دانشگاه فردوسی مشهد
دانشکده کشاورزی
گروه آموزشی علوم دامی

پایان نامه کارشناسی ارشد

تنوع ژنتیکی قطعات زنجیره سبک و سنگین ایمونوگلوبولین Y (IgY) در توده مرغ های بومی خراسان

زانا پیرخضرانیان

بهمن ۱۳۹۲

دانشگاه فردوسی مشهد
دانشکده کشاورزی
گروه آموزشی علوم دامی

پایان نامه کارشناسی ارشد

تنوع ژنتیکی قطعات زنجیره سبک و سنگین ایمونوگلوبولین Y (IgY) در توده مرغ های بومی خراسان

زانا پیرخضرانیان

اساتید راهنما:
دکتر محمد رضا نصیری
دکتر مجتبی طهمورث پور

اساتید مشاور:

دکتر محمد رضا باسامی
دکتر علیرضا حق‌پرست

بهمن ۱۳۹۲

تقدیم به مهربان فرشتگانی که

لحظات نابِ باور بودن، لذت و غرور دانستن، جسارتِ خواستن، عظمت ِرسیدن و تمام تجربه های یکتا و زیبای زندگیم، مدیون حضور سبز آنهاست

تقدیم به پدر و مادر عزیزتر از جانم

دریاهای بی کران فداکاری و عشق که وجودم برایشان همه رنج بود و وجودشان برایم همه مهر

برادران و خواهر عزیزم
که وجودشان شادی بخش و مایه آرامش من است

سپاس گزاری
بر خود واجب می دانم تا از زحمات بی شائبه اساتید راهنمای محترم، جناب آقای دکتر محمدرضا نصیری و جناب آقای دکتر مجتبی طهمورث پور که همواره راهنمایی های ارزنده‌شان روشنگر مسیر بوده است کمال تشکر را داشته باشم.

از اساتید مشاور گرامی جناب آقای دکتر محمدرضا باسامی و جناب آقای دکتر علیرضا حقپرست که یاریگر بنده در این راه بودند کمال تشکر را دارم.

همچنین از دوستان عزیزم آقایان فایق خضری، محمد دوستی، سهیل یوسفی، مرتضی مهدوی، مرجان اذغندی، آرزو محمدهاشمی، علی اکبر خبیری، حمید آریان نژاد، زهرا رودباری ، طوبی عباسی، حسین برزگر و سایر دوستانی که در طی این مدت به من کمک کردند بسیار سپاسگزارم.

تعهد نامه

عنوان پایان نامه: تنوع ژنتیکی قطعات زنجیره سبک و سنگین ایمونوگلوبولین Y (IgY) در توده مرغ های بومی خراسان

اینجانب زانا پیرخضرانیان دانشجوی کارشناسی ارشد رشته ژنتیک و اصلاح نژاد دام دانشگاه فردوسی مشهد تحت راهنمایی دکتر محمد رضا نصیری و دکتر مجتبی طهمورث پور متعهد می شوم:

- نتایج ارائه شده در این پایان نامه حاصل مطالعات علمی و عملی اینجانب بوده، مسئولیت صحت و اصالت مطالب مندرج را به طور کامل بر عهده می گیرم.
- در خصوص استفاده از نتایج پژوهشهای محققان دیگر به مرجع مورد نظر استناد شده است.

- مطالب مندرج در این پایان نامه را اینجانب یا فرد یگری به منظور اخذ هیچ نوع مدرک یا امتیازی تاکنون به هیچ مرجعی تسلیم نکرده است.
- کلیه حقوق معنوی این اثر به دانشگاه فردوسی مشهد تعلق دارد. مقالات مستخرج از پایان نامه، ذیل نام دانشگاه فردوسی مشهد (Ferdowsi University of Mashhad) به چاپ خواهد رسید.
- حقوق معنوی تمام افرادی که در به دست آمدن نتایج اصلی پایان نامه تاثیر گذار بوده اند در مقالات مستخرج از رساله رعایت خواهد شد.
- در خصوص استفاده از موجودات زنده یا بافتهای آنها برای انجام پایان نامه، کلیه ضوابط و اصول اخلاقی مربوطه رعایت شده است.

