بررسی اثر آمیخته‌گری بر بیان ژن کالپاستاتین در گوسفند عربی و دورگه عربی × رومانوف با استفاده از Real Time PCR

شماره صفحات
۶۳-۷۲

زهره منجزی[۱]، جمال فیاضی*[۲]، محسن ساری[۳]، بهزاد ناصحی[۳و۴]

۱) دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان.
۲) استاد دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان.
۳) دانشیار دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان.
۴) دانشیار دانشگاه پیام نور خراسان رضوی.

*نویسنده مسئول: j_fayazi@asnrukh.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۰۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۲/۲۵

چکیده

هدف از پژوهش حاضر، مقایسه بیان ژن کالپاستاتین در بره‌های نژاد خالص عربی و آمیخته‌های آن با رومانوف بود. در این مطالعه از ۱۶ راس بره عربی و دورگه در قالب طرح کاملا تصادفی با دو تیمار و هشت تکرار استفاده شد. میش‌های همسن با استفاده از روش لاپاراسکوپی با اسپرم قوچ رومانوف پس از همزمان سازی فحلی تلقیح مصنوعی شدند. بره‌ها پس از تولد در شرایط یکسان پرورش داده شدند و در سن شش ماهگی کشتار شدند. بلافاصله پس از کشتار، نمونه‌گیری از قسمت ماهیچه لانگیسموس لومبروم از سمت راست دام انجام شد. پس از استخراج RNA کل، کیفیت و کمیت آن بررسی شد و برای تولید cDNA مورد استفاده قرار گرفت. ژن گلیسر آلدئید ۳ فسفات دهیدروژناز به عنوان ژن خانه‌دار جهت نرمال نمودن داده‌ها استفاده شد. در نهایت بیان ژن کالپاستاتین به کمک Real-time qPCR ارزیابی شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌های بیان ژن از نرم افزار SAS و REST استفاده شد. نتایج این تحقیق نشان داد که بیش‌ترین سطح بیان مربوط به گروه آمیخته عربی × رومانوف بوده است. میزان بیان ژن کالپاستاتین در بره‌های آمیخته ۱/۳ برابر بیش‌تر از نژاد عربی بود (P<۰/۰۵). این نتایج می‌تواند تایید کننده این امر باشد که آمیخته‌گری می‌تواند تاثیر بسزایی بر عملکرد ژن کالپاستاتین نسبت به گروه خالص داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: آمیخته عربی × رومانوف، بیان ژن، کالپاستاتین و Real-time qPCR.

