

The expression of *MYH7* gene in femur, humeral muscle and back muscle tissues of fattening lambs of the Kermani breed

Samira Shokri

MSc Student, Animal Science Department, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran. E-mail address: samirashokri97@gmail.com

Amin Khezri

Associate Professor, Animal Science Department, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran. E-mail address: akhezri@uk.ac.ir

Mohammadreza Mohammadabadi

*Corresponding Author. Professor, Animal Science Department, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran. E-mail address: mrm@uk.ac.ir

Hamid Kheyroodin

Assistant Professor, Semnan University, Semnan, Iran. E-mail address: hamid.kheyroodin@semnan.ac.ir

Abstract

Objective

Skeletal muscles make up about 40% of body weight and are responsible for many functions, such as maintaining required energy, maintaining body condition, and protecting tissues. Normal growth of skeletal muscles is a prerequisite for animals to maintain normal functions and metabolism, and any abnormal growth of muscles leads to disease. Based on the analysis of gene expression profiles in skeletal muscle, *MYH7* gene has been identified as a candidate gene related to muscle contraction. The aim of this study was to investigate the expression of *MYH7* gene in femur, humeral muscle and back muscle tissues of fattening lambs of Kermani breed.

Materials and Methods

In this research, six Kermani male lambs were sampled from femur, humeral muscle and back muscle tissues at the time of slaughter. The total number of samples was equal to 54 samples (6 animals, 3 tissues and 3 repetitions of each tissue). Total RNA was extracted using a standard extraction kit. The quality and quantity of extracted RNA was evaluated using electrophoresis on 2% agarose gel and using nanodrop device. Parstous cDNA synthesis kit was used for the cDNA synthesis from the extracted RNA. Syber Green real time PCR reaction was used to check the

relative level of gene expression. The method of Pfaffl et al. (2002) was used to analyze the data obtained from real time PCR.

Results

The results of RNAs extracted at A260/A280 wavelength showed that the quality is suitable and desirable (1.9-1.8). In addition, the observation of two bands of 18S and 28S for RNA on agarose gel indicated that the RNA was intact and the absence of additional bands on the gel indicated that the extracted RNA was pure. The results of real time PCR curves and electrophoresis of PCR products on agarose gel (2%) showed that the *MYH7* gene is amplified and expressed in the femur, humeral muscle and back muscle tissues of Kermani male lambs. For the studied tissues (femur, humeral muscle and back muscle), a band of 283 bp was observed for the *MYH7* gene and a band of 112 bp was observed for the beta-actin gene in all samples. These observations indicated that the correct experiment was performed and the desired fragments were amplified correctly. The results of this research showed that this gene is expressed in the femur, humeral muscle and back muscle tissues.

Conclusion

In the present study, it was found that the *MYH7* gene is expressed in the femur, humeral muscle and back muscle. Therefore, it can be concluded that *MYH7* gene plays a role in different muscles, which are very necessary for more meat production in the sheep breeds.

Keywords: *MYH7* gene, femur, humeral muscle, back muscle

Paper Type: Research Paper.

Citation: Shokri S, Khezri A, Mohammadabadi MR, Kheyroodin H (2023) The expression of *MYH7* gene in femur, humeral muscle and back muscle tissues of fattening lambs of the Kermani breed. *Agricultural Biotechnology Journal* 15 (2), 217-236.

Agricultural Biotechnology Journal 15 (2), 217-236. DOI: 10.22103/jab.2023.21524.1486

Received: March 11, 2023.

Received in revised form: June 02, 2023.

Accepted: June 03, 2023.

Published online: June 10, 2023.

Publisher: Faculty of Agriculture and Technology Institute of Plant Production, Shahid Bahonar University of Kerman-Iranian Biotechnology Society.



© the authors

بررسی بیان ژن MYH7 در بافت‌های ران، دست و راسته بره‌های پرواری نژاد کرمانی

سمیرا شکری

دانشجوی کارشناسی ارشد بخش علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، ایران. تلفن: ۰۹۱۳۸۴۰۷۹۹۲، ایمیل:

samirashokri97@gmail.com

امین خضری

دانشیار، بخش علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، ایران. تلفن: ۰۹۱۳۳۹۸۷۵۳۴، ایمیل:

akhezri@uk.ac.ir

محمد رضا محمدآبادی

*نویسنده مسئول: استاد بخش علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، ایران. تلفن: ۰۹۱۳۳۹۸۷۵۳۴، ایمیل:

mrm@uk.ac.ir

حمید خیرالدین

استادیار، دانشکده کویرشناسی، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران. رایانامه: hamid.kheyrodin@semnan.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۲۰ تاریخ دریافت فایل اصلاح شده نهایی: ۱۴۰۲/۰۳/۱۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۳/۱۳