۱۳۹۲/۱۱/۱

زانا پیرخضرانیان

مالکیت نتایج و حق نشر

- کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج، برنامه های رایانه ای، نرم افزارها و تجهیزات ساخته شده) به دانشگاه فردوسی مشهد تعلق دارد و بدون اخذ اجازه کتبی از دانشگاه قابل واگذاری به شخص ثالث نیست.
- استفاده از اطلاعات و نتایج این پایان نامه بدون ذکر مرجع مجاز نیست

چکیده

ایمونوگلوبولین زرده تخم مرغ در سالهای اخیر از نظر پزشکی، ژنتیک و علوم دامی کاربرد وسیعی پیدا کرده است. این ایمونوگلوبولین دارای ٤ زنجیره پلی پپتیدی حاوی دو زنجیره سبک و دو زنجیره سنگین می‌باشد. شاخه سبک ایمونوگلوبولینY درپرندگان یک ناحیه متغیر و یک ناحیه ثابت و شاخه سنگین آن، یک ناحیه متغیر و ۵ ناحیه ثابت را دارا می‌باشد ساختمان ناحیه ثابت مشخصه یک کلاس یا زیر کلاس ایمونوگلوبولین ها و ناحیه متغیر مخصوصا قطعات CDR بیشترین نقش را در باند شدن با آنتی ژن دارند. هدف از این مطالعه بررسی تنوع ژنتیکی و آنالیز فیلوژنتیکی ژن های کد کننده زنجیره‌های سبک و سنگین ایمونوگلوبولین Y مرغ‌های بومی خراسان در سطح mRNA می‌باشد بدین منظور ۲۰ نمونه طحال از مرغ‌های غیر خویشاوند بومی خراسان جمع آوری شد. پس از استخراج RNA و تولید cDNA از طریق رونویسی معکوس، تکثیر قطعات ژنی زنجیره های سنگین و سبک IgY توسط آغازگرهای اختصاصی و با استفاده از واکنش زنجیره ای پلی مراز انجام پذیرفت. بعد از توالی یابی، بررسی جهش‌ها برای هر دو زنجیره سبک و سنگین انجام پذیرفت. در زنجیره سبک نواحی CDR3دارای بیشترین تنوع و نواحی C کمترین تنوع را داشتند.و در زنجیره سنگین نیز تعداد ۵ هاپلوتیپ برای توالی‌ها مشخص گردید که جمعا ۹ جهش در آنها وجود داشتند از این تعداد ۵ جهش معنی دار بود. همچنین نتایج آنالیز فیلوژنتیکی نشان داد، که مرغ بومی خراسان از نظر ژن کد کننده شاخه سبک کمترین فاصله ژنتیکی را با مرغ لگهورن سفید و مرغ لگهورن فرانسه و از نظر ژن کد کننده شاخه سنگین دارای کمترین فاصله ژنتیکی با مرغ لگهورن سفید و مرغ بومی آذربایجان را دارد.

