نشریه آموزشی- پژوهشی موسسه تحقیقات علوم دامی کشور
فصلنامه تحقیقات کاربردی در علوم دامی
شماره ۲۲، بهـار ۱۳۹۶
ص‌ص: ۶۳~۶۸

مقایسه جایگاه‌های اتصال فاکتورهای رونویسی ژن CSN1S1 شتر و حیوانات اهلی

• **سالم مرمضی** (نویسنده مسئول)
استادیار دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه خلیج فارس

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۶۳۱۶۶۸۰۲
Email: morammazi.s@pgu.ac.ir

چکیده

در این مطالعه سعی شده که جایگاه اتصال فاکتورهای رونویسی موجود در ناحیه پروموتور ژن CSN1S1 در شتر مورد مطالعه قرار گیرند و با دیگر گونه‌های اهلی مقایسه شوند. پس از اخذ توالی ناحیه پروموتور از پایگاه داده NCBI، شناسایی جایگاه‌های اتصال فاکتورهای رونویسی با استفاده از نرم‌افزار بر خط PROMO صورت گرفت و نتایج با استفاده از Excel و Visual Bacis برای یافتن شباهت ها و تفاوت‌ها مورد ارزیابی قرار گرفته شدند. نتایج نشان دادند که در ناحیه پروموتور ژن CSN1S1 جایگاه اتصال برای انواع مختلفی از فاکتورهای رونویسی وجود دارد. هر چند جایگاه‌های اتصال مشترک زیادی بین گونه‌ها مشاهده شد اما تعدادی جایگاه خاص برای شتر مشاهده شد که در دیگر گونه‌ها ملاحظه نشده‌اند. به‌طورکلی، نتایج این تحقیق نشان داده که شرایط رونوشت‌برداری از این ژن در اکثر شرایط بین گونه‌ها مشترک بوده اما در حالت‌های خاص از یک گونه تا گونه دیگر متفاوت می‌باشند.

واژه‌های کلیدی: ژن CSN1S1، جایگاه اتصال فاکتورهای رونویسی، شتر یک‌کوهانه.

Applied Animal Science Research Journal No 22 pp: 63-68

Comparison of Transcription Factor Binding Sites of Camel CSN1S1 Gene with other Domestic Animal

By: Salim Morammazi
Department of Animal Science, Faculty of Agricultural Sciences and Natural Resources, Persian Gulf University, Boshehr, Iran

In this study we tried to investigate the transcription factor binding sites in the promoter region of camel CSN1S1 gene and compared them with those located in domestic animal. After obtaining the promoter region sequences from NCBI database, identifying transcription binding site was done with PROMO online software, and their results were assessed for similarities and differences by using Excel and Visual Basic softwares. The results showed that the promoter region of the CSN1S1 gene have various types of binding sites for transcription factors. Although, a lot of common binding sites was observed between species, but some special binding sites were observed in camel. Overall, the present results show that the transcription conditions of this gene are often similar between species, but in special conditions are different from one species to another species.

Key words: CSN1S1 gene, One hump camel, Transcription factors binding sites.

مقدمه

شیر شتر نقش مهمی به‌عنوان منبع پروتئین برای انسان‌ها بخصوص آن‌هایی که در مناطق خشک زندگی می‌کنند ایفاء می‌کند (Konuspayeva, Faye and Loiseau, 2009). علاوه بر این، روز به روز تقاضا برای شیر شتر به عنوان غذای سالم و یک منبع پروتئینی برای کسانی که به پروتئین شیر آلرژی دارند افزوده می‌شود (Hinz, *et al.*, 2012; Nikkah, 2011). با این وجود دانش مرتبط با پروتئین‌های شیر شتر و ساختار ژنتیکی آن‌ها کمتر مورد مطالعه قرار گرفته است.