چکیده

هدف: ماهیچه‌های اسکلتی حدود ۴۰ درصد وزن بدن را تشکیل می‌دهند و عملکردهای زیادی، مانند حفظ انرژی مورد نیاز، حفظ وضعیت بدنی و محافظت از بافت‌های نرم را به عهده دارند. رشد طبیعی ماهیچه‌های اسکلتی پیش نیاز حیوانات برای حفظ فعالیت‌های طبیعی زندگی و متابولیسم است و هر گونه رشد غیر طبیعی ماهیچه‌ها منجر به بیماری می‌شود. بر اساس تجزیه و تحلیل پروفایل‌های بیان ژن در ماهیچه اسکلتی ژن MYH7 به عنوان ژن کاندیدای مربوط به انقباض عضلانی شناسایی شده است. هدف این مطالعه، بررسی بیان ژن MYH7 در بافت‌های ران، دست و راسته بره‌های پرواری نژاد کرمانی بود.

مواد و روش‌ها: در پژوهش حاضر نمونه برداری از شش راس بره نر کرمانی از بافت‌های ران، دست و راسته با سه تکرار در هنگام کشتار انجام شد و تعداد کل ۵۴ نمونه به دست آمد. RNA کل با استفاده از کیت استخراج (شرکت دنازیست) انجام شد. کیفیت و کمیت RNA استخراج شده با روش الکتروفورز روی ژل آگارز ۲ درصد و با استفاده از دستگاه نانودراپ مورد ارزیابی قرار گرفت.

برای سنتز cDNA از روی RNA استخراج شده از کیت سنتز cDNA شرکت parstous استفاده شد. از واکنش real time PCR به روش Syber Green برای بررسی میزان نسبی بیان ژن‌ها استفاده شد. از روش Pfaffl et al. (2002) برای تجزیه و تحلیل داده های حاصل از real time PCR استفاده شد.

نتایج: نتایج بررسی کیفیت RNAهای استخراج شده در طول موج A260/A280 نشان داد که کیفیت ۱/۸-۱/۹ مناسب و مطلوب است. به علاوه، مشاهده دو باند 18S و 28S برای RNA روی ژل آگارز نشان داد که RNA سالم است و نبود باند اضافی روی ژل نشان داد که RNA استخراج شده خالص است. نتایج منحنی‌های real time PCR و الکتروفورز محصولات PCR روی ژل آگارز (۲ درصد) نشان داد که ژن *MYH7* در بافت‌های دست، ران و راسته بره‌های نر کرمانی تکثیر و بیان می‌شود. در بافت‌های دست، ران و راسته باند ۲۸۳ جفت بازی برای ژن *MYH7* و برای ژن بتا‌کتین باند ۱۱۲ جفت بازی در همه نمونه‌ها مشاهده شد. این مشاهدات نشانگر این بود که آزمایش صحیح انجام شده است و قطعات مورد نظر به درستی تکثیر شده‌اند. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که این ژن در سه بافت دست، ران و راسته بیان می‌شود.

نتیجه‌گیری: در پژوهش حاضر مشخص شد که ژن *MYH7* در بافت‌های ماهیچه‌های ران، دست و راسته بیان می‌شود. لذا، می‌توان نتیجه گرفت که ژن *MYH7* در ماهیچه‌های مختلف، که برای تولید بیشتر گوشت در نژادهای گوشتی بسیار ضروری هستند نقش ایفا می‌کند.

کلمات کلیدی: ژن *MYH7*، ران، دست، راسته

نوع مقاله: پژوهشی.

استناد: شکری سمیرا، خضری امین، محمدآبادی محمدرضا، خیرالدین حمید (۱۴۰۲) بررسی بیان ژن *MYH7* در بافت‌های ران، دست و راسته بره‌های پرواری نژاد کرمانی. *مجله بیوتکنولوژی کشاورزی*، ۱۵(۲)، ۲۳۶-۲۱۷.

Publisher: Faculty of Agriculture and Technology Institute of Plant
Production, Shahid Bahonar University of Kerman-Iranian
Biotechnology Society.