فهرست مطالب

۱- مقدمه ۱

۱-۱-اهمیت موضوع ۱

۱-۱-۱-اهمیت مطالعه تنوع ژنتیکی ۱

۱-۱-۲- اهمیت مطالعه توده‌های بومی ۳

۱-۲- اهداف تحقیق ٦

۲- بررسی منابع ۷

۲-۱- اهمیت نژاد های بومی ۷

۲-۱-۱- اهمیت مرغ بومی ۷

۲-۲- ژنتیک مولکولی و نقش آن در اصلاح نژاد دام های بومی ۹

۲-۳- جهش ژنتیکی ۱۰

۲-۳-۱- تقسیم بندی جهش ها بر اساس اثر آنها بر پروتئین سازی ۱۱

۲-٤- پلی‌مرفیسم‌های تک نوکلئوتیدی ۱۳

۲-٤-۱- ضرورت مطالعه SNPها در حیوانات اهلی ۱٤

۲-۵- تعیین تنوع ژنتیکی و رسم فیلوژنی با استفاده از PCR- Sequence ۱۵

۲-٦- ایمنی ۱۵

۲-٦-۱- تقسیم بندی سیستم ایمنی ۱٦

۲-٦-۲- انواع ایمنی اکتسابی ۱٦

۲-۷- آنتی ژن ۱۷

۲-۸- اپی توپ ۱۷

۲-۹- پاراتوپ ۱۸

۲-۱۰- آنتی بادی(ایمونوگلوبولین) ۱۸

۲-۱۱- ساختار کلی ایمونوگلوبولین ها ۱۹

۲-۱۱-۱- نواحی متغیر ۲۰

۲-۱۱-۲- نواحی ثابت ۲۰
۲-۱۱-۳- لولا ۲۱
۲-۱۲- زنجیره سبک ایمونوگلوبولین ۲۲
۲-۱۳- زنجیره سنگین ایمونوگلوبولین ۲۳
۲-۱٤- ساختار آنتی بادی(ایمونوگلوبولین) بر اساس روش های شیمیایی و آنزیمی ۲٤
۲-۱۵- ساختار پروتئینی ایمونوگلوبولین ها ۲٦
۲-۱٦- عملکرد اجرایی آنتی بادی ۲۷
۲-۱۷- تفاوت های ساختمانی در ملکول ایمونوگلوبولین ۲۷
۲-۱۷-۱- ایزوتایپ ۲۷
۲-۱۷-۲- آلوتایپ ۲۷
۲-۱۷-۳- ایدیوتایپ ۲۸
۲-۱۸- انواع کلاس های آنتی بادی مشترک در پستانداران و پرندگان ۲۹
۲-۱۸-۱- ایمونوگلوبولین M (IgM) ۲۹
۲-۱۸-۲- ایمونوگلوبولین A (IgA) ۳۰
۲-۱۸-۳- ایمونوگلوبولین Y ۳۱
۲-۱۸-۳-۱- تفاوتهای ایمونوگلوبولین Y با همولوگ خود در پستانداران(IgG) ۳۲
۲-۱۹- ژن های ایمونوگلوبولین ۳٤
۲-۱۹-۱- نحوه بازآرایی های ژنی ناحیه متغیر ۳۵
۲-۱۹-۲- بازارایی ژنی در زنجیره سبک ۳٦
۲-۱۹-۳- بازآرایی ژن در زنجیره سنگین ۳۷
۲-۲۰- ایجاد تنوع در آنتی بادیها ۳۸
۲-۲۰-۱-تنوع در ایمونوگلوبولین های انسان و موش ۳۸
۲-۲۰-۲- تنوع در ایمونوگلوبولین های مرغ ٤۰
۲-۲۱- تحقیقات انجام گرفته ٤۱

۳- مواد و روش ها ٤٥
۳-۱- جامعه مورد بررسی ٤٥
۳-۲- نمونه گیری ٤٥
۳-۳- استریل کردن مواد و وسایل ٤٥
۳-٤- استخراج RNA ٤٦
۳-٤-۱- آماده سازی مواد و وسایل ٤٦
۳-٤-۲- آماده سازی نمونهها ٤٦
۳-٤-۳- مراحل استخراج RNA ٤٦
۳-٤-٤- تعیین کیفیت و کمیت RNA استخراجی ٤٩
۳-٤-٤-۱- طیف سنجی RNAهای استخراجی با Nanodrop ٤٩
۳-٤-٤-۲- الکتروفورز RNA استخراجی ٤٩
۳-٤-٤-۲-۱- آماده سازی مواد و محلول های الکتروفورز ٤٩
۳-٤-٤-۲-۱-۱- تهیه محلول EDTA (۰/۵ مولار، pH=۸) ٤٩
۳-٤-٤-۲-۱-۲- تهیه بافر الکتروفورز TBE(۱۰x) ٥٠
۳-٤-٤-۲-۲- تهیه ژل آگارز ٥٠
۳-٥ - سنتز cDNA ٥١
۳-٥-۱- ساخت cDNA تک رشتهای ٥١
۳-٦- طراحی پرایمر اختصاصی ژنهای شاخه سبک و سنگین IgY ٥٣
۳-٦-۱- پرایمرها و مشخصات مناطق تکثیر شده ٥٣
۳-٦-۲- روش انتقال پرایمر به آزمایشگاه ٥٤
۳-٦- ۳- رقیق سازی پرایمرها ٥٤
۳-۷- واکنش PCR ٥٤
۳-۷-۱- انجام PCR با استفاده از کیت PCR Universal ٥٥
۳-۷-۱-۱- اجزای کیت ٥٥