تقریباً بیش از ۸۰ درصد پروتئین‌های شیر از کازئین (αs1، αs2، β و k کازئین) تشکیل شده است. کازئین‌ها نه تنها برای نوزاد کلسیم، فسفات و اسیدآمینه را تامین می‌کند بلکه یکی از صفات مرتبط با اصلاح‌نژاد دام در تولید شیر است (Di Stasio, and Mariani, 2000). مطالعات متعددی درباره اثر ژنوتیپ کازئین‌ها بر تغییرات غلظت و ترکیب پروتئین شیر گاو گزارش شده است (Hallen, *et al.*, 2008; Heck, *et al.*, 2009; Nilsen, *et al.*, 2009). تاکنون ۴ نوع کازئین (کازئین αs1، αs2، β و k) در شیر تعیین شده که به‌ترتیب توسط ۴ ژن بدنی به‌شدت پیوسته که دارای نام‌های CSN1S1، CSN1S2، CSN2 و CSN3 می‌باشند، کد می‌شوند (Hayes, *et al.*, 2006). یکی از مهم‌ترین انواع کازئین که در اصلاح نژاد توجه ویژه‌ای به آن شده است، آلفا اس ۱ کازئین است که در مطالعات مختلف ژنتیکی با علامت‌هایی نظیر CSN1S1، CASA و CSN1 نشان داده می‌شود. هم‌چنین تاکنون چندین چند شکلی برای این ژن در گونه‌های مختلف

گزارش شده است (Martin, *et al.*, 2002; Mohr, *et al.*, 1994; Hayes, *et al.*, 2006). علاوه بر این، در تعداد معدود مطالعاتی که بر روی شتر انجام شده، تنوع ژنتیکی این ژن گزارش شده است (Kappeler, Farah and Puhan, 1998; Shuiep, *et al.*, 2013). میزان غلظت پروتئین کازئین شیر از یک گونه تا گونه دیگر و در شرایط محیطی مختلف متفاوت می‌باشد. در سطح DNA در نواحی پروموتور ژن‌ها جایگاه‌های اتصال فاکتورهای رونویسی وجود دارند که با توجه به شرایط محیطی میزان رونوشت‌برداری از ژن‌ها را تنظیم می‌کنند. در این مطالعه سعی شده ضمن بررسی *In Silico* ناحیه پروموتور ژن CSN1S1 شتر، به مقایسه جایگاه اتصال فاکتورهای رونویسی موجود در این ناحیه با انواع مختلف جایگاه اتصال فاکتورهای رونویسی دیگر گونه‌ها پرداخته شود.

مواد و روش‌ها

جهت ارزیابی جایگاه‌های اتصال فاکتورهای رونویسی بر روی ناحیه پروموتور ژن CSN1S1 در گونه‌های حیوانی مختلف، در ابتدا با استفاده از پایگاه داده NCBI، توالی ناحیه مورد نظر در شتر یک‌کوهانه، شتر دوکوهانه، شتر دوکوهانه وحشی، گاومیش، گاو، بز و گوسفند شناسایی شد. سپس با استفاده از مسیر پیدا کردن جایگاه اتصال فاکتورهای رونویسی موجود در پایگاه PROMO، جایگاه اتصال فاکتورهای رونویسی مختلفی که خاص حیوانات هستند در هر کدام از توالی‌ها مورد ارزیابی قرار گرفته شد. در نهایت نتایج حاصل توسط نرم افزار Excel ویرایش گردید و با استفاده از برنامه نویسی با Visual Basic تفاوت‌ها و شباهت‌های موجود در جایگاه‌های اتصال فاکتورهای رونویسی در ناحیه پروموتور ژن CSN1S1 بین حیوانات مختلف شناسایی گردیدند.