© the authors

مقدمه

ژن 7 Myosin heavy chain یا *MYH7* که به نام‌های *CMD1S*، *CMH1* و *MPD1* نیز شناخته می‌شود، دستورالعمل‌هایی را برای ساخت پروتئینی به نام زنجیره سنگین بتا-میوزین (beta (β)-myosin heavy) ارائه می‌دهد. این پروتئین در ماهیچه قلب و در رشته‌های ماهیچه ای اسکلتی نوع I یافت می‌شود (Colegrave & Peckham 2014; Montag et al. 2017). فیبرهای نوع I که به عنوان فیبرهای کند انقباض نیز شناخته می‌شوند، یکی از دو نوع فیبر تشکیل دهنده ماهیچه‌های

اسکلتی هستند. فیبرهای نوع I جزء اصلی عضلات اسکلتی هستند که در برابر خستگی مقاوم هستند. به عنوان مثال، عضلات درگیر در وضعیت بدن، مانند عضلات گردن که سر را ثابت نگه می دارند، عمدتاً از الیاف نوع I ساخته شده اند. در سلول‌های قلب و ماهیچه های اسکلتی، زنجیره سنگین بتا-میوزین بخشی از پروتئین بزرگتری به نام میوزین نوع II را تشکیل می‌دهد (Cecconi et al. 2012; Maron et al. 2016). هر پروتئین میوزین نوع II از دو زنجیره سنگین (تولید شده از ژن *MYH7*) و دو جفت زنجیره سبک تنظیمی (تولید شده از چندین ژن دیگر) تشکیل شده است. زنجیره‌های سنگین هر کدام دو قسمت دارند: ناحیه سر و ناحیه دم. ناحیه سر که حوزه حرکتی نامیده می شود، با پروتئینی به نام اکتین که برای حرکت و شکل سلول مهم است، تعامل دارد. ناحیه دم بلند با سایر پروتئین ها از جمله نواحی دم سایر پروتئین های میوزین تعامل دارد. میوزین نوع II نیروی مکانیکی را ایجاد می کند که برای انقباض ماهیچه ها لازم است. این یک بخش جدایی ناپذیر از ساختارهای سلولی عضلانی به نام سارکومر است که واحدهای اصلی انقباض عضلانی هستند (Krendel & Mooseker 2005; Yates et al. 2016). سارکومرها از رشته های ضخیم ساخته شده از میوزین نوع II و رشته های نازک از اکتین تشکیل شده اند. رشته های ضخیم و نازک روی هم قرار گرفته اند به یکدیگر متصل می شوند و رها می شوند که به رشته ها اجازه می دهد نسبت به یکدیگر حرکت کنند تا ماهیچه ها بتوانند منقبض شوند. در قلب، انقباضات منظم عضله قلب، خون را به بقیه بدن پمپاژ می کند. انقباض و شل شدن هماهنگ عضلات اسکلتی به بدن اجازه حرکت می دهد (Tajsharghi & Oldfors 2013; Yu et al. 2018). ماهیچه های اسکلتی حدود ۴۰ درصد وزن بدن را تشکیل می‌دهند و عملکردهای زیادی، مانند حفظ انرژی مورد نیاز، حفظ وضعیت بدنی و محافظت از بافت‌های نرم را به عهده دارند. رشد طبیعی ماهیچه‌های اسکلتی پیش نیاز حیوانات برای حفظ فعالیت‌های طبیعی زندگی و متابولیسم است و هر گونه رشد غیر طبیعی ماهیچه‌ها منجر به بیماری می‌شود (Parker et al. 2003). نوع فیبر ماهیچه گوسفند به انسان نزدیک‌تر از موش است، بنابراین گوسفند ممکن است مدل مناسب تری برای مطالعه عضلات اسکلتی باشد (Hemmings et al. 2015). رشد و توسعه ماهیچه‌های اسکلتی گوسفند نیز ارتباط نزدیکی با تولید گوشت دارد. رشد ماهیچه‌های اسکلتی، شامل تشکیل و تکثیر میوبلاست‌ها، تشکیل میوتیوب‌ها و فیبرهای عضلانی، و فرآیند بلوغ نهایی پیچیده است (Zhao et al. 2011; Xu et al. 2012). تکثیر میوسیت‌ها و تشکیل فیبرهای عضلانی بیشتر در دوره جنینی کامل می‌شود (Edmondson et al. 1994). بنابراین، دوره جنینی یک دوره حیاتی برای رشد عضلات اسکلتی است. تکثیر میوفیبرهای گوسفند قبل از بارداری یا حدود ۱۰۰ روز پس از آن اتفاق می‌افتد. پس از تکثیر میوفیبرها رشد می‌کنند و سپس با هم ترکیب شوند تا هیپرتروفی را تجربه کنند (Ren et al. 2011). ژن *MYH7* روی کروموزوم شماره ۱۴ قرار دارد و ۸ نسخه ترنسکرپت تولید می‌کند (Schiaffino et al. 2015). ژن *MYH7* بیست و سه هزار جفت باز طول دارد و شامل ۴۱ اگزون است، که ۳۸ اگزون پروتئینی متشکل از ۱۹۳۵ اسید آمینه را رمزگذاری می کند.