۳-۷-۱-۲- مراحل انجام PCR با کیت خشک ۵۵
۳-۷-۲- غلظت ها و برنامه حراراتی مربوط به پرایمر زنجیره سبک ٥٦
۳-۷-۳-غلظت ها و برنامه حرارتی مربوط به پرایمر زنجیره سنگین ٥٦
۳-۸- الکتروفورز محصولات PCR ٥٧
۳-۹- خالص سازی محصولات PCR ٥٧
۳-۱۰- آماده سازی و ارسال نمونه ها ٥٩
۳-۱۱- نرم افزارهای مورد استفاده ٥٩
۳-۱۱-۱- نرم افزار CLC Main workbench ٥٩
۳-۱۱-۲- نرم افزارchromas lite ٥٩
۳-۱۱-۳-BioEdit ٦٠
۳-۱۱-٤-DNA SP ٦٠
۳-۱۱-٥- MEGA 5 ..... ٦٠
۳-۱۱-٦- ابزارBLAST ٦٠
۳-۱۱-۷- نرم افزار Arlequin ٦١
٤- نتایج و بحث ٦٣
٤-۱- استخراج RNA ٦٣
٤-۱-۱- تعیین کیفیت RNA استخراج شده ٦٣
٤-۱-۲- تعیین کمییت RNA استخراجی ٦٣
٤-۲- نتایج واکنش PCR ٦٤
٤-۲-۱- بهینه سازی دمای اتصال PCR ٦٤
٤-۲-۲- کیفیت cDNA تکثیر شده ٦٤
٤-۳- توالی یابی ٦٦
٤-٤- آنالیز نمونه های توالی یابی شده ٦٦
٤-٤-۱- آنالیز نمونه‌های توالی‌یابی شده با Chromas Lite ٦٧

٤-٤-٢- آنالیز نمونه‌های توالییابی شده با CLC Main workebench ٦٨
٤-٥- مشخص کردن توالی کامل برای هر نمونه ٦٨
٤-٦- محاسبه توالی مورد توافق ٦٩
٤-٧- بررسی نوکلئوتیدهای توالی های مورد مطالعه ٧١
٤-٧-١- ترکیب نوکلئوتیدی و میزان CG توالی مورد توافق زنجیره سبک ایمونوگلوبولین Y ٧١
٤-٧-٢- ترکیب نوکلئوتیدی و محتوای CG ناحیه ثابت قطعه سنگین ایمونوگلوبولین Y ٧٢
٤-٨- ساختار پیشنهادی ژنی، زنجیره سبک و سنگین ایمونوگلوبولین Y مرغهای بومی خراسان ٧٣
٤-٨-١- ساختار پیشنهادی زنجیره سبک ٧٣
٤-٨- ٢- ساختار پیشنهادی ناحیه ثابت زنجیره سنگین ٧٥
٤-٩- شناسایی جهش ها و بررسی هاپلوتایپ ها ٧٧
٤-٩-١- شناسایی جهشها و هاپلوتایپها در زنجیره سبک ٧٨
٤-٩-٢- شناسایی جهشها و هاپلوتایپها در نواحی ثابت زنجیره سنگین ٧٩
٤-١٠- تنوع هاپلوتایپی و نوکلئوتیدی قطعه ثابت زنجیره سنگین ٨٠
٤-١١- آنالیز فیلوژنتیکی بر اساس درخت فیلوژنتیک و ماتریس فواصل ژنتیکی ٨١
٤-١١-١- آنالیز فیلوژنتیکی زنجیره سبک ٨٢
٤-١١-٢-آنالیز فیلوژنتیکی زنجیره سنگین ٨٥
٤-١٢- بررسی توالی پروتئینی IgY ٨٧
٤-١٢-١- توالی پروتئینی زنجیره سبک ایمونوگلوبولین Y ٨٨
٤-١٢-٢- توالی پروتئینی ناحیه ثابت شاخه سنگین ایمونوگلوبولین Y ٨٨
٤-١٣- تنوع در سطح اسید آمینه‌های IgY ٨٨
٤-١٣-١- تنوع در سطح اسیدآمینه زنجیره سبک ایمونوگلوبولین Y ٨٨
٤-١٣-٢- تنوع در سطح اسیدآمینه قطعات ثابت زنجیره سنگین ایمونوگلوبولین Y ٨٩
٤-١٤- بررسی ساختار دوم پروتئین ایمونوگلوبولین Y مرغهای بومی خراسان ٩١
٤-١٤-١- بررسی ساختار دوم پروتئین زنجیره سبک ٩١