مقدمه

بازده پایین تولیدی و تولید مثلی اغلب نژادهای بومی گوسفند باعث شده است تا پرورش و مدیریت متمرکز یا نیمه متمرکز آن‌ها با هدف کاهش وابستگی به مرتع و تولید صنعتی به دلیل افزایش هزینه‌های جاری عملا غیر ممکن می‌باشد. برای نیل به این هدف باید همزمان با افزایش هزینه‌های نگهداری گوسفند در سیستم نیمه متمرکز راهکارهایی برای افزایش درآمد دامداران نیز اتخاذ شود (Ferreira *et al*., 2015). یکی از اصلی‌ترین منابع تامین پروتئین مورد نیاز بدن، گوشت قرمز می‌باشد. کیفیت گوشت مصرفی تحت تاثیر خصوصیات مختلفی از قبیل ظاهر، رنگ، محتوی چربی، مزه، بافت و تردی آن است که به همین دلیل مطالعه ژن‌های مؤثر بر تردی گوشت ضروری به نظر می‌رسند (Dehnavi *et al*., 2011). نژادهای زیادی وجود دارند که از نظر صفات مهم اقتصادی با هم متفاوت بوده و آمیخته‌گری اغلب به عنوان سریع‌ترین روش برای بهبود رلندمان تولید گوسفند مطرح می‌باشد و پرورش دهندگان بطور مداوم سعی می‌کنند تا صفات مطلوب نژادهای مختلف را با استفاده از روش آمیخته‌گری ترکیب نمایند (Seyed Sharifi & HamzehZadeh, 2015). با توجه به توسعه این صنعت پرورش دام‌هایی که از پتانسل بالاتری برخوردار باشند احساس می‌شود. برنامه‌های آمیخته‌گری با هدف افزایش توانایی تولید دام از طریق استفاده از استعداد نژادها و ترکیبات بین آن‌ها و اثرات هتروزیس حاصل از این ترکیب‌ها بر روی صفات مهم اقتصادی، طراحی می‌شوند (Lupton *et al*., 2004). در گوسفند و بز، آزمایشات آمیخته‌گری متعددی انجام شده است. این تحقیقات عمدتا بر روی صفات تولید بره یا تولید گوشت بوده است (Taba *et al*., 2001). کالپاستاتین به عنوان یک ژن کاندیدا مورد توجه است و ممانعت کننده خاص کالپین‌ها است. کالپاستاتین به عنوان یک ژن کاندیدای بسیار عالی، برای کنترل رشد در دام‌ها محسوب می‌شود و بر صفات تولیدی مختلفی از جمله صفات رشد، لاشه و تردی گوشت در دام‌های مختلف تاثیرگذار است (Beyon *et al*., 2008). کالپاستاتین پروتئین مهار کننده کالپین‌ها درون سلول ماهیچه است و باعث مهار فعالیت آنزیم‌های تجزیه کننده پروتئینی وابسته به کلسیم به نام m کالپین و μ کالپین می‌شود. کالپین‌ها به خصوص کالپین u در تجزیه میوفیبریل نقش دارد و از این رو کالپاستاتین با مهار کالپین‌ها و جلوگیری از تجزیه میوفیبریل‌های ماهیچه نقش مهمی در افزایش سرعت رشد در دوران حیات و کاهش تردی گوشت پس از کشتار ایفا می‌کند. ژن کالپاستاتین روی کروموزوم شماره ۵ گوسفند قرار دارد (BeakerStaf *et al*., 2006). کالپاستاتین به عنوان مهار کننده داخلی و مهم‌ترین سیستم تنظیم کننده فعالیت کالپین درون ماهیچه است (MohammadAbadi, 2013). اندازه سلول عضلانی در تعادل بین مقدار پروتئین سنتز شده و مقدار پروتئین تجزیه شده است. سیستم کالپین یک مجموعه پروتئولیتیک می‌باشد که تنظیم کننده عمده پروتئین عضلات است. وجود آن در همه سلول‌های عضلانی ثابت شده است. این سیستم شامل پروتئازهای وابسته به کلسیم است که نقش اساسی در رشد ماهیچه و تردی گوشت پس از ذبح دارند. به طورکلی آنزیم‌های کالپین از طریق کنترل تجزیه میوفیبریل‌ها در طول حیات حیوان، رشد ماهیچه را تحت تاثیر قرار می‌دهند (Koohmaraie *et al*., 2002). سیستم کالپین-کالپاستاتین در بیش‌تر

بافت‌های حیوانات یافت شـــده و تعداد زیادی از فرآیندها را از قبیل توســـعه و تجزیه‌ی ماهیچه، تردی گوشـــت پس از مرگ، تشکیل آب مروارید و باروری را تحت تاثیر قرار می‌دهد (Palmer *et al*., 1999). کالپاستاتین بر صفات کیفی گوشت، افزایش سرعت رشد بدن و کاهش تجزیه‌ی پروتئین‌های گوشت تاثیرگذار است (Ali *et al*., 2013). کالپاستاتین یک پروتئین مقاوم به حرارت (تا ۱۰۰ درجه سانتی گراد) است. عوامل دناتوره کننده آن شامل اوره، SDS و تری کلرواستیک اسید است. کالپاستاتین به عنوان یک پروتئین وزن مولکولی متفاوتی (۳۴ تا ۳۰۰-۲۸۰کیلو دالتون) دارد (Goal *et al*., 2002). کیفیت گوشت به ویژگی‌هایی از جمله ظاهر، رنگ، طعم، چربی، بافت و تردی آن بستگی دارد و بین صفاتی مثل تردی، آبداری و نرمی گوشت و ژنوتیپ کالپاستاتین ارتباط معنی‌داری وجود دارد که این فعالیت کالپاستاتین تردی گوشت را پس از مرگ تعیین می‌کند (Syobano *et al*., 2002).

مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر در فروردین ماه سال ۱۳۹۵ در شهر ملاثانی از توابع شهرستان باوی واقع در استان خوزستان انجام شد. میش‌های همسن با استفاده از روش لاپاراسکوپی با اسپرم قوچ وارداتی ۱۴ روز پس از همزمان‌سازی فحلی به کمک سیدر گذاری تلقیح مصنوعی شدند. بره‌های متولد شده در شرایط یکسان پرورش داده شدند. جهت بررسی روند رشد، وزن‌کشی بره‌ها هر ۱۴ روز یک‌بار قبل از تغذیه صبح با اعمال ۱۲ ساعت گرسنگی وزن‌کشی شدند. در این تحقیق از ۱۶ راس بره نر عربی و دورگه (عربی × رومانف) در قالب طرح کاملا تصادفی با دو تیمار و هشت تکرار استفاده شد. در سن شش ماهگی بره‌ها کشتار شدند. بلافاصله پس از کشتار نمونه‌گیری از قسمت ماهیچه لانگیسموس لومبروم (*Longissimus lumborum*) از سمت راست دام انجام گرفت در این مرحله قطعات کوچکی از بافت مورد نظر توسط تیغ استریل جدا و داخل میکروتیپ‌های ۱/۵ میلی لیتری قرار داده شدند. سپس هر کدام از میکروتیوپ‌ها داخل یک قطعه فویل آلومینیومی، داخل تانک ازت نگه‌داری شدند. پس از انجماد سریع نمونه‌ها به فریزر ۸۰- منتقل شدند. استخراج RNA کل از بافت با استفاده از Trizol (Easy Blue) انجام گرفت. کمیت و کیفیت RNA استخراج شده با استفاده از اسپکتوفتومتر (Thermo Scientific،Nanodrop، 2000C، USA) نسبت ۲۶۰ به ۲۸۰ و ژل آگارز ۱ درصد (۲۰ دقیقه با ولتاژ ۱۰۰) تعیین شدند. RNA استخراج شده تا انجام مراحل بعدی آزمایش به فریزر ۸۰- درجه سلسیوس منتقل شد. با توجه به کمیت و کیفیت RNAهای به دست آمده، سنتز cDNA با استفاده از کیت ساخت cDNA (Gene all) ساخت کشور کره و مطابق دستورالعمل شرکت سازنده ساخته شدند. طراحی آغازگرهای مستقیم و معکوس برای ژن هدف کالپاستاتین و ژن مرجع گلیسر آلدئید ۳ فسفات دهیدروژناز با استفاده از برنامه Primer Quest در سایت IDT (Integrated DNA Technologies) انجام گرفت. طول قطعات، دمای اتصال مناسب و عدم تشکیل ساختارهای ثانویه در طراحی آغازگرها مدنظر قرار گرفت (جدول ۱). برای به دست آوردن دمای مناسب اتصال آغازگرها از گرادیان دمایی

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در حجم ۲۵ میکرولیتری که حاوی ۲/۵ میکرولیتر بافر PCR 10x، ۱ میکرولیتر Mgcl2، ۰/۵ میکرولیتر dNTPs، ۱ میکرولیتر از هر آغازگر، ۰/۲ میکرولیتر آنزیم Taq پلیمراز و ۲ میکرولیتر cDNA بودند، استفاده شد. این واکنش با استفاده از برنامه استاندارد PCR انجام شد که شامل ۵ دقیقه جداسازی آغازین زنجیره‌های الگو در دمای ۹۵ درجه سلسیوس، ۳۵ سیکل شامل ۳۰ ثانیه در دمای ۹۵ درجه سلسیوس، ۳۰ ثانیه در دماهای متفاوت گرادیان دمایی و ۳۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سلسیوس و در نهایت تکثیر نهایی زنجیره الگو به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سلسیوس بود.

محصولات PCR روی ژل آگارز ۲ درصد به مدت ۴۵ دقیقه با ولتاژ ۱۰۰ الکتروفورز شدند. تمام آزمایشات در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر انجام شد. در نهایت، خصوصیات محصول PCR پس از واکنش qRT-PCR با تحلیل منحنی ذوب بررسی شد.

برای انجام واکنش qRT-PCR از دستگاه Step One Plus Real Time PCR System شرکت ABI و کیت RealQ Plus 2X Master Mix Green High ROXTM ساخت کشور دانمارک (شرکت آمپلیکون) استفاده شد. بررسی تغییرات بیان ژن در این پژوهش به کمک ΔΔCT (آستانه مقایسه‌ای) و نسبت به بیان ژن گلیسرآلدئید ۳ فسفات دهیدروژناز بود. در این روش برای هر نمونه تیمار شده و نمونه کنترل ΔCT محاسبه شد.

تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار Rest و SAS رویه GLM انجام شد. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار Rest و SAS رویه GLM انجام شد.

مدل آماری برای اثر آمیخته گری بصورت ذیل بود:

رابطه ۱: $Yij = \mu + Gi + eij$

که در آن Yij: مقدار هر مشاهده آزمایش، μ: میانگین کل داده‌ها، Gi: اثر گروه ژنتیکی i ام و eij: اثر باقیمانده است.

نتایج و بحث

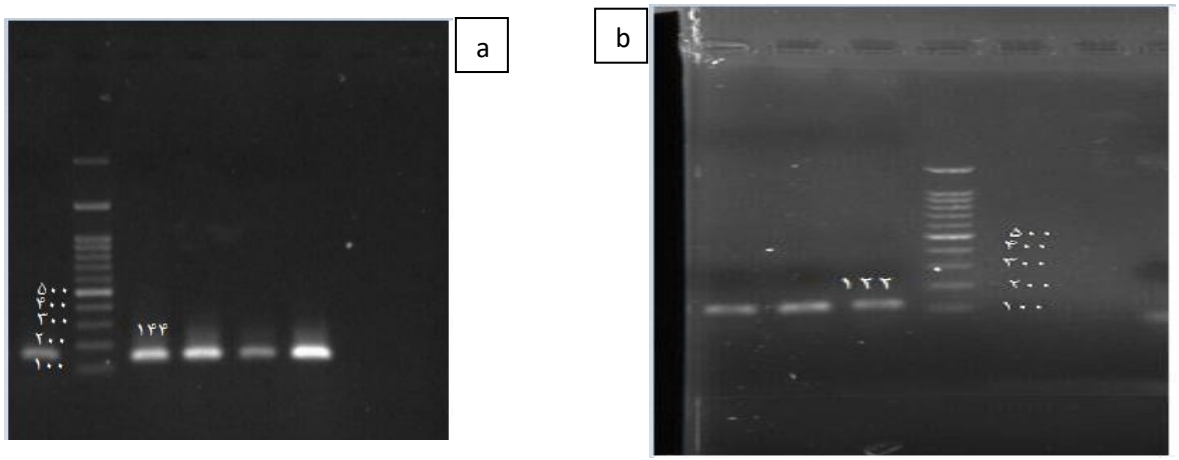
نتایج حاصل از جذب نمونه‌های استخراج شده در طول موج A260/A280 بین ۱/۹-۱/۸ بود که بیان‌گر کیفیت مناسب و مطلوب RNAهای استخراج شده بود و وجود دو باند 18S و 28S در RNA نشان دهنده سالم بودن RNA و عدم وجود باند اضافی نشان دهنده خلوص آن بود. برای یافتن دمای اتصال مناسب آغازگرهای ژن هدف (کالپاستاتین) و کنترل (گلیسر آلدئید ۳ فسفات دهیدروژناز)، واکنش PCR با شیب دمایی انجام شد و مناسب‌ترین دما برای اتصال آغازگرها (دمای ۶۰°C) انتخاب گردید.

جدول۱. توالی و دمای اتصال ژن‌های کالپاستاتین و گلیسرآلدهید ۳ فسفات دهیدروژناز

Table 1- The sequences and annealing temperature of Calpastatin and Glyceraldehyd 3-phosphate dehydrogenase primersLength of amplified fragments (bp)

