نشریه پژوهش‌های علوم دامی/ جلد ۲۲ شماره ۱/ سال۱۳۹۱

بررسی چند شکلی ژن کالپاستاتین در گاو هلشتاین و گاومیش به کمک روش PCR-RFLP

النا دهنوی[1*]، مجتبی آهنی آذری[2]، مریم حیدری[1] و سمیه پاشایی[1]

تاریخ دریافت: ۸۹/۱۱/۲۴ تاریخ پذیرش: ۹۰/۹/۲۰

[1] دانشجوی کارشناسی ارشد، دانش آموخته کارشناسی ارشد و دانشجوی دکتری گروه علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

[2] استادیار گروه علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

[*]مسئول مکاتبه: E mail: e.dehnavi@yahoo.com

چکیده

یکی از بهترین روش هایی که می تواند باعث بهبود صحت پیش بینی و پاسخ به انتخاب شود، انتخاب براساس نشانگرها است. ژن کالپاستاتین در بررسی افزایش وزن و کیفیت گوشت به عنوان ژن کاندیدا شناخته شده است. این ژن روی کروموزوم شماره ۷ گاو قرار دارد که در شکل گیری، تجزیه بافت عضلانی و تردی گوشت بعد از کشتار موثر است. به منظور بررسی چند شکلی ژن کالپاستاتین از ۵۰ رأس گاو هلشتاین موجود در شرکت بهین تلیسه واقع در کیلومتر۵ جاده قدیم گرگان-کردکوی و ۴۰ رأس گاومیش موجود در شرکت کشاورزی و دامپروری میانکاله (بهشهر) بطور تصادفی خونگیری به عمل آمد. استخراج DNA از خون تام به کمک روش بهینه یافته نمکی انجام گرفت و واکنش زنجیره پلی مراز (PCR) جهت تکثیر قطعه ۶۲۲ جفت بازی از اگزون و قسمتی از انترون ۱ ناحیه L ژن کالپاستاتین انجام شد. هضم قطعه تکثیر شده به وسیله آنزیم *MSPI* وجود دو آلل M و N را آشکار کرد. ژنوتیپ های MM، MN و NN بترتیب با فراوانی‌های ۴۶، ۵۴ و ۰ درصد برای گاو هلشتاین و فراوانی های ۰، ۴۵ و ۵۵ درصد برای گاومیش و فراوانی آلل های M و N بترتیب۰/۷۳ و ۰/۲۷ برای گاو هلشتاین و فراوانی آللی ۰/۲۲۵ و ۰/۷۷۵ برای گاومیش برآورد گردیدند. آزمون کای- مربع تعادل هاردی-واینبرگ را در جمعیت هلشتاین نشان نداد ($P<0/05$) در صورتی که این تعادل در جمعیت گاومیش برقرار بود. با توجه به نقش کالپاستاتین بر کیفیت گوشت به نظر می رسد این ژن می تواند بعنوان نشانگر مولکولی برای اصلاح کیفیت گوشت مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: چندشکلی، ژن کالپاستاتین، PCR-RFLP، گاومیش، گاو هلشتاین

Study of polymorphism of Calpastatin gene in Holstein cattle and Buffalo using PCR-RFLP method

E Dehnavi[1*] and M Ahani Azari[2], M Heidari [1] and S Pashaii[1]

[1]MSc Student, MSc Graduated Student and PhD Student, Department of Animal Science, University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
[2]Assistant professor, Department of Animal Science, University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
[*]Corresponding author E mail: e.dehnavi@yahoo.com