نتایج

نتایج آنالیز توالی ناحیه پروموتور ژن CSN1S1 توسط نرم‌افزار PROMO نشان دادند که جایگاه‌های اتصال برای فاکتورهای رونویسی متعددی در این ناحیه وجود دارند که ممکن است بر روی میزان رونوشت برداری از این ژن تاثیر گذار باشند و در نتیجه سطح پروتئین آن را در شیر کنترل نمایند. نتایج نشان دادند که رونویسی از ژن CSN1S1 تحت تاثیر فاکتورهای رونویسی زیادی می‌تواند قرار بگیرد. هرچند تعداد جایگاه‌های اتصال فاکتورهای رونویسی زیادی بین گونه‌ها به‌صورت مشترک مشاهده شد، اما تفاوت‌هایی هم از نظر نوع جایگاه‌ها و هم از لحاظ تعداد آن‌ها بین گونه ها مشاهده شد که این نتایج با میزان پروتئین کازئین در شیر حیوانات اهلی که از یک گونه تا گونه دیگر متفاوت بوده، هم‌راستا می‌باشند.

همان‌طور که گفته شد، جایگاه‌های اتصال فاکتورهای رونویسی موجود در ناحیه پروموتور ژن CSN1S1 شتر با حیوانات دیگر تفاوت‌هایی هم در انواع آن و هم در تعداد آن‌ها نشان داد (جدول ۱ و ۲). همان طور که در جدول ۱ ملاحظه می‌شود، جایگاه اتصال برای فاکتورهای رونویسی E12، Myf-5 و SF-1 تنها در گونه-های شتر وجود دارند و در دیگر گونه‌ها مشاهده نشد. علاوه بر این ملاحظه شد که شتر تک‌کوهانه برای فاکتور رونویسی PPAR-alpha/RXR-alpha جایگاه اتصال دارد که در دیگر گونه‌های شتر مشاهده نشد.

مقایسه جایگاه‌های فاکتورهای رونویسی ژن CSN1S1 شتر با تک‌تک گونه‌های دیگر نشان داده که علاوه بر جایگاه‌های اتصال برای فاکتورهای رونویسی E12، Myf-5 و SF-1، شتر جایگاه-های اتصال دیگری نیز دارد که در گونه‌های دیگر مشاهده نشده است. ناحیه پروموتور ژن CSN1S1 در شتر در مقایسه با گاومیش جایگاه‌های اتصال دیگری نظیر AP-1، AP-4، CBF (2)، HNF-3beta، HNF-4alpha، Smad-3/Smad-4، Sp3، TFE3-S و USF2 داشته است. در مقایسه با گاو نیز جایگاه‌هایی برای اتصال فاکتورهای رونویسی AP-4، CBF (2)، HNF-4alpha، POU3F1، Smad-3/Smad-4،

Sp3 و USF2 در ناحیه پروموتور ژن CSN1S1 شتر ملاحظه شد. فاکتورهای رونویسی که جایگاه اتصال آن‌ها در ژن CSN1S1 شتر ملاحظه شده اما در بز نبوده تعداد آن‌ها زیاد بوده و شامل BTEB4، Elf-1، f(alpha)-f(epsilon)، HES-1، NF-kappaB، PPAR-alpha/RXR-alpha، RelA، RFX1، Sp3، XPF-1 و Zeste می‌باشند. ناحیه پروموتور ژن CSN1S1 گوسفند نیز جایگاه اتصال برای فاکتورهای رونویسی AP-1، AP-4، CBF (2)، HNF-3beta، HNF-4alpha، LyF-1، POU3F1، PPAR-alpha/RXR-alpha، Smad-3/Smad-4، Sp3 و USF2 در مقایسه با ناحیه پروموتور ژن CSN1S1 شتر را نداشته است.

در جدول ۲ جایگاه اتصال برای فاکتورهای رونویسی نشان داده شده‌اند که در گونه‌های دیگر وجود داشته‌اند اما در شتر مشاهده نشده‌اند. همان‌طور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود، تعداد زیادی جایگاه اتصال برای فاکتورهای رونویسی ARP-1، Bcd، c-Ets-1، core-binding factor، ER-alpha، FOXM1a، FOXM1b، GR، HNF-4alpha1، HNF-4alpha2، LXR-beta/RXR-alpha، Max، PU.1، RAR-alpha1، RAR-beta، RXR-alpha، SMAD-3، T3R-alpha و T3R-beta1 در گاومیش، گاو، بز و گوسفند مشاهده شده که در ناحیه پروموتور ژن CSN1S1 شتر وجود نداشته‌اند. علاوه بر این تعداد زیادی جایگاه اتصال در پروموتور ژن CSN1S1 دیگر گونه‌ها وجود داشته که خاص هر گونه بوده و با شتر تفاوت‌هایی را نشان داده است.

