشکل نیز ۲۸۴ محاسبه شد که روند انتخاب مثبت در این ژن‌ها را توجیه می‌کند و این امر نقش عمده‌ای در شناخت وظیفه بیولوژیکی این ژن خواهد داشت که سبب به‌وجود آمدن پروتئین‌های جدید و هم‌چنین عملکردهای جدید می‌شود. هم-چنین، نتایج نشان داد که بیش‌ترین میزان جانشینی بازها مربوط به بازهای پیریمیدینی بود که در تمامی قسمت‌های ژن پراکنده‌اند. هم‌چنین، درصد تفرق بین گونه‌ها در این بررسی برابر با ۱/۳۶ محاسبه شد.

جدول ۱- گونه، اسم علمی، اندازه ژن و شماره دست‌یابی توالی‌های ژن بتالاکتوگلوبولین استفاده شده در آنالیز فیلوژنی و روند تکاملی

ردیف	گونه مورد بررسی	شماره دستیابی بانک ژن	اندازه ژن (جفت باز)
۱	Bovine (گاو)	X۱۴۷۱۲,۱	۷۹۰
۲	Capra_hircus (بز)	Z19569.1	۷۸۶
۳	Bos_mutus (گاو کوهان‌دار)	XM_014481456.1	۹۳۰
۴	Sus_scrofa (گراز وحشی)	XM_013993953.1	۷۹۵
۵	Bos_mutus (گاو کوهان‌دار)	XM_005888515.2	۹۶۱

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-11-04]

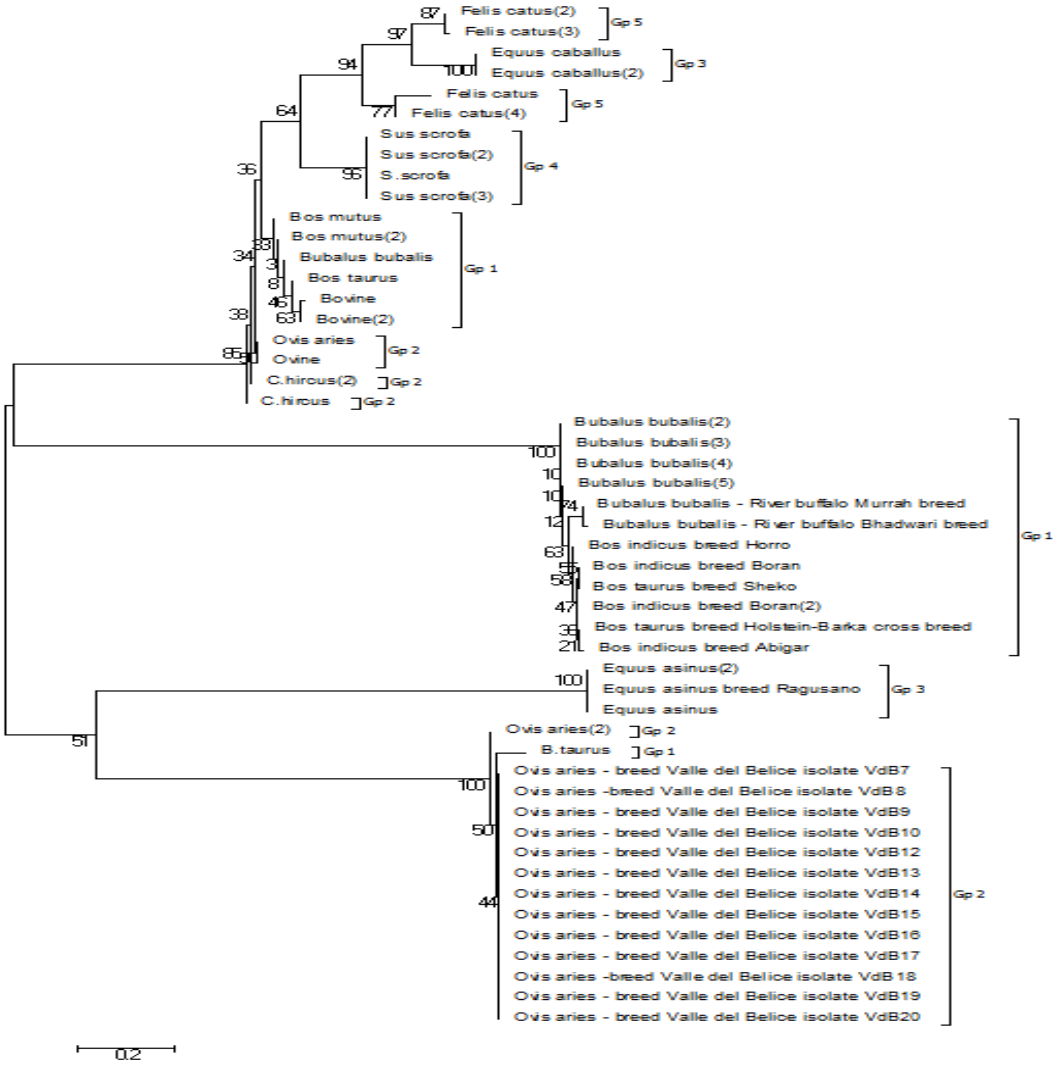
[DOR: 20.1001.1.22285458.1397.8.30.7.2]