جهش های متعددی در ژن *MYH7* شناسایی شده‌اند که با کاردیومیوپاتی هیپرتروفیک یا HCM مرتبط هستند (Walsh et al. 2009). از آنجایی که جهش در ژن *MYH7* عمدتاً جهش های دگر معنی (تغییر چارچوب) یا بد معنی (missense)

(mutations) هستند، یک اثر پیتید سمی برای پروتئین های جهش یافته فرض شده است. با توجه به بیماری، فنوتیپ های خوش خیم یا بدخیم به این جهش ها اختصاص داده شده است. (Maron 2002). همچنین مشخص شده که شدت بیماری می تواند حتی بین بیماران دارای جهش یکسان متفاوت باشد (Maron 2002; Maron et al. 2012). بنابراین، عوامل محیطی و ژنتیکی دیگری نیز باید بر فنوتیپ بیماری تأثیر بگذارد (Lopes et al. 2013). مطالعات افزایش قابل توجهی در ژن های ماهیچه ای مختص نوع MYH4 IIb و کاهش تنظیم ژن های مختص فیبرهای نوع IIa (اکسیداتیو / گلیکولیتیک سریع) (MYH2) و فیبرهای نوع ۱ (اکسیداتیو کند) (MYH7) را در عضلات هیپرتروفی شده گزارش کرده اند (Vuocolo et al. 2007; Yu et al. 2018). بر اساس تجزیه و تحلیل پروفایل های بیان ژن در ماهیچه اسکلتی گوسفند از پنج نژاد گوشتی اسپانیایی، MYH7 به عنوان ژن کاندید مربوط به انقباض عضلانی شناسایی شده است (Noce et al. 2018). در پژوهشی (Lobjois et al. 2008) مشخص کردند که MYH7 با رشد عضلانی در خوک مرتبط است. در پژوهشی دیگر (Zheng et al. 2009) تفاوت های بیان ژن در ماهیچه ها بین مرغ های تخمگذار و جوجه های گوشتی را با هیبریداسیون ریزآرایه ای مورد بررسی قرار دادن و چندین ژن مرتبط مثبت یا منفی با نرخ رشد را شناسایی کردند که در رشد و توسعه ماهیچه ها نقش دارند. آنها مشخص کردند که سرعت رشد آهسته مرغ های تخمگذار نسبت به جوجه های گوشتی با سطوح بیان بالاتر ژن های مرتبط با ماهیچه های نوع کند، از جمله MYH7B مرتبط است (Zheng et al. 2009).

به طور کلی گوسفند یک دام چندمنظوره است و بخصوص از نظر تولید گوشت، پشم، پوست و شیر مورد توجه است (Amiri Roudbar et al. 2017). گوسفند موجودی اجتماعی، زیبا، بسیار آرام و مفیدی است که تمایل زیادی به گله دارد و بدون داشتن گله نگهداری و پرورش آن خیلی سخت است. آن ها گاهی اوقات رفتارهای شگفت انگیزی از خود نشان می دهند و هوشمندانه با مسائل رفتار می کنند. گوسفندان می توانند بین خود رابطه دوستانه برقرار کرده و زمانی که گله آن ها توسط عامل خارجی تهدید شوند به هم می چسبند و سعی می کنند از خود دفاع کنند (Amiri Mohammadifar and Mohammadabadi 2011; Roudbar et al. 2018). گوسفند یک حیوان نسبتاً خوش بنیه ای است که آب و هوای متغییر و خشک را تحمل می کند و با فقیرترین علوفه و غذاها به رشد خود ادامه می دهد. گوسفند در مقایسه با سایر دام ها به جیره نگهداری کمتری احتیاج دارد و بیشتر غذایی را که دریافت می کند صرف تولید رشد و نمو خود می نماید. به همین سبب در بیشتر کشورهای دنیا از نقطه نظر اقتصادی در رتبه اول پرورش قرار دارد (Mohammadabadi et al. 2018; Mohamadipoor Saadatabadi et al. 2021). گوسفند می تواند زمین های نامرغوبی را که برای کشت و زرع مناسب نیست با ایجاد مرتع مصنوعی مورد استفاده قرار دهد. گوسفند بهترین دام اهلی است که می تواند از مراتع و پس چرهای زراعی تغلیف نماید (Mohammