PCR-RFLP

بررسی چندشکلی زن بالاتاکتکوگلوبولین گوسفنده به روش

قربانیانی، چنلی شجاع غیاث، محمدپناهی نصری، عبدالمسرط نیماسی و امین پیراهی

چکیده

در پیامدهای نوین اصلاح نژاد دام جند شکلی موجود در پروپتیهای شیر می‌تواند با عوامل ناشناخته زنتیکی به کار برده شود. بالاتاکتکوگلوبولین پروتئین اصلی بخش‌های آب‌پرینت شیر شخوارتنگداکان می‌باشد که زن کمک به آن را کروموزوم می‌گویند. تعیین نقش شده است. این پروتئین در طی دوره‌های ایستیت و شیردهی در غذای پستان ساخته می‌شود. مطالعات نشان داده که این پروتئین در اکثر نژاد‌های گوسفنده دارای چند شکلی است و دلیل آن جانشینی ساده یک یا پار در زن BLG می‌باشد که به آنها می‌تواند بررسی آن را به روش RFLP انجام دهد.

هدف از این پژوهش بررسی توزیع زن‌تیپی زن BLG در گوسفنده بومی است. در این تحقیق نمونه‌های خون از 132 راس گوسفنده (کزل، امراب، ماقی، چاکری و آرخاموریتو) جمع آوری گردید. DNA زن‌تیپی از 250 میکرولیتر خون با روش برم و همکاران (1994) که تویست شناختی (1995) طی پلی مورفیک زن بالاتاکتکوگلوبولین به طول 124 جفت بار PCR از آگزون II از آغازگر بهره می‌برد. این بارها مشاهده و محلول‌های RFLP و PCR صورت گرفت. برای مشاهده محصولات از آگزون II با رنگ‌آمیزی اتیه‌پرموائید استفاده شد. محصولات مشکم شده، بر روی پلی کریامید در اکتروفورز شده‌ب و از آن با رنگ رنگ‌آمیزی گردید. برای ایجاد بلندترها، آنها عامل هاردی و وایپرگ و دندرورگر نواصل زنتیکی با PopGen2 استفاده شدند. در نهایت مول کا و آن را در نهایت مول کا نیز با توضیحات PCR-RFLP واژه‌های کلیدی: بالاتاکتکوگلوبولین، گوسفنده، چندشکلی.

1. مربی پژوهش علوم دامی، مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی، استان آذربایجان شرقی
2. به ترتیب دانشیار و استادیار علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
3. استادیار علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
4. کارشناس ارشد علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان
مقدمه

چند شکل‌های موجود در پروتئین‌های شیر می‌تواند به عنوان تنش‌گر زیستی با کاربرد بیشتر نشان‌گر اصلی بخش آپنی‌سیر شیمر (B-Lactoglobulin) نشان‌گرند. در این داده‌ها این پروتئین در بستری از دانش‌کلمه‌ی است. آیل ب زن (B-\(\text{Lactoglobulin}\)) با تولید بالای شیر در این بیان است(\(2\)).

ب‌پالانگ‌کولوبینی با بکالی‌پتروین (BB) زن‌پیپ گروهی که آپنی‌سیر و Zn‌پیپ گروهی با این کانی شیر و Zn‌پیپ‌های آ آب و AB‌پیپ‌های شیری توسط آل (A) همراه هستند(\(6\)). آیل ب در استعدادهای بزرگ(\(20\)) با هم‌دیدگی اختلاف دارند(\(7\)). این که این ویژگی در نتیجه جانشینی شدن یک یک بای در دست پالانگ‌کولوبینی می‌باشد.

اطلاعات حاصل از تیم RsaI (Sequencing) نشان داده که یک محل بررسی آنژیم Nazر را مورد استفاده قرار گرفت.

BLG3 ((5'-TTGGGTACGTGAGCTCTG-3'))
BLG5 ((5'-AAAAACCTGGTGGGCAC-3'))
واکنش Zn‌پیپ‌های پلیمرز با 25 چرخه (\(9^\circ C\)) به مدت 50 تایی
برای نیروزه‌ی کردن (Denaturation) 65^\circ C به مدت 30 تایی
برای اتصال (Annealing) آغازگرها و 72^\circ C به مدت 20 تایی
برای اتمی‌سازی (Extension) زنجیره‌ی DNA در سیستم DNA شیر (Thermocycler)
شرکت عضو سایکا (Eurogentec)

بیومتر (Biometa) در حجم‌های 25 میکرون‌متری و واکنش Zn‌پیپ‌های پلیمرز (50 میکرون‌متری، PCR) Zn‌پیپ‌های پلیمرز (5 میکرون‌متری، dNTPs)، Zn‌پیپ‌های 34 میکرون‌متری (34 میکرون‌متری، PCR).

استری‌های DNA تست مورد استفاده قرار گرفت که آغازگرها مورد استفاده برای تکیه کردن 242 جفت بازی از آکرون II زن پالانگ‌کولوبین‌ها که به شرایط PCR بودند(\(5\)). به مصرف تنش‌گر محصولات با رشد آزمایش‌های پروپانی استفاده گردید. برای تعیین Zn‌پیپ‌های زن پالانگ‌کولوبین، برای آزمایش محصولات روش RFLP-PCR می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تعداد 14۲ نمونه خون از نژاد‌های کوفین مورد مطالعه شد.

32 رأس نژاد قزل 36 رأس نژاد ماکوتو 29 رأس نژاد مانت

22 رأس نژاد افتخاری و 21 رأس نژاد آرآخومریکت به‌طور

13۲
مورد آزمایش دارای چند شکلی بوده و هر یک نوعی PCR-RFLP با اندازه‌گیری PCR با استفاده از آنزیم محصول‌دهنده *Fermentase* RsaI در مدت ۳ ساعت در دمای ۷۵°C انجام گرفته که در تیوب‌های واکنش مقدار ۸ میکرولیتر محصول PCR مقدار ۱/۵ میکرولیتر بال‌زا فاکتور زمانی آنزیم ریزشی RsaI (۱/۱۵ میکرولیتر) و ۴ میکرولیتر آب مقرر ازوده شد. مخصوصاً هضم فرد واکنش‌های پیلیمر باین‌زا وزن پلی آکریلاید ۸/۳ کروموسوم شده و به این‌سانه پروپیدینی

روی زلی پلی آکریلاید به درخشانی پروپیدینیم PopGen32 برای آزادی فراوانی آنل های زنده‌پشه یا (Hardy-Waienberg) ترکیب موردی در نرم‌گارم (Dendrogram) یا واکنش‌های ژنتیکی بین نزده‌ها به کار برده شد.

نتایج و بحث

DNA استخراج با روش سیلیکاژل مقداری پالایی از

زنده‌پشه (حدود ۵۰ ng/ml) یا نادیده‌گیری در حدود ۶۰ هزار نتایج نشان می‌دهد که در کاراژ DNA با حاصل کردن طول از مراحل این مولکول به علت ذخیره‌سازی طول زیاد و خلوص البالا جهت کارایی متغیر ژن‌های آزمایشی مولکولی بسیار مناسب پیشی‌یافته است. همان طریقی که انتظار می‌رود یک قطعه ۴۵۲ جفت بازی از زن بالاتالکوگولیون شالی‌سمتی از اینترن ۱ به‌خیال از گروه ۲ و ناحیه‌ای از اینترن ۲ کوچک است که باید تشخیص از مارد ۱۰۰ جفت بازی استفاده شده است.

مقایسه بانه‌های موجود در نمونه‌های هضم شده مصروف DNA با مارد PCR پیشک آکریلاید، ژنتیکی که از روی ترادر

زن بالاتالکوگولیون برای زنده‌پشه یا مختلف در پیشینی می‌شد. یکسان می‌باشد (شکل ۱-ج). در زنده‌پشه RsaI آن‌های ۱۷۵ و ۱۷۰.۴۱ و ۴۱ جفت بازی وجود دارد در صورتی که در Zn-تنشBB se band ۱۳۲۵ و ۱۷۵ و ۴۱ جفت بازی و در Zn-تنش هتروژنیتی همه باشد یا مقدار محدود نشده‌است. نتیجه حاصل از

این پژوهش نشان داد که زن بالاتالکوگولیون در تعداد نزده‌ها.
اف: شکل 1. آلیه استخراج DNA به روش سلیکاژ و مقایسه آن با DNA مورد آزمایش و بقیه سونه‌ها مقادیر DNA (دو نمونه سمت راست، M) تشکیل می‌گردد.

ب: تکثیر قطعه 250 جفت بارز از زن پیانوکولیویلین نمونه‌های مختلف در کنار مارکر PUC19 (M) 100 bp Lader.
جدول 1. تعداد زنوتیپ‌ها، فراوانی آن‌ها و آزمون $x^2$ برای نژادهای مورد بررسی

<table>
<thead>
<tr>
<th>نژاد مورد مطالعه</th>
<th>فراوانی زنوتیپ‌ها</th>
<th>تعداد زنوتیپ‌ها</th>
<th>فراوانی آن‌ها</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>قزل</td>
<td>6</td>
<td>6</td>
<td>100%</td>
</tr>
<tr>
<td>آرخامزین</td>
<td>7</td>
<td>7</td>
<td>100%</td>
</tr>
<tr>
<td>مکاکی</td>
<td>8</td>
<td>8</td>
<td>100%</td>
</tr>
<tr>
<td>مغذی</td>
<td>12</td>
<td>12</td>
<td>100%</td>
</tr>
<tr>
<td>افشاری</td>
<td>18</td>
<td>18</td>
<td>100%</td>
</tr>
</tbody>
</table>

**بیشتری برای پیشبردی داشته باشد و بین بیشتری هم تولید نماید که علی‌رغم ناهنجاری‌های غیرقابل قبول، این بستر متحمل مجتمع آزمایشگاهی زنی دانشگاه تبریز است. به علت بالانس برخوردار است از شیر این نژاد نه نمی‌شود. به علت بالانس در نژادهای آزمایشگاهی و افشاری تولید بالای شیر و درصد بالای بروتین‌های آب پنیر و کازنین در شیر این نژادها مورد انتظار است.**

**شیه‌گزاری**

بی‌پایند و سیاه از اسفند گرانی دانشگاه کشاورزی دانشگاه تبریز، در یک مجموعه مجتمع آزمایشگاهی این دانشگاه و عیوب‌های که از یک جهاد کشاورزی استان آذربایجان شرقی مرا در انجام این تحقیق باری نمودند، تقدیر و تشکر می‌گردد.

**منابع مورد استفاده**