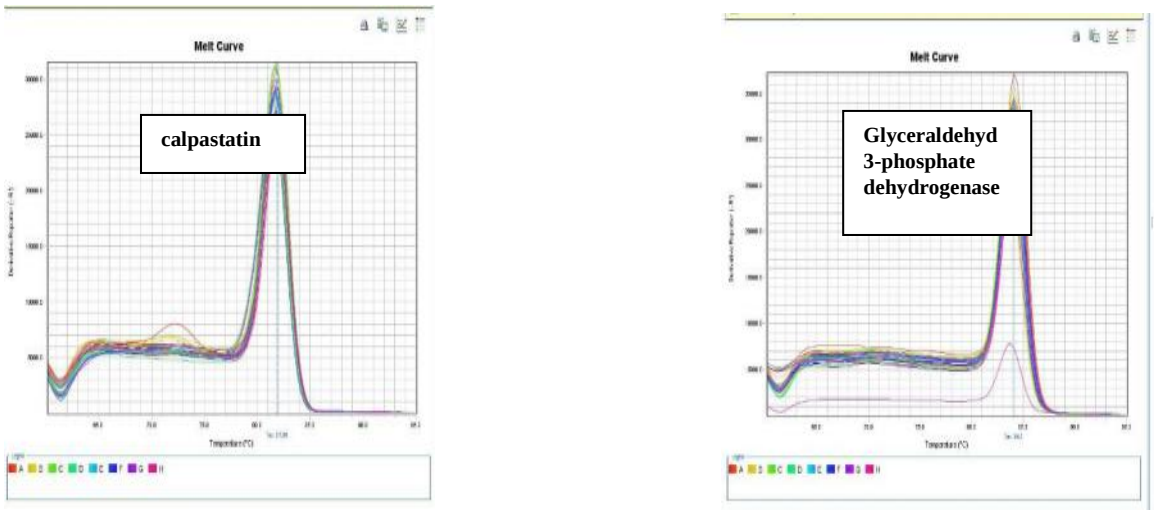
Gene ژن	Primer آغازگر	Sequences توالی	Annealing (c°)	Temperature (c°) دمای اتصال	طول قطعه تکثیر شده(bp)
Calpastatin کالپاستاتین	F R	5´ -TCCCTCAACTACAGAAGCCTC- 3´ 3´-TTCCTCCTTTGCCTTTGTGG -5´	60	60	122
Glyceraldehyde3-Phosphate Dehydrogenase گلیسر آلدئید ۳ فسفات دهیدروژناز	F R	5´-CCAGGCAGAGAACGGGAAG- 3´ 3´- GCCTTCTCCATGGTAGTGAAG -5´	60	60	144

نتایج منحنی‌های Real Time PCR و محصولات PCR با استفاده از الکتروفورز روی ژل آگارز (۲ درصد) نشان داد که ژن کالپاستاتین در بافت گوشت به صورت تک باند در محدوده bp ۱۲۲ و در محدوده bp ۱۴۴ برای ژن گلیسر آلدئید ۳ فسفات دهیدروژناز در همه نمونه‌ها بیان‌گر صحت انجام آزمایش و تکثیر قطعه مورد نظر بود (شکل ۱). طی انجام واکنش دستگاه Real Time PCR میزان تغییرات نور فلئورسنت در هر سیکل را به‌صورت منحنی تکثیر نشان می‌دهد. برای منحنی تکثیر همه نمونه‌ها، یک حد آستانه در فاز نمایی تعریف شد که نشان دهنده سیکلی می‌باشد که در آن شدت نور فلئورسنت ساطع شده از تکثیر واکنش به حد آستانه رسیده است. منحنی ژن کالپاستاتین و گلیسر آلدئید ۳ فسفات دهیدروژناز، اختصاصی بودن و دمای Tm محصول (دمایی که در آن نیمی از محصول از حالت دو رشته‌ای خارج شده است) واکنش Real Time PCR این دو ژن را نشان می‌دهد (شکل ۲).



شکل ۱- قطعه‌های تکثیر شده توسط آغازگر همراه با نشان‌گر با اندازه ۱۰۰ جفت باز، a) قطعه تکثیر شده ژن کالپاستاتین و b) قطعه تکثیر شده ژن گلیسر آلدئید ۳ فسفات دهیدروژناز

Figure 1- Amplified fragments using primers along with 100 bp ladder. a) Amplified fragment of calpastatin gene and b) amplified fragment of Glyceraldehyd 3-phosphate dehydrogenase gene



شکل ۲- منحنی ذوب ژن‌های کالپاستاتین وگلیسر آلدئید ۳ فسفات دهیدروژناز

Figure 2. Melting curve of Calpastatin and Glyceraldehyd 3-phosphate dehydrogenase gene production using Real Time PCR

نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد که میانگین حداقل مربعات تغییرات بیان ژن کالپاستاتین در گروه آمیخته ۸/۹۲±۰/۵۹ بوده که این میزان نسبت به گروه خالص نژاد عربی که دارای میانگین حداقل مربعات تغییرات ۱۱/۸۳±۰/۵۸ بوده است به میزان ۱/۳ واحد بیان آن افزایش یافته است (P<۰/۰۵). بیش‌ترین میزان بیان ژن کالپاستاتین مربوط به گروه آمیخته عربی-رومانوف و کم‌ترین میزان مربوط به گروه خالص عربی می‌باشد. در این مطالعه افزایش بیان ژن در گروه آمیخته را نسبت به نژاد عربی می‌توان به برنامه آمیخته‌گری مرتبط دانست و با کاهش سهم ژنتیکی گوسفندان بومی نژاد عربی بیان ژن کالپاستاتین در گروه آمیخته افزایش یافته است. چون بیان ژن کالپاستاتین در گوسفندان آمیخته افزایش یافته است لذا آمیخته‌گری را می توان به‌عنوان یکی از دلایل اصلی دانست. از دیدگاهی دیگر، یکی از دلایل احتمالی، کاهش سهم هم‌خونی در نژاد عربی می‌باشد که منجر به افزایش بیان ژن در گروه آمیخته شده است. این مقایسه نشان می‌دهد که آمیخته‌ها نسبت به گروه عربی بیان بالاتری داشته است که یکی از دلایل مهم برتری آمیخته‌گری در مقایسه با والدین آن‌ها به اثرات هتروزیس در نتاج دورگ مربوط می‌شود. منابع علمی مختلف بروز اثرات هتروزیس و تاثیر مثبت این اثرات بر صفات رشد دام‌های آمیخته را گزارش کردند (Hernandez *et al*., 2009; Terrwich *et al*., 2015).

همان‌طور Hopkins *et al* (2011) گزارش کرده اند، اثر روشنی از اثر ژن کالپاستاتین بر صفات کیفیت گوشت، مانند حساسیت به لمس و چربی عضلانی وجود دارد. ژن کالپاستاتین که مورد مطالعه قرار گرفته است با عملکرد فرد و صفات لاشه در ارتباط است. تنظیم پروتئولیز وابسته به کلسیم داخل سلولی در درجه اول مربوط به ca^{++} و همچنین کالپاستاتین و بازدارنده طبیعی پروتئین، کالپین انجام می‌شود. با این حال، کالپاستاتین تحت تغییرات posttranslational و تغییرات در محلی‌سازی سلولی که هر دو در ویژگی مهارکنندگی تأثیر دارند را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Wang, 2000; Sallamino, 1997). مطالعه

Aorana *et al* (2003) نشان داد که افزایش کالپاستاتین در سیتوزول به طور مستقیم با کاهش بروز آن در ارتباط است. توزیع مجدد کالپاستاتین در بخش محلول سلول نه تنها نشان دهنده افزایش در ظرفیت مهارکنندگی در این محفظه سلولی است همچنین به بیان ژن کالپاستاتین مربوط می‌شود. فراوانی مولکول مهار کننده سیگنالی برای کاهش بیان آن است. این یافته‌ها نشان می‌دهد که سطح سیتوزولی کالپاستاتین به نحوی بیان این پروتئین را تحت تأثیر قرار می‌دهد.