٦	B.taurus(گاو اهلی)	X63139.1	۸۵۴
۷	C.hircus (بز)	X58471.1	۷۵۵
۸	S.scrofa (گراز وحشی)	X54976.1	۷۷۸
۹	Bovine (گاو)	X14712.1	۷۹۰
۱۰	Ovis aries (گوسفند)	X12817.1	۷۳۷۹
۱۱	Ovine (گوسفند)	X04520.1	۷۸۵
۱۲	Equus caballus (اسب)	U60978.1	۷۲۸
۱۳	Sus scrofa (گراز وحشی)	NM 213754.2 |	۷۹۵
۱۴	Bos taurus (گاو اهلی)	NM 173929.3	۸۷۹
۱۵	Equus caballus (اسب)	NM 001082494.1	728
۱۶	Ovis aries (گوسفند)	NM 001009366.1	785
۱۷	Bovine (گاو)	M19088.1	601
۱۸	Equus asinus breed Ragusano (اسب)	KU934236.2	۲۰۱۷
۱۹	Bos indicus breed Abigar (گاو کوهان‌دار)	HQ877769.1	۴۷۷
۲۰	Bos taurus breed Holstein (گاو اهلی)	HQ589927.1	۴۷۵
۲۱	Bos indicus breed Horro (گاو کوهان‌دار)	HQ589926.1	۴۶۳
۲۲	Bos taurus breed Sheko (گاو اهلی)	HQ589925.1	۴۷۲
۲۳	Bos indicus breed Boran (گاو کوهان‌دار)	HQ589924.1	۴۶۶
۲۴	Bos indicus breed Boran (گاو کوهان‌دار)	HQ589923.1	۴۶۸
۲۵	Equus asinus (اسب)	HM012800.1	۴۵۵۰
۲۶	Equus asinus (اسب)	HM012799.1	۴۵۵۰
۲۷	Ovis aries (گوسفند)	FR821310.1	۲۱۴۷
۲۸	Ovis aries (گوسفند)	FR821309.1	۲۱۴۷
۲۹	Ovis aries (گوسفند)	FR821308.1	۲۱۴۷
۳۰	Ovis aries (گوسفند)	FR821307.1	۲۱۴۷
۳۱	Ovis aries (گوسفند)	FR821306.1	۲۱۴۷
۳۲	Ovis aries (گوسفند)	FR821305.1	۲۱۴۷
۳۳	Ovis aries (گوسفند)	FR821304.1	۲۱۴۶
۳۴	Ovis aries (گوسفند)	FR821303.1	۲۱۴۶
۳۵	Ovis aries (گوسفند)	FR821302.1	۲۱۴۷
۳۶	Ovis aries (گوسفند)	FR821300.1	۲۱۴۷
۳۷	Ovis aries (گوسفند)	FR821299.1	۲۱۴۷
۳۸	Ovis aries (گوسفند)	FR821298.1	۲۱۴۷
۳۹	Ovis aries (گوسفند)	FR821297.1	۲۱۴۷
۴۰	Bubalus bubalis (بوفالو)	AY775802.1	۴۰۰
۴۱	Bubalus bubalis (بوفالو)	AY775801.1	۴۰۰
۴۲	Bubalus bubalis (بوفالو)	AY775800.1	۴۰۰
۴۳	Bubalus bubalis (بوفالو)	AY775799.1	۴۰۰
۴۴	Sus scrofa (گراز وحشی)	AY372187.1	۵۵۱
۴۵	Bubalus bubalis (بوفالو)	AJ492506.1	۳۹۸
۴۶	Bubalus bubalis (بوفالو)	AJ492505.1	۳۹۸
۴۷	Bubalus bubalis (بوفالو)	AJ005429.1	۷۴۲
۴۸	Felis catus (گربه اهلی)	AF073785.1	۶۲۹