٤-١٤-٢- بررسی ساختار دوم پروتئین ناحیه ثابت زنجیره سنگین..... ٩١
٤-١٥- بررسی ساختار سه بعدی زنجیره سبک و سنگین ایمونوگلوبولین Y مرغهای بومی خراسان... ٩٢
٤-١٧- پیشنهادات ٩٤
منابع ٩٥

فهرست شکل‌ها

شکل٢-١ شکل کلی یک آنتی بادی. ٢٢
شکل٢-٢: تغییر پذیری بنیان های اسید آمینه ای در حوزه هایVLوVH..... ٢٣

شکل۲-۳ : رده های مختلف آنتی بادی..... ۲٤
شکل ۲-٤: شکل یک ایمونوگلوبولین تحت تاثیر هضم آنزیمی..... ۲٦
شکل۲-۵: a: شاخص ایزوتوپی، b: شاخص آلوتایپی، c: شاخص ایدیوتاپی..... ۲۸
شکل ۲-٦ : ساختار پنتامری ایمونوگلوبولینM..... ۳۰
شکل۲-۷: شکل کامل یک ایمونوگلوبولینA..... ۳۱
شکل۲-۸ : اختلاف ساختاری ایمونوگلوبولینY جوجه با ایمونوگلوبولین..... ۳٤
شکل ۲-۹: بازارایی ژنهای زنجیره سبک..... ۳۷
شکل ۲-۱۰: بازارایی ژنهای زنجیره سنگی..... ۳۸
شکل۲-۱۱: تنوع ایمونوگلوبولینی در جوجه..... ٤۱
شکل۳-۱: سه فاز تشکیل شده بعد از سانتریفیوژ..... ٤۷
شکل ۳-۲: دستگاه نانودراپ..... ٤۹
شکل ٤-۱:الکتروفورز RNA استخراج شده از طحال روی ژل آگارز..... ٦۳
شکل ٤-۲: کمیت وکیفیت RNA استخراجی از بافت طحال مرغ..... ٦٤
شکل ٤-۳: الکتروفورز محصولات واکنش زنجیره ای پلیمراز به طول۷٦٤..... ٦۵
شکل ٤-٤: الکتروفورز محصولات واکنش زنجیره ای پلیمراز به طول۱۲۰۵..... ٦٦
شکل ٤-۵: بررسی صحت توالی یابی نمونه ها با استفاده از Chromas Lite..... ٦۸
شکل ٤-٦: بررسی صحت توالی یابی نمونه ها با استفاده از نرم افزارCLC Main workebench ٦۸
شکل٤-۷: توالی مورد توافق برای قطعات V-J-Cزنجیره سبک..... ۷۰
شکل ٤-۸: توالی مورد توافق برای قطعه ثابت زنجیره سنگین..... ۷۰
شکل٤-۹: ترکیب نوکلئوتیدی قطعه سبک (V-J-C)..... ۷۱
شکل ٤-۱۰: ترکیب نوکلئوتیدی ناحیه ثابت قطعه سنگین..... ۷۳
شکل ٤-۱۱: طرح شماتیک سازماندهی ژنهای زنجیره سبک..... ۷۵
شکل ٤-۱۲: طرح شماتیک سازماندهی ژنهای ناحیه c قطعه سنگین..... ۷۷
شکل٤-۱۳: همردیفی توالی نوکلوتیدی نواحی (V-J-C) قطعه سبک..... ۷۸

شکل٤-١٤: همردیفی توالی نوکلوتیدی ناحیه C شاخه سنگین..... ٨٠
شکل٤-١٥: درخت فیلوژنی ژنهای نواحی C و J قطعه سبک..... ٨٣
شکل٤-١٦: درخت فیلوژنی ناحیه C زنجیره سنگین..... ٨٦
شکل ٤-١٧: توالی پروتئینی بدست آمده از قطعه سبک..... ٨٨
شکل٤-١٨:توالی پروتئینی بدست آمده از ناحیه ثابت شاخه سنگین..... ٨٨
شکل٤-١٩: تنوع در سطح اسیدآمینه زنجیره سبک نسبت به توالی اسید امینه مرجع..... ٨٩
شکل٤-٢٠: تنوع در سطح اسیدآمینه قطعات ثابت زنجیره سنگین نسبت به توالی اسیدآمینه مرجع ٩٠
شکل ٤-٢١: جایگاهای فعال جهت تشکیل ساختار ثانویه در ژنجیره سبک ٩١
شکل٤-٢٢: جایگاههای فعال جهت تشکیل ساختار ثانویه در ناحیه ثابت زنجیره سنگین ٩٢
شکل٤-٢٣: ساختار سه بعدی پروتئین شاخه سبک ایمونوگلوبولین..... ٩٣
شکل٤-٢٤: ساختار سه بعدی پروتئین ناحیه C شاخه سنگین ایمونوگلوبولین..... ٩٣
شکل٤-٢٥: نواحی ثبت توالی شده و ثبت توالی نشده ایمونوگلوبولین Y ٩٤