در مطالعه Tang *et al* (2010) با بررسی اثر سطوح تغذیه در دو سطح مختلف پروتئین بر کیفیت گوشت خوک و بیان ژن Lکالپین-کالپاستاتین در تکمیل عضلات بیان کردند سطوح پایین پروتئین باعث افزایش میزان چربی عضلانی، کاهش قدرت نیروی برشی گوشت خوک و سطح mRNA، L-کالپین بهبود یافته؛ ولی روی بیان ژن کالپاستاتین تأثیری نداشت. کالپاستاتین با مهار عملکرد کالپین باعث کاهش پروتئولیز عضله می‌شود که این سیستم با تردی و حساسیت گوشت مرتبط است. یافته های تانگ و همکاران مخالف با نتایج پژوهش حاضر است. دلیل تفاوت در نتیجه دو تحقیق را می توان به تاثیر کمتر اثر تغذیه نسبت به اثر تغییر ژنتیکی حاصل از آمیخته گری بر بیان ژن کالپاستاتین دانست. Aorana *et al* (2003) در بررسی تغییرات در بیان ژن کالپاستاتین در طول فعالیت کالپین که یک مکانیسم برای پروتئولیز وابسته به ca^{++} است، بیان کردند، مقداری از کالپاستاتین به طور مستقیم در سیتوزول در دسترس است که تحت کنترل ca^{++} و سیکل AMP است و فعال شدن طولانی مدت کالپین باعث تضعیف شدن کالپاستاتین می‌شود. هنگامی که این پروتئین مهار کننده تخریب شود بیان کالپاستاتین ۵ برابر می‌شود. همچنین Consolo *et al* (2016) در بررسی اثر زیلپاترول هیدروکلراید و تأثیر آن بر گوشت گاو و بیان ژن کالپین-کالپاستاتین در ناحیه لانگیسموس لومبروم گزارش کردند، اثرات بتا آگونیست زیلپاترول هیدروکلراید بر صفات لاشه، ویژگی‌های گوارشی و بیان ژن کالپاستاتین افزایش یافته ولی روی ضخامت چربی، رنگ گوشت و کاهش پخت و پز و عطر و طعم گوشت تغییر نیافته است. یافته های این پژوهش با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد. آن‌ها بیان کردند بیان بیش از حد کالپاستاتین دارای اثر مهار کنندگی بر فعالیت کالپین ۱ و کالپین ۲ دارد که باعث مهار اثرات مفید کالپین بر حساسیت به لمس در گوشت گاو می‌شود. DosSantos *et al* (2021) در بررسی اثر جنسیتی بر بیان ژن کالپین-۱ و کالپاستاتین در عضله خوک نر بیان داشتند که جنسیت خوک‌های نر (خوک‌های سالم در مقابل خوک‌های اخته شده) بر بیان ژن‌های کالپین -۱ و کالپاستاتین تأثیر می‌گذارد. عوامل بسیاری بر تردی گوشت تاثیر می‌گذارند، بنابراین با سایر فاکتورها مانند فعالیت کالپین -۱ و سطح کالپاستاتین ترکیب می شود، بیان ژن کالپین -۱ بالاتر و بیان کالپاستاتین پایین‌تر خوک‌های سالم نسبت به خوک های نر اخته شده، می تواند به نرمی گوشت خوک کمک کند.

نتیجه‌گیری کلی

پژوهش حاضر برای اولین بار در خصوص تاثیر آمیخته‌گری بر بیان ژن کالپاستاتین را در گوسفند مورد مطالعه قرار داد. بیان

ژن مذکور تحت تاثیر فرآیند آمیخته گری قرار گرفت. دامهای آمیخته بیان بیشتری از این ژن را داشتند. باتوجه به اینکه بیان ژن کالپاستاتین در متابولیسم و عملکرد ماهیچه تاثیرگذار دارای نقش ویژه‌ای است، لذا یکی از دلایل پس زمینه برتری ناشی از هتروزیس در آمیخته ها نسبت به گروه خالص می تواند باشد. در این مطالعه امکان بررسی اثر متقابل سایر ژنها وجود نداشت. لذا مطالعات بیش‌تری به کمک آر.ان.آ سک (RNAseq) پیشنهاد می گردد تا اثرات متقابل ژنها و شبکه هم بیانی آنها و بویژه نقش کالپاستاتین در فیزیولوژی ماهیچه مشخص شود.

منابع

Ali, M., Moradi Shahr Babak, M., Moradi Shahr Babak, H. & Sadeghi, M. (2013). Studying the genetic structure of calpastatin gene locus by PCR-SSCP method and its relationship with growth traits in Lori Bakhtiari breed sheep. Iranian journal of animal science 5(4): 49-66.

Averna, M., De Tullio, R., Capini, P., Salamino, F., Pontremoli, S. & Melloni. E. (2003). Changes in calpastatin localization and expression during calpain activation: a new mechanism for the regulation of intracellular Ca2+-dependent proteolysis. Cellular and Molecular Life Sciences CMLS 60(12): 2669-2678.

Bickerstaffe, R., Hickford, J. G. H., Gately, K. & Zhou. H. (2006). Association of polymorphic variations in calpastatin with meat tenderness and yield of retail meat cuts in lambs. Agriculture and Life Sciences Division, Lincoln University, Canterbury, New Zealand. Animal Sciences 84: 520-525.

Byun, S. O., Zhou, H., Forrest, R. H. J., Frampton, C. M. & Hickford, J. G. H. (2008). Association of the ovine calpastatin gene with birth weight and growth rate to weaning. Animal genetics 39: 572-573.