جدول ۱ – جایگاه اتصال فاکتورهای رونویسی موجود در ناحیه پروموتور ژن CSN1S1 شتر یک‌کوهانه که در دیگر انواع حیوانات مشاهده نشد

گونه	جایگاه‌های اتصال
بوبالوس‌بوبالیس (گاومیش اهلی)	AP-1, AP-4, CBF (2), E12, HNF-3beta, HNF-4alpha, Myf-5, SF-1, Smad-3/Smad-4, Sp3, TFE3-S, USF2
بوس‌تاروس (گاو اهلی)	AP-4, CBF (2), E12, HNF-4alpha, Myf-5, POU3F1, SF-1, Smad-3/Smad-4, Sp3, USF2
کاپراهیرکوس (بز اهلی)	BTEB4, E12, Elf-1, f(alpha)-f(epsilon), HES-1, Myf-5, NF-kappaB, PPAR-alpha/RXR-alpha, RelA, RFX1, SF-1, Sp3, XPF-1, Zeste
اویس‌آریس (گوسفند اهلی)	AP-1, AP-4, CBF (2), E12, HNF-3beta, HNF-4alpha, LyF-1, Myf-5, POU3F1, PPAR-alpha/RXR-alpha, SF-1, Smad-3/Smad-4, Sp3, USF2
کاملوس‌باکتریانوس(شتر دوکوهانه اهلی)	PPAR-alpha/RXR-alpha
کاملوس‌فروس (شتر دوکوهانه وحشی)	PPAR-alpha/RXR-alpha

جدول ۲- جایگاه اتصال فاکتورهای رونویسی موجود در ناحیه پروموتور ژن CSN1S1 دیگر گونه‌ها که در شتر یک کوهانه مشاهده نشد

گونه	فاکتور رونویسی
بوبالوس بوبالیس (گاومیش اهلی)	ARP-1, Bcd, c-Ets-1, core-binding factor, CREB, CREBbeta, CRE-BP2, CTF, E2F, ER-alpha, FOXJ1, FOXM1a, FOXM1b, GR, HNF-4alpha1, HNF-4alpha2, INSAF, LXR-beta/RXR-alpha, MafK, Max, MAZ, MBP-1 (1), MyoD, NF-E2, Pax-5, PU.1, RAR-alpha1, RAR-beta, RXR-alpha SMAD-3, Sry-delta, T3R-alpha, T3R-beta1, TFII-I, USF2, Yi
بوس تاروس (گاو اهلی)	ARP-1, ATF3, Bcd, c-Ets-1, core-binding factor, CREB, CREBbeta, CRE-BP2, CTF, ER-alpha, FOXJ1, FOXM1a, FOXM1b, GR, HIF-1, HNF-4alpha1 , HNF-4alpha2, INSAF, LXR-beta/RXR-alpha, MafK, Max, MAZ, MyoD, NF-E2, NF-E2, Pax-2.1, Pax-5, PU.1, RAR-alpha1, RAR-beta, RXR-alpha, SMAD-3, Sry-delta , T3R-alpha, T3R-beta1, TFII-I, USF1, USF2
کاپراهیرکوس (بز اهلی)	ARP-1, Bcd, CArG box-binding protein, c-Ets-1, core-binding factor, CTF, delta factor, ER-alpha, Fli-1, FOXM1a, FOXM1b, GR, HNF-4alpha1, HNF-4alpha2, INSAF, Kr, LXR-beta/RXR-alpha, MafK, Max, MAZ, NERF-1a, NF-E2, PU.1, RAR-alpha1, RAR-beta, RXR-alpha, SMAD-3, SRF (504 AA), SRF, T3R-alpha, T3R-beta1
اویس آریس (گوسفند اهلی)	ARP-1, ATF3, Bcd, c-Ets-1, COE2, COE3, core-binding factor, CREB, CREBbeta, CRE-BP2, E2F, E2F-4, ER-alpha, FOXJ1, FOXM1a, FOXM1b, GR, HNF-4alpha1, HNF-4alpha2, INSAF, LXR-beta/RXR-alpha, Max, Pax-5, PU.1, RAR-alpha1, RAR-beta, RXR-alpha, SMAD-3, T3R-alpha, T3R-beta1, TFII-I, Yi
کاملوس باکتریانوس (شتر دوکوهانه اهلی)	FOXJ1, FOXM1a, FOXM1b
کاملوس فروس (شتر دوکوهانه وحشی)	---