فهرست جدول‌ها

جدول٣-١: مواد واکنشی مربوط به مرحله یک ساختcDNA..... ٥٢

جدول ۳-۲: مواد واکنشی مربوط به مرحله دو واکنش ساخت cDNA..... ۵۲
جدول ۳-۳: مشخصات و توالی پرایمرهای استفاده شده..... ٥٤
جدول ۳-٤: ترکیب و غلظت نهایی مواد مورد استفاده در واکنش PCR جهت تکثیر ژنهای v-j-c..... ٥٦
جدول ۳-٥: برنامه حرارتی مورد استفاده در واکنش PCR جهت تکثیر ژنهای v-j-c..... ٥٦
جدول ۳-٦: ترکیب و غلظت نهایی مواد مورد استفاده در واکنش PCR جهت تکثیر ژنc..... ٥٦
جدول ۳-۷: برنامه حرارتی مورد استفاده در واکنش PCR جهت تکثیر ژن های c..... ٥٧
جدول ٤-۱: درصد میزان CG در نواحی مختلف زنجیره سبک ایمونوگلوبولینY..... ۷۲
جدول ٤-۲: درصد میزان CG در ناحیه ثابت زنجیره سنگین ایمونوگلوبولینY..... ۷۳
جدول٤-۳: ساختار و مکان نواحی توالی‌یابی شده خانواده ژنی زنجیره سبک..... ۷٤
جدول ٤-٤: خصوصیات ساختاری خانواده ژنی ناحیه ثابت رنجیره سنگین..... ۷٦
جدول ٤-٥:جهش‌های به دست آمده برای هاپلوتایپ‌های ناحیه ثابت زنجیره سنگین..... ۷۹
جدول ٤-٦: توالی های دریافت شده از NCBI جهت آنالیز فیلوژنتیک نواحی Cو J زنجیره سبک..... ۸۲
جدول٤-۷: ماتریس فواصل ژنتیکی و درصد تشابه بین گونه های مورد بررسی زنجیره سبک..... ۸٤
جدول ٤-۸: توالی های دریافت شده از NCBI جهت آنالیز فیلوژنتیک ناحیه ثابت زنجیره سنگین..... ۸٥
جدول٤-۹: ماتریس فواصل ژنتیکی و درصد تشابه ناحیه ثابت زنجیره سنگین..... ۸۷

فهرست اختصارات

اختصار	معادل انگلیسی	معادل فارسی
DNA	Deoxyribonocleic Acid	اسید دوزکسی ریبونوکلئیک
Ig	Immunoglobulin	ایمونوگلوبولین
IgA	Immunoglobulin A	ایمونوگلوبولین A
IgG	Immunoglobulin G	ایمونوگلوبولین G
IgM	Immunoglobulin M	ایمونوگلوبولین M
IgY	Immunoglobulin Y	ایمونوگلوبولین Y
Pmol	Pica mol	پیکامول
TBE	Tris, Boric acid, EDTA	تریس، بوریک اسید، ا.د.ت.ا
Fab	Fragment antigen binding	جایگاه اتصال به آنتی ژن
Bp	Base pair	جفت باز
SNP	Single Nucleotide polymorphism	چند شکلی تک نوکلئوتیدی
Rpm	round per minute	دور در دقیقه
mRNA	Messenger Ribonucleic acid	ریبو نوکلئیک اسید پیامبر
IGL	Immunoglobulin lambda light chain	زنجیره سبک لامبدا ایمونوگلوبولین
IGH	Immunoglobulin heavy chain	زنجیره سنگین ایمونوگلوبولین
IGLJ	Immunoglobulin lambda light chain joining gene	ژن اتصال زنجیره لامبداایمونوگلوبولین
IGHC	Immunoglobulin heavy chain constant gene	ژن ثابت زنجیره سنگین ایمونوگلوبولین
IGLC	Immunoglobulin lambda light chain constant gene	ژن ثابت زنجیره لامبدا ایمونوگلوبولین
IGHV	Immunoglobulin heavy chain variable gene	ژن متغیر زنجیره سبک ایمونوگلوبولین
IGLV	Immunoglobulin lambda light chain variable gene	ژن متغیر زنجیره لامبدا ایمونوگلوبولین
FR	Framework region	قطعات داربستی
Fc	Fragment crystallizable	قطعه کریستالیزه شونده
NCBI	National center of biotechnology information	مرکز ملی اطلاعات بیوتکنولوژی
Ul	Microliter	میکرولیتر
mM	Milli molar	میلی مولار
C region	Immunoglobulin constant region	ناحیه ثابت ایمونوگلوبولین
CH	Heavy chain constant region	ناحیه ثابتت زنجیره سنگین
V region	Immunoglobulin variable region	ناحیه متغیر ایمونوگلوبولین
VH	Heavy chain variable region	ناحیه متغیر زنجیره سنگین
CDR	Complementarity determining region	ناحیه مکمل تعیین کننده
Ng	Nanogram	نانوگرم

RT	Reveres Transportation	واکنش رونویسی معکوس
PCR	Polymerase Chain Reaction	واکنش زنجیره‌ای پلیمراز

فصل اول

۱- مقدمه

۱-۱-اهمیت موضوع

۱-۱-۱-اهمیت مطالعه تنوع ژنتیکی

تنوع ژنتیکی اختلافات بین افراد را در بسیاری از صفات همچون رنگ چشم، پوست و مو در انسانها، رنگ گل در گیاهان و توالی DNA و پروتئین منعکس می‌سازد. ابقا تنوع ژنتیکی به طور عمده بر حفاظت از جانوران موجود در هر ناحیه استوار است.به دو دلیل تنوع ژنتیکی از اهمیت بالای برخوردار است: اولا تغییر شرایط محیطی فرایندی است که همواره در جریان است و تنوع ژنتیکی برای سازگاری جوامع با چنین تغییراتی لازم است. ثانیا فقدان تنوع ژنتیکی غالبا با افزایش همخونی و کاهش سازگاری تولیدمثلی همراه است(آهوی، ۱۳۸٤).

عوامل متعددی در ایجاد تنوع ژنتیکی در جمعیتهای حیوانی نقش دارند که از آن جمله می توان به جهش[1]، نوترکیبی، مهاجرت[2]، رانش ژنتیکی[3] (در جمعیتهای کوچک) و گزینش[4] اشاره کرد. ولی معمولاً این تفاوت از نوع جایگاه های در دسترس برای تجزیه و تحلیل فاصله ژنتیکی نمی باشد. با این وجود در صورت فقدان شواهد تقویتی دیگر، تجزیه و تحلیل فاصلهٔ ژنتیکی امکان رده بندی نژادها و جمعیتها را مطابق با سطح تمایز فیلوژنتیکی آنها فراهم می نماید از بررسی تنوع ژنتیکی در حیوانات با استفاده از روشهای مولکولی می توان به مقدار تنوع موجود در جمعیتهای حیوانی پی برد. از کاربردهای بررسی

[1] Mutation
[2] Migration
[3] Gentic Drift
[4] Selection

تنوع ژنتیکی در حیوانات می توان به تعیین روابط ژنتیکی ژنوتیپ ها، مطالعهٔ ژنتیک جمعیت، مطالعه و حفاظت ژنتیکی ذخایر ژرم پلاسم اشاره نمود. مطالعهٔ تنوع ژنتیکی فرآیندی است که در آن تفاوت بین افراد، جمعیتها و یا گروهها با استفاده از روشهای آماری خاص بر اساس داده های حاصل از ارزیابی صفات مختلف بررسی می شوند. هر چند در جمعیتهای جانوری صفات مورفولوژیک و روابط شجره ای به عنوان معیارهای مطالعهٔ تنوع ژنتیکی مورد استفاده قرار گرفته اند، اما در سالهای اخیر با پیشرفت در زمینهٔ ژنتیک مولکولی و تکنولوژی نشانگرهای مولکولی، استفاده از این نشانگرها به عنوان ابزارهای کارا و مکمل به منظور بررسی تنوع ژنتیکی و روابط بین افراد به طور چشمگیری افزایش یافته است در این راستا بهترین و مناسب ترین نوع نشانگرها ، نشانگرهای مولکولی هستند که تفاوت و تنوع افراد را در سطح مادهٔ ژنتیکی نشان داده و از نظر تاثیر روی صفات، تفاوت داشته و همچنین تحت تاثیر شرایط محیطی قرار نگیرند(خاکپور و همکاران۱۳۸۹).

واحد اولیهٔ منابع ژنتیکی حیوانی نژاد، سویه یا جمعیتی با موقعیت جغرافیایی خاص می باشد. در کشورهای توسعه یافته معمولاً یک سازمان رسمی برای هر نژاد یا گروه نژادی وجود دارد و نژادها بخوبی تعریف شده اند و به عنوان گروه های دارای ویژگیهای خاص ریخت شناسی و تولیدی و غیره شناخته می شوند. اما در کشورهای در حال توسعه غالباً نژاد ها به روشنی تعریف نشده اند و می توان گفت که در این کشورها سویه، توده یا جمعیتهایی که از لحاظ جغرافیایی متمایز هستند؛ وجود ندارد. جمعیت‌های محلی ممکن است بدون آنکه تفاوت آشکاری داشته باشند، اسامی متفاوتی داشته باشند. یا اینکه ممکن است تفاوتی فنوتیپی در آنها وجود داشته باشد، بدون آنکه نامشان متفاوت باشد (نصیری، ۱۳۸۸). برآورد فواصل ژنتیکی جفتی میان تمامی نژادهای یک گونه و فیلوژنی حاصل از این فواصل، ما را در تصمیم گیری منطقی در مورد انتخاب نژادها به منظور حفظ یا استفاده و نیز برای مطالعات تکاملی جهت تعیین ارزش ژنتیکی مقایسه ای از نظر صفات تولیدی کمک خواهند نمود. این فواصل بهترین

ارائه کننده روابط میان نژادها می باشد. ولی از آنجائیکه معیار های فاصله ای نمی توانند آثار انتخاب مصنوعی را بر روی صفات اقتصادی یا ریخت شناختی و نیز آثار انتخاب طبیعی را بر روی شایستگی منظور نمایند، بایستی آنها را تنها به عنوان راهنمای ابتدایی برای ساختار طبیعی و تفاوت نژادی مورد استفاده قرار داد. در تصمیم گیری نهایی برای انتخاب نژادها باید هر نوع اطلاعات در دسترس راجع به صفات دارای ارزش اقتصادی، ویژگیهای سازگاری خاص، حضور ژنها یا فنوتیپهای منحصر به فرد، اهمیت محلی یا منطقه ای یک نژاد در سیستمهای تولیدی و قابلیت دسترسی به منابع و زیرساختها در منطقه استقرار نژاد در نظر گرفته شود (نصیری، ۱۳۸۸).

۱-۱-۲- اهمیت مطالعه توده‌های بومی

عموما نژادهای بومی حیوانات هر کشور به عنوان سرمایه ملی و ذخایر استراتژیک هر کشوری محسوب می شوند. حفظ و تکثیر آنها از ارزش و اهمیت بسیاری برخوردار است .با نگاهی به گذشته به خوبی می توان دریافت که مرغ بومی شایستگی خود را به خوبی ثابت نموده و نشان داده است که نقش بسیار مهم و اساسی در تولید پروتئین حیوانی و تخم مرغ به ویژه در روستا ها دارد. از جمله دلایل توجه به مرغان بومی کشور، قدرت سازگاری و مقاومت بیشتر در مقابل شرایط محیطی و بیماری ها، نیاز کمتر به هزینه نگهداری، امکانات وتکنولوژی پرورشی، ایجاد اشتغال و کمک به کاهش روند مهاجرت از روستا به شهر، افزایش درآمد خانوار روستایی و تأمین پروتئین مورد نیاز آنان و غیره می باشد (امامقلی بگلی و همکاران، ۱۳۸۸). مرغ بومی یکی از ذخایر ژنتیکی با ارزش است که برای حفظ و نگهداری آن مطالعه تنوع ژنتیکی، یکی از گام های اولیه و پایه می‌باشد(داویس و همکاران، ۲۰۰۲).

۱-۱-۳- اهمیت مطالعه ایمونوگلوبولین Y