Ciobanu, D. C., Bastiaansen, J. W. M., Lonergan, S. M., Thomsen, H. Dekkers, J. C., Plastow G. S. & Rothschild, M. F. (2004). New alleles in calpastatin gene are associated with meat quality traits in pigs. Journal of animal sciences 82(10): 2829-2839.

Cônsolo, N. R. B., Ferrari, V. B., Mesquita, L. G., Goulart, R. S. & Silva, L. F. (2016). Zilpaterol hydrochloride improves beef yield, changes palatability traits, and increases calpain-calpastatin gene expression in Nellore heifers. Meat science 121: 375-381.

Dehnavi, L., Ahani Azari, M., Heidari, M. & Pashaii, S. (2011). Study of polymorphism of Calpastatin gene in Holstein cattle and Buffalo using PCR-RFLP method. Animal Science Research Journal. 22(1): 106-112.

Dos Santos, É.R., Bridi, A. M., da Silva, C. A., Alfieri, A. A., Fritzen, J. T. T., Terto, D. K. & Correia, E. R., (2021). Gender effects on pork quality and calpain-1 and calpastatin gene expression in male pig muscle. Meat Science. 172(108366).

Ferreira, V. C. M., Rosa, G. J. Berger, Y. M. & Thomas, D. L. (2015). Survival in crossbred lambs: Breed and heterosis effects. Journal of Animal Sciences 93(3): 912-919.

Goll, D. E., V. F., Li, H. Thompson, W. E. I. Wei and J.Cong. (2003). The calpain system. Physiological reviews 83(3): 731-801.

Hernández-Cruz, L., Ramírez-Bribiesca, J. E. Guerrero-Legarreta, M. I. Hernández-Mendo, O. Crosby-Galvan, M. & Hernández-Calva, L. M. (2009). Effects of crossbreeding on carcass and meat quality of Mexican lambs. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia 61(2): 475-483.

Hopkins, D. L., Fogarty, N. M. & Mortimer, S. I. (2011). Genetic related effects on sheep meat quality. Small Ruminant Research 101(1): 160-172.

Koohmaraie, M., Kent, M. P. Shackelford, S. D. Veiseth, E. & Wheeler, T. L. (2002). Meat tenderness and muscle growth: is there any relationship? Meat science 62(3): 345-352.

Lupton, C. J., Freking, B. A. & Leymaster, K. A. (2004). Evaluation of Dorset, Finnsheep, Romanov, Texel and Montadal breeds of sheep: III. Wool characteristics of F1 ewes. Journal of Animal Science 89: 2293- 2300.

Mohammadabadi, M. R. (2013). Allelic diversity of calpastatin gene in Sanjabi Sheep. Cellular and Molecular Research (Iranian Journal of Biology) 28(3): 395-402.

Palmer, B. R., Morton, J. D. & Roberts, N. (1999). Marker–assisted selection for meat quality and the ovine calpastatin gene. Proceedings New Zealand Society of Animal Production.

Petrović, V. C., Petrovic, M. P., Ružić-Muslić, D., Maksimović, N. Selionova, M. I., Aybazov, M. M. & Malyukova, M. A. (2015). Genotype, sex and interaction effect on lamb growth traits. Biotechnology in Animal Husbandry 31(1): 37-44.

Salamino, F., Averna, M., Tedesco, I., De Tullio, R., Melloni, E. & Pontremoli, S. (1997). Modulation of rat brain calpastatin efficiency by post-translational modifications. FEBS Letters 412 (3): 433–438.

Seyedsharifi, R. & Hamzehzadeh azar, A. (2016). Evaluation of Slaughtered lambs Results from Varamini Ewes Crossing with Shal, Afshar, Moghani and Varamini Rams. Iranian Journal of Animal Science Research. 8(1): 174-185.

Tabbaa, M. J., AL–Azzawi, W. A. & Campbell, D. (2001). Variation in fleece characteristics of Awassi sheep at different ages. Small Ruminant Research 41: 95 – 100.

Tang, R., Yu, B., Zhang, K., Guo, X., Tian, G., Huang, Z., Chen, X. & Chen, D. (2010). Effects of nutritional level on pork quality and gene expression of μ-calpain and calpastatin in muscle of finishing pigs. Meat science 85(4): 768-771.

Wang, K. K. (2000). Calpain and Caspase: Can you tell the difference? Trends in Neurosci 23(1): 20–26.