Abstract
Marker assistant selection is one of the best methods to improve the accuracy of prediction and response to selection. In studies related to weight gain and meat quality Calpastatin gene has been identified as a candidate gene. This gene is located on cattle chromosome 7 and is effective on formation, lysis of muscle texture and meat tenderness after slaughtering animals. In order to study polymorphism of Calpastatin gene in Holstein cattle 50 animals from Behin Taliseh corporation were randomly sampled. DNA extraction was carried out by modified salting out method. Polymerase chain reaction was performed to amplify a 622bp fragment of the L region of exon and entron 1 of this gene. Restriction reaction of PCR products was done using *MspI* enzyme. Then all the animals were genotyped base on digested fragment profile, respectively. Frequencies of MM, MN and NN genotypes were 46%, 54% and 0% for Holstein cattle and 0%, 45% and 55% for Buffalo. Frequencies of M and N alleles were 0.73 and 0.27, respectively for Holstein cattle and 0.225 and 0.775 for Buffalo. Results showed that this locus was not at Hardy–Weinberg equilibrium in the Holstein cattle (P<0.05) while Buffalo herd showed equilibrium.

Key words: Calpastatin gene, Polymorphism, PCR-RFLP, Buffalo, Holstein cattle

مقدمه

گوشت قرمز یکی از اصلی ترین منابع تأمین پروتئین مورد نیاز بدن می باشد. کیفیت گوشت مصرفی تحت تأثیر خصوصیات مختلفی از قبیل ظاهر، رنگ، محتوی چربی، مزه و بافت و تردی آن است که به همین دلیل بررسی ژن های موثر بر تردی گوشت ضروری به نظر می رسد (جوانمرد و اسدزاده ۱۳۸۳). هزینه زیاد یا مشکل بودن رکوردبرداری برای برخی از صفات اقتصادی عامل محدودکننده در بهبود ژنتیکی آنها با استفاده از روش های سنتی اصلاح نژاد، که فقط از داده های فنوتیپی برای ارزیابی ژنتیکی حیوانات استفاده می کنند، می باشد. امروزه فن آوری های مولکولی به شکل نشانگرهایی که تفاوت افراد را در سطح DNA آنها نشان می دهند، می توانند نقش مهمی در بهبود ژنتیکی این صفات پیچیده از طریق انتخاب به کمک نشانگر یا ژن داشته باشند. یکی از مهمترین صفات اقتصادی در دام های پرواری خصوصیات کمی و کیفی گوشت لاشه است که در گذشته تنها بعد از کشتار حیوان قابل رکوردبرداری بوده است.

در سال ۱۹۷۵ دایتون و همکاران که میزان فعالیت پروتئازی نوعی از کالپاین ها را در روی میوفیبریل های عضله خوک بررسی می نمودند، پی به وجود پروتئینی در عضلات مخطط بردند که بعدها توسط تاکاشی موراچی در سال ۱۹۷۹ کالپاستاتین[1] نام گرفت (موراچی ۱۹۸۹). ژن کالپاستاتین به طول ۱۰۰جفت باز بر روی کروموزوم شماره ۵ گوسفند قرار دارد (هانگ و همکاران ۱۹۹۴). این ژن در گاو روی کروموزوم

[1] - Calpastatin

شماره ۷ (بی شاپ و همکاران ۱۹۹۴) جای دارد. انتهای ´۵ پروموتور ژن کالپاستاتین در بسیاری از گونه ها غنی از توالی GC است و جعبه TATA ندارد. این چنین خصوصیتی ویژه ژنهای خانه دار[1] است که کالپاستاتین نیز جزء این ژنها به شمار می آید. بنابراین، مطالعه این ژن در سنین مختلف امکان پذیر می باشد. از سوی دیگر ژنهای خانه دار معمولاً یک سیستم آنزیمی به وجود می آورند که هر گونه تغییر در نسبت این آنزیم ها موجب بروز بیماریهای مختلف می شود که اهمیت مطالعه این ژن را بیان می کند (هانگ و همکاران ۱۹۹۴). همچنین از آنجایی که فعالیت کالپاستاتین وراثت پذیری بالایی دارد (h^2=۰/۶۵± ۰/۱۹) بنابراین، امکان حصول پاسخ ژنتیکی سریع در انتخاب علیه فعالیت این ژن وجود دارد که می تواند منجر به بهبود صفت تردی گوشت حیوانات شود. به عبارت دیگر با کاهش فعالیت این ژن تردی گوشت بهبود پیدا می کند (شاکلفورد و همکاران ۱۹۹۴). کالپاستاتین در ارتباط با کالپاین سیستم پروتئازی وابسته به یون Ca^{+2} به نام سیستم کالپاین-کالپاستاتین تشکیل می دهند. این سیستم در فرآیندهای فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی وابسته به کلسیم از قبیل تمایز مایوبلاست و یاخته های چربی، توسعه و تجزیه عضلات، تردی گوشت بعد از کشتار، فرآیند تمایز اندام، سیکل سلولی، تشکیل آب مروارید، نقل و انتقالات سلولی و مرگ سلولی موثر است (گول و همکاران ۲۰۰۳). مشخص شده است که تجزیه پروتئین های میوفیبریل، مسئول تردشدن گوشت پس از کشتار است و چنین به نظر می رسد که کالپاستاتین اولین مهارکننده اختصاصی کالپاین می باشد و مانع عمل کالپاین در بافت مرده می شود و به این ترتیب سرعت و میزان تردشدن گوشت را کنترل می کند (کوهمرایی و همکاران ۱۹۸۷).

مطالعات اولیه در خصوص مکان یابی و تعیین توالی ژن کالپاستاتین در گوسفند توسط کولینگوود و همکاران (۱۹۹۲) و سپس توسط کیلفر و کوهمرایی (۱۹۹۴) در ماهیچه گاو صورت گرفته است. مطالعات مربوط به تنوع آللی در این جایگاه در گوسفند نیز اولین بار توسط پالمر و همکاران (۱۹۹۸) انجام شده است. آنان با استفاده از تکنیک RFLP-PCR توانستند دو آلل M و N به ترتیب با فراوانی های ۷۷ و ۲۳ درصد در گوسفندان نژاد دورست داون گزارش کنند. در خصوص تأثیر ژنوتیپ های مختلف این ژن بر روی خصوصیات مختلف تولیدی دام ها گزارش های گوناگونی ارایه شده است. مثلا پالمر و همکاران (۱۹۹۹) در مطالعه ای سه سیستم آللی (A، B و C) را برای این ژن در گوسفندان نژاد دورست داون و کوپ ورت گزارش کردند. در آن بررسی ژنوتیپ AC به طور معنی داری با وزن زنده و افزایش وزن لاشه در مقایسه با ژنوتیپ AA مرتبط بود. بررسی فراوانی آللی ژن فوق توسط چندین محقق در کشور انجام شده است که نتایج مشابه و یا کاملا متفاوتی در آنها ذکر شده است (افتخارشاهرودی و همکاران ۱۳۸۳، الیاسی و همکاران۱۳۸۷، بهرامپور و همکاران ۱۳۸۷، ترابی و همکاران ۱۳۸۷ و نصیری و همکاران ۲۰۰۷).

هدف از اجرای این پژوهش بررسی فراوانی آللی و ژنوتیپی ژن کالپاستاتین در گاو هلشتاین و گاومیش بود.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از ۵۰ رأس گاو هلشتاین موجود در شرکت بهین تلیسه واقع در کیلومتر۵ جاده قدیم گرگان-کردکوی و ۴۰ رأس گاومیش موجود در شرکت کشاورزی و دامپروری میانکاله (بهشهر) استفاده شد و از ورید دمی خونگیری به عمل آمد. استخراج DNA از خون تام به کمک روش بهینه یافته نمکی[2] (میلر و همکاران ۱۹۸۸) انجام گرفت. تعیین کمیت و کیفیت DNA به روش اسپکتروفتومتری و الکتروفورز روی ژل آگارز ۰/۸ درصد انجام گرفت. واکنش زنجیره ای پلی مراز (PCR) جهت تکثیر قطعه ۶۲۲ جفت بازی از اگزون و قسمتی از انترون ۱ ناحیه L ژن کالپاستاتین با استفاده از پرایمرهایی که توسط کیلفر و کوهمرایی

[1] - House keeping

[2] Modified salting out

(۱۹۹۴) طراحی شده (شماره دسترسی L_{14450} در بانک جهانی) استفاده شد. توالی آغازگرهای مستقیم و معکوس به طول ۲۴ جفت باز به صورت زیر می باشد:
'F:5'-TGGGGCCCAATGACGCCATCGATG-3
'R:5'-GGTGGAGCAGCACTTCTGATCACC-3
برای تکثیر DNA در این تحقیق از دستگاه ترموسایکلر مدل™ Personal Cycler شرکت بیومترا استفاده شد و جهت انجام واکنش زنجیره ای پلیمراز برای هر ژن از مستر کیت شرکت سینا کلون با شماره PR8250C در حجم نهایی ۱۵ میکرولیتر استفاده شد. این کیت حاوی master mix با ترکیبTaq DNA Polymerase با غلظت ۰/۰۴ واحد بر میکرولیتر، بافر PCR، $MgCl_2$ با غلظت ۳ میلی مولار، dNTPs هر کدام با غلظت ۰/۰۴ میلی مولار، آب فاقد یون[1] و روغن معدنی بود. در هر واکنش ۷/۵ میکرولیتر master mix، ۱میکرولیتر DNA با غلظت ۱۰۰-۵۰ نانوگرم در میکرولیتر، ۲ میکرولیتر مخلوط آغازگرها با غلظت۱۰ پیکومول بر میکرولیتر استفاده شد و برای رساندن حجم نهایی نمونه به ۱۵ میکرولیتر از آب فاقد یون استفاده شد. برنامه PCR شامل دمای واسرشت شدن اولیه ۹۵ درجه سانتیگراد به مدت ۳ دقیقه، ۳۵ چرخه دمایی با دمای واسرشت ۹۵ درجه سانتیگراد به مدت ۱ دقیقه، دمای اتصال ۵۹ درجه سانتیگراد به مدت ۱ دقیقه، دمای تکثیر ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۲ دقیقه و دمای تکثیر نهایی ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۷ دقیقه بود. الکتروفورز فرآورده های PCR بر روی ژل آگارز ۱/۵٪ انجام شد و جهت رنگ آمیزی از اتیدیوم بروماید با غلظت ۱۰µl/µg استفاده گردید. نشانگر وزنی استاندارد[2] جهت اندازه‌گیری قطعه تکثیر شده مورد استفاده قرار گرفت. جهت انجام واکنش هضمی، ۱۰ میکرولیتر از محصول PCR با ۱۰ واحد از آنزیم *MspI* در حجم نهایی ۳۲ میکرولیتر و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۱۶ ساعت انکوبه شد. سپس محصولات هضم بر روی ژل آگارز ۲/۵٪ الکتروفورز گردید. آلل ها طبق روش نامگذاری پالمر و همکاران (۱۹۹۸) که براساس هضم و یا عدم هضم و نام اول آنزیم بود انجام شد. محاسبه فراوانی های ژنوتیپی و آللی و بررسی تعادل هاردی-واینبرگ با استفاده از نرم افزار PopGen 32 انجام گرفت (یه و همکاران ۲۰۰۰).

نتایج

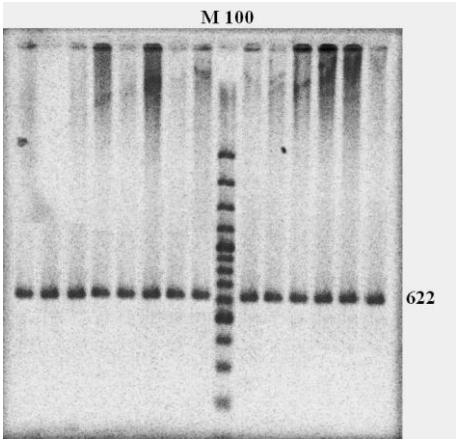
استخراج DNA با روش مورد استفاده منجر به حصول مقادیر بالایی از DNA ژنومی شد و به نظر می رسد که این مولکول ها به علت داشتن طول زیاد و خلوص بالا، جهت کارهای مهندسی ژنتیک و آزمایشات مولکولی بسیار مناسب باشند. همان طور که انتظار می رفت قطعه ۶۲۲ جفت بازی از ژن CAST شامل قسمت هایی از اگزون و اینترون ۱ ناحیه L تکثیر شد که با استفاده از نشانگر وزنی استاندارد اندازه قطعه مورد نظر تأیید شد (شکل۱).

قطعه ۶۲۲ جفت بازی تکثیر شده از مکان ژنی CAST توسط آنزیم برشی *MspI* هضم شده و سه ژنوتیپ MM، MN و NN در آنها شناسایی شدند (جدول۱). این الگوی نواری در شکل ۲ و۳ نشان داده شده است. فرآوانی های آللی و ژنوتیپی و آزمون کای-مربع در جدول ۲ آورده شده است.

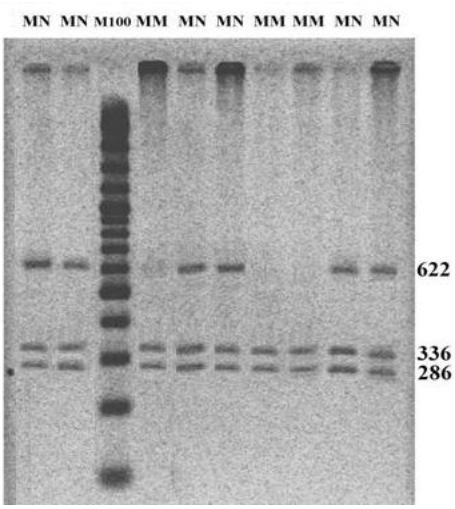
جدول ۱- اندازه قطعات مربوط به ژنوتیپ‌های ژن کالپاستاتین

ژنوتیپ	اندازه قطعات(bp)
MM	۲۸۶، ۳۳۶
MN	۲۸۶، ۳۳۶، ۶۲۲
NN	۶۲۲

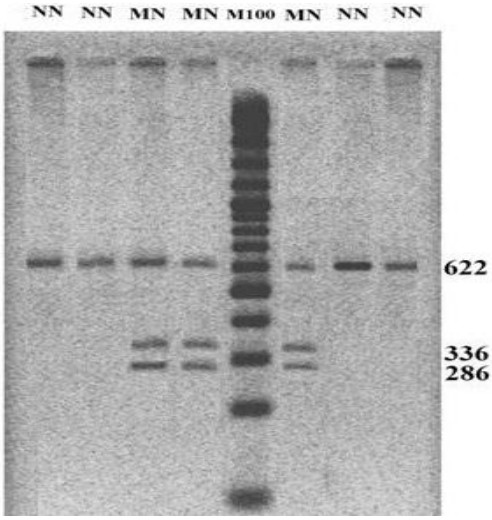
[1] Deionized water
[2] Standard size marker



شکل۱- نتیجه الکتروفورز محصولات PCR ژن کالپاستاتین روی ژل آگارز ۱/۵٪ . M100 : نشانگر اندازه



شکل۲- نتایج هضم آنزیمی محصول PCR در جمعیت گاو هلشتاین پس از ا لکتروفورز بروی ژل آگارز۲/۵٪. M100: نشانگر اندازه



شکل۳- نتایج هضم آنزیمی محصول PCR در جمعیت گاومیش پس از الکتروفورز روی ژل آگارز ۲/۵٪-M100: نشانگر اندازه

جدول۲- فراوانی های ژنی و ژنوتیپی و تعادل هاردی-واینبرگ در جایگاه مورد نظر در گاو هلشتاین و گاومیش

نوع دام	تعداد نمونه	فراوانی ژنی(درصد)		فراونی ژنوتیپی(درصد)			آزمون کای- مربع
		N	M	NN	MN	MM	
گاو هلشتاین	۵۰	۲۷	۷۳	۰	۵۴	۴۶	۶/۵۵*
گاومیش	۴۰	۷۷/۵	۲۲/۵	۵۵	۴۵	۰	۳/۱۵ns

* : معنی دار درسطح احتمال۰/۰۵

ns : غیر معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۵

بحث

مطالعات متعددی روی چند شکلی ژن کالپاستاتین در نژادهای مختلف و جایگاه های مختلف صورت گرفته است. در این تحقیق چند شکلی ژن کالپاستاتین از قسمتی از اگزون و اینترون ۱ ناحیه L با استفاده از آنزیم *MspI* در گاومیش و گاو هلشتاین مورد بررسی قرار گرفت. در نتیجه هضم با این آنزیم دو آلل M و N تولید شد که فراوانی آن ها به ترتیب۰/۷۳ و ۰/۲۷ برای گاو هلشتاین و ۰/۲۲۵ و ۰/۷۷۵ برای گاومیش برآورد گردیدند. براساس آزمون کای مربع در جمعیت هلشتاین تعادل هاردی- واینبرگ وجود نداشت (P<۰/۰۵) ولی در جمعیت گاومیش تعادل برقرار بود

فراوانی آلل M در مورد گاو هلشتاین بیشتر از فراوانی آلل N بود که با نتایج اکثر محققین مطابقت دارد. به‌عنوان مثال فراوانی آلل M در گوسفندان نژاد کردی ۰/۸۸(نصیری و همکاران ۲۰۰۷)، نژاد عربی ۰/۸۵(محمدی و همکاران ۱۳۸۶)، نژاد دالاق ۰/۸۱ (ننه کرانی و همکاران ۲۰۱۱)، نژاد قره گل ۰/۷۹(افتخاری شاهرودی و همکاران ۱۳۸۳)، نژاد کرمانی ۰/۷۹ (بهرامپور و همکاران ۱۳۸۷)، نژاد افشاری ۰/۷۴ (نیکمرد و همکاران ۱۳۸۶)، نژاد قزل ۰/۶۹ (الیاسی و همکاران ۱۳۸۷) بوده و در گاو های سیستانی ۰/۷۶ (فخرکاظمی و همکاران ۱۳۸۶ و طهمورث پور و همکاران ۲۰۰۷) گزارش شده است.

نتایج فوق با نتایج ترابی و همکاران (۱۳۸۷) برای گوسفندان نژاد مغانی(۰/۵۴) و الیاسی و همکاران (۱۳۸۷) برای گوسفندان آرخامرینو (۰/۴۸) و آرخامرینو-قزل (۰/۵۰) مطابقت نداشت.

در اکثر نژاد های خارجی نیز مشابه نژاد های بومی فراوانی آلل M بیشتر بود. بطور مثال فراوانی آلل فوق در گوسفندان نژاد کارولیز ۰/۷۷ گزارش شد (پالمر و همکاران ۱۹۹۸).

از نظر فراوانی ژنوتیپی، فراوانی ها در گاو هلشتاین با نتایج نصیری و همکاران (۲۰۰۷) در مورد گوسفند کردی مطابقت دارد و آنها نیز ژنوتیپNN را مشاهده نکردند که می توان علت این شباهت ها و تفاوت ها را در نوع نژادها و موقعیت جغرافیایی و حتی میزان نمونه بردای آنها جستجو کرد. همچنین آزمون کای- مربع عدم تعادل هاردی- وینبرگ را در جامعه مورد بررسی نشان داد (P<۰/۰۵) که علت آن را می توان دخالت یکی از عوامل برهم زننده تعادل (انتخاب، مهاجرت، اندازه موثر جمعیت و جهش) دانست.

در جمعیت گاومیش مورد بررسی، برخلاف اکثر گزارشات مربوط به گاو و گوسفند فراوانی آلل N بیشتر از آلل M بود و ژنوتیپ MM مشاهده نشد. لازم به ذکر است چون این ژن تاکنون در مورد گاومیش، بررسی نشده است امکان مقایسه نتایج وجود نداشت. البته باید تعداد نمونه بیشتری برای اطمینان از این فراوانی آللی و ژنوتیپی بررسی شود. در گله گاومیش بررسی شده تعادل هاردی-واینبرگ برقرار بود که نشان دهنده آن است که انتخاب در جهت افزایش و یا کاهش ژن کالپاستاتین در جمعیت مورد نظر انجام نشده است.

نتایج نشان داد که ژن کالپاستاتین در این جایگاه چندشکل می باشد و روش استفاده شده در این تحقیق (PCR-RFLP) روشی مناسبی برای تعیین جهش نقطه ای در این جایگاه می باشد. همچنین با توجه به

چندشکلی بودن این جایگاه می توان در تحقیقات آتی با ثبت رکورد و تعیین ژنوتیپ، اثر هر ژنوتیپ را در افزایش کمیت و کیفیت گوشت به دست آورده و به عنوان ابزاری مناسب برای انتخاب به کمک نشانگر استفاده شود.

منابع مورد استفاده

الیاسی زرین قبایی ق، شجاع ج، نصیری م ر، پیراهری ا و جوانمرد آ، ۱۳۸۷. فراوانی آللی و ژنوتیپی ژن کالپاستاتین در گوسفندان قزل، آرخامرینو و آمیخته‌های آن‌ها. مجله دانش نوین کشاورزی، سال۴، شماره ۱۳، صفحه های ۱تا ۶.

بهرامپور و، محمدابادی م ر، میرزایی ح ر، باقی زاده ا، داشاب غ ر، محمدی ا، علی نقی زاده ر ا، سفلایی م و خصالی و، ۱۳۸۷. آنالیز مولکولی ژن کالپاستاتین در گله های گوسفند کرمانی. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی، جلد۱۵، شماره۴، صفحه های ۱۲۵تا ۱۳۱.

افتخار شاهرودی ف، نصیری م ر، ولی زاده ر، نصرتی م، جوادمنش ع و تهمورث پور م، ۱۳۸۳. بررسی چند شکلی ژنتیکی ژن کالپاستاتین در گوسفندان نژاد قره گل. پژوهشنامه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خزر، سال۲، صفحه های ۱تا۱۰.

ترابی ا، شجاع ج، پیرانی ن، الیاسی زرین قبایی ق و ولی زاده م، ۱۳۸۷. بررسی چند شکلی ژن کالپاستاتین در گوسفندان نژاد مغانی با استفاده از روش PCR-RFLP. مجله دانش کشاورزی، جلد۱۸، شماره ۲، صفحه های ۱۱۹تا ۱۲۷.

جوانمرد آ و اسدزاده ن، ۱۳۸۳. معرفی مجموعه ژنی کالپین - کالپاستاتین : ژنهای کاندیدا برای کیفیت و تردی گوشت . مجله پارس بیوتکنولوژی . http://www.parsbiology.ir

فخرکاظمی م، نصیری م ر، فتحی نجفی م، افتخاری شاهرودی ف و خسروی م، ۱۳۸۶. بررسی پلی مورفیسم ژن کالپاستاتین در گاوهای سیستانی به روش PCR-RFLP و ارتباط آن با صفات رشد. مجله ژنتیک نوین، ۲(۳)، صفحه های ۳۵تا ۴۲.

محمدی م، بیگی نصیری م، عالمی س، فیاضی ج و مموئی م، ۱۳۸۶. بررسی چندشکلی ژن کالپاستاتین گوسفندان عربی با استفاده از تکنیک PCR-RFLP و ارتباط آن با صفات تولیدی. پنجمین همایش ملی بیوتکنولوژی جمهوری اسلامی ایران. ۳-۵ آذرماه. تهران. ۴ صفحه.

نیکمرد م، اسکندری نسب م، وجهی ع ر، قنبری ص و دین پرست ج، ۱۳۸۶. پلی مورفیسم ژن کالپاستاتین در گوسفند افشاری و رابطه آن با صفات رشد و لاشه. پنجمین همایش ملی بیوتکنولوژی جمهوری اسلامی ایران. ۳-۵ آذرماه. تهران. ۴صفحه.

Bishop MD, Kappes SM, Keele JW, Stone RT, Suden SL, Hawkins GA, Toldo SS, Fries R, Grosz MD and Yoo j, 1994. A genetic linkage map For cattle. Genetics 136: 619–639.

Collingwood KM, Gilmour RS, Speck PA, Tucker GA, Bardsley RG and Buttery PJ, 1992. cDNA sequence and ontogenetic expression of ovine calpastatin. Ninth International ICOP Conference on Proteolytic and Protein Turnover. Williamsburg, VQ.

Goll DE, Thompson VF, Li H, Wei W and Cong J, 2003. The calpain system. Physio Rev 83: 731-801.

Hong MR, Hong QY, Tanko E, Hatanaka M and Maski M, 1994. Amino terminal conserved region in proteinase inhibitor domine of calpastatin is calpain inhibitory activity by interaction with calmadolin like domain of the proteinase. J Biol Chem 269: 2440-2443.

Killefer J and Koohmaraie M, 1994. Bovine skeletal muscle Calpastatin: cloning, sequence analysis, and steady-state mRNA expression. J Anim Sci 72: 606-614.

Koohmaraie M, Seideman SC, Schollmeyer JE, Dutson TR and Crouse JD, 1987. Effect of post-mortem stage on Ca+2-dependent proteases, their inhibitor and myofibril fragmentation. Meat Sci 19: 187-196.

Miller SA, Dykes DD and Polesky HF, 1988. A simple salting out procedure for extraction of DNA from human nucleated cells. Nucl Acid Res 16: 1215-1219.

Murachi T, 1989. Intracellular regulatory system involving calpain and calpastatin. Biochem Int 18(2): 263–294.

Nanekarani S, Khederzadeh S and Kaftarkari AM, 2011. Genotypic frequency of calpastatin gene in Atabi sheep by PBR Method. Inter. Conf. Food Engineering. Biotech. Singapoore 9: 189-192.

Nassiry MR, Eftekhari Shahroudi F, Tahmoorespur M and Javadmanesh, 2007. Genetic variability and population structure in beta-lactoglobulin, calpastatin and calpain loci in Iranian Kurdi sheep. Pak J Biol Sci 10(7): 1062-1067.

Palmer BR, Roberts N, Hickford GG and Bickerstaffe R, 1998. PCR-RFLP for MspI and NcoI in the ovine calpastatin gene. J Anim Sci 76: 1499-1500.

Palmer BR, Robert N and Kent MP, 1999. A candidate gene approach to animal quality traits. Proc NZ Soci Anim Prod 57: 294-296.

Shackelford SD, Koohmaraie M, Cundiff LV, Gregory KE, Rohrer GA and Savell JW, 1994. Heritabilities and phenotypic and genetic correlations for bovine postrigor calpastatin activity, intramuscular fat content, Warner-Bratzler shear force, retail product yield and growth rate. J Anim Sci 72:857-863.

Tahmoorespur M, Nassiry MR, Fathi Najafi M and Ghowati SH, 2007. Genetic polymorphism at the candidate gene in Iranian Sistani cattle (Bos indicus). Pak J Biol Sci 10(19): 3368-3373.

Yeh FC, Yang R, Boyle TJ, Ye Z and Xiyan JM, 2000. POPGENE 32, Microsoft window-based freeware for population genetic analysis, Version 1.32. Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta: Edmonton, Canada.