به‌طورکلی، نتایج این تحقیق نشان داده که فاکتورهای رونویسی متنوعی برای رونوشت برداری از ژن CSN1S1 وجود دارند که از یک گونه تا گونه دیگر متفاوت است. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که شرایط رونوشت‌برداری از ژن CSN1S1 در شتر با دیگر گونه متفاوت است و یکی از دلایلی است که باعث تفاوت در میزان تولید پروتئین کازئین متفاوت در بین گونه‌ها و داخل گونه‌ها است.

منابع

Di Stasio, L., and Mariani, P. (2000). "The role of protein polymorphism in the genetic improvement of milk production". Zootecnia e Nutrizione Animale, 26: 69-90.

Hallen, E., Wedholm, A., Andren, A., and Lunden, A. (2008). "Effect of beta-casein, kappa-casein and beta-lactoglobulin genotypes on concentration of milk protein variants". Journal of Animal Breeding and Genetics, 125: 119-129.

Hayes, B., Hagesaether, N., Adnoy, T., Pellerud, G., Berg, P.R., and Lien, S. (2006). "Effects on production traits of haplotypes among casein genes in Norwegian goats and evidence for a site of preferential recombination". Genetics: 174: 455-64.

Heck, J.M., Schennink, A., van Valenberg, H.J., Bovenhuis, H., Visker, M.H., van Arendonk, J.A., and van Hooijdonk, A.C. (2009). "Effects of milk protein variants on the protein composition of bovine milk". Journal of Dairy Science, 92: 1192-202.

Hinz, K., O'Connor, P. M., Huppertz, T., Ross, P. M., Kelly, A. L., (2012). Comparison of the principal proteins in bovine, caprine, buffalo, equine and camel milk. Journal of Dairy Research, 79: 185–191.

Kappeler, S., Farah, Z., Puhan, Z., (1998). Sequence analysis of Camelus dromedarius milk caseins. Journal of Dairy Research, 65: 209–222.

Konuspayeva, G., Faye, B. Loiseau, G. (2009). The composition of camel milk: A meta-analysis of the literature data. Journal of Food Composition and Analysis, 22: 95–101.

Martin, P., Szymanowska, M. Zwierzchowski, L. and Leroux, C. (2002). "The impact of genetic polymorphisms on the protein composition of ruminant milks". Reproduction Nutrition Development, 42: 433-59.

Mohr, U., Koczan, D., Linder, D., Hobom, G., and Erhardt, G. (1994). "A single point mutation results in A allele-specific exon skipping in the bovine alpha s1-casein mRNA". Gene, 143: 187-92.

Nikkah, A., (2011). Equidae, camel, and yak milks as functional foods: a review. Journal of Nutrition and Food Sciences, 1: 116.

Nilsen, H., Olsen, H.G., Hayes, B., Sehested, E., Svendsen, M., Nome, T., Meuwissen, T., and Lien, S. (2009). "Casein haplotypes and their association with milk production traits in Norwegian Red cattle". Genetics Selection Evolution, 41: 24.

Shuiep, E. S., Giambra I. J., El Zubeir I. E., Erhardt G., (2013). Biochemical and molecular characterization of polymorphisms of αs1-casein in Sudanese camel (Camelus dromedarius) milk. International Dairy Journal, 28: 88–93.