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-11-04]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1397.8.30.7.2]

۴۹	Felis catus (گربه اهلی)	AF073784.1	۶۴۳
۵۰	Felis catus (گربه اهلی)	AF073783.1	۶۴۳
۵۱	Felis catus (گربه اهلی)	AF073782.1	۶۳۴



شکل ۱. درخت فیلوژنتیک توالی‌های نوکلئوتیدی ژن بتالاکتوگلوبولین در گونه‌های مورد بررسی (۰/۲ نرخ جایگزینی نوکلئوتیدها در هر جایگاه)

جدول۳- درصد جابه‌جایی توالی نوکلئوتیدهای ژن بتالاکتوگلوبولین در گونه‌های مورد بررسی بر اساس روش حداکثر درست‌نمایی

نوکلئوتید[1]	A	T/U	C	G
A	-	۳/۰۵	۵/۲۱	**۱۷/۳۲**
T	۳/۵۳	-	**۲۳/۲۵**	۵/۵۴
C	۳/۵۳	**۱۳/۶۲**	-	۵/۵۴
G	**۱۱/۰۷**	۳/۰۵	۵/۲۱	-

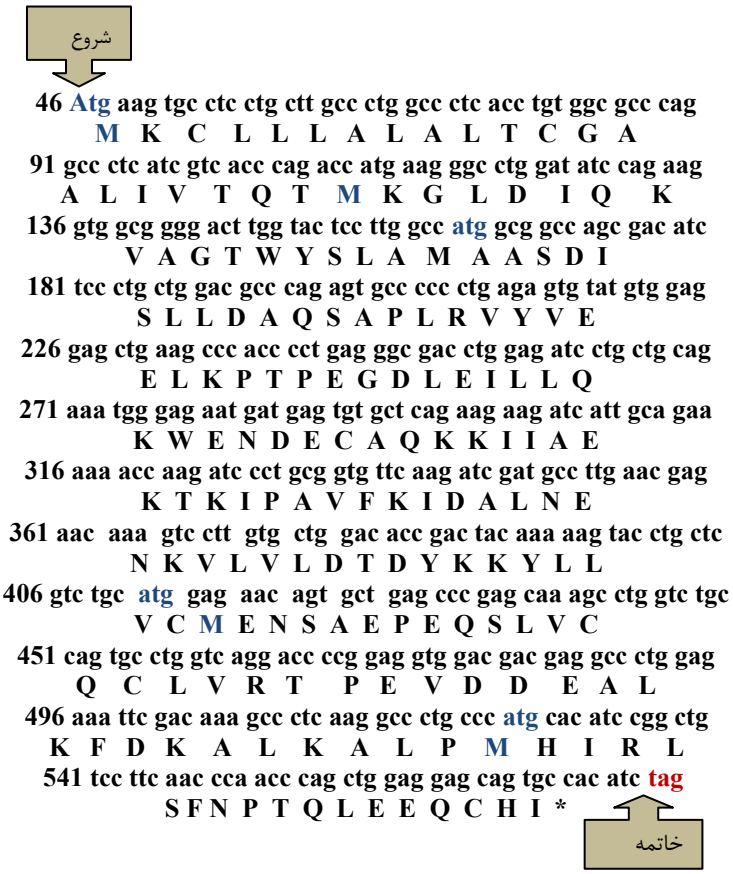
[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-11-04]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1397.8.30.7.2]

[1]درصد جانشینی بازها از یک ردیف به ستون را نشان می‌دهد. اعداد خارج قطر نشان دهنده جانشینی تقاطعی (*ایتالیک*) و اعداد روی قطر درصد جانشینی انتقالی (**بولد**) هستند.

جدول۴– نواحی تبدیل ژنی در جایگاه ژن بتالاکتوگلوبولین در بین گونه‌های مورد مطالعه

ناحیه تبدیل ژنی	نقطه مرکزی تبدیل	سطح معنی‌داری(Psi)
(Bubalus) ۱-۱۰۰	۵۰	۰/۲۱
(Equus) ۲۶ -۱۲۵	۷۵	۰/۲۰
(Equus) ۵۱-۱۵۰	۱۰۰	۰/۲۲
(Equus) ۷۶ -۱۷۵	۱۲۵	۰/۲۰
(Bovine)۱۰۱-۲۰۰	۱۵۰	۰/۱۹۸
(Bovine) ۱۲۶ -۲۲۵	۱۷۵	۰/۱۹۷
(Bos) ۱۵۱-۲۵۰	۲۰۰	۰/۲۰
(Ovis)۱۷۶ -۲۷۵	۲۲۵	۰/۱۹۵
(Bovine) ۲۰۱-۳۰۰	۲۵۰	۰/۲۲
(Bovine) ۳۰۳ -۲۲۶	۲۶۳	۰/۲۳



شکل۲- شناسایی نواحی ORF جایگاه ژن بتالاکتوگلوبولین

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-11-04]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1397.8.30.7.2]

منابع

۱. نساج حسینی م.، شمس بخش، م. روش‌های آنالیز فیلوژنتیکی.چاپ اول،انتشارات حق‌شناس،۱۳۸۹، ۲۳۹ص.

2. Alexander, L.J., Hayes, G., Pearse, M.J., Biattie, C.W., Stewart, A.F., Willis, I.M. and Mackinlay, A.G. Complete sequence of bovine P-lactoglobulin cDNA, Nucleic. Acids. Res., 1989.17, 6739.
3. Ali, S. and Clark, A.J. Characterisation of the gene encoding ovine P-Iactoglobulin: similarity to the genes for retinol-binding protein and other secretory proteins. Mol. Bid.,1988. 199, 415426.
4. Alston-Mills, B. and Thompson, M.P. A possible mechanism of action of P-lactoglobulin, J. Dairy. Sci. 1993. 76, p. 196.
5. Gaye. P., Hue-Delahaie, D., Mercier, J.C., Soulier, S., Vilotte, J.L. and Furet, J.P. Ovine P-lactoglobulin messenger RNA: nucleotide sequence and mRNA levels during functional differentiation of the mammary gland, Biochirnie,1986. 68, p. 1097-1107.
6. Hariss, S., Ali, S., Anderson, *S.,* Archibald, A.L.and Clark, A.J. Complete nucleotide sequence of the genomic ovine P-lactoglobulin gene, Nucieic. Acids. Res.,1988. 16, p. 10379-10380.
7. Korber, B. HIV Signature and Sequence Variation Analysis. Computational Analysis of HIV Molecular Sequences, 2000. Chapter 4, pages 55-72. Allen G. Rodrigo and Gerald H. Learn, eds. Dordrecht, Netherlands: Kluwer Academic Publishers.
8. Li, W.H. Molecular Evolution. Sinauer, Sunderland, MA. 1997.
9. Librado, P. & Rozas, J. DnaSP v5: software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. Journal of Bioinformatics, 2009. 25, p. 1451-1452.
10. Nei, M. and S. Kumar. Molecular evolution and phylogenetics. New York: Oxford University Press. 2000. p. 51-72.
11. Papiz, M.Z., Sawyer, L., Eliopoulos, E.E., North, A.C.T., Findlay, J.B.C., Sivaprasadarao, R., Jones, T.A., Newcomer, M.E. and Kraulis, P.J. The structure of p-lactoglobulin and its similarity to retinol-binding protein, Nature, 1986. 324, p. 383-385.
12. Pervaiz, S. and Brew, K. Homology of P-lactoglobulin. Serum retinol-binding protein, and protein HC, Scienc, 1998. 228, p. 335-337.
13. Piotte, C.P., Marshall, C.J., Hubbard, M.J., Collett, C. and Grigor, M.R. Phylogenetic Analysis of Three Lipocalin-Like Proteins Present in the Milk of *Trichosurus vulpecula* (Phalangeridae, Marsupialia). J Mol Evol. 1997. 46: p. 361–369.
14. Sawyer, L.and Kontopidis, G. The core lipocalin, bovine L-lactoglobulin, Elsevier Science B.V. 2000. p. 136-148.
15. Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A. and Kumar, S. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. Molecular Biology and Evolution, 2013. 30:p. 2725-2729.
16. Techenmacher, H. and Koch, G. Opioids in the milk, Etidocrine Reg., 1991. 25, p. 147-150.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-11-04]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1397.8.30.7.2]

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-11-04]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1397.8.30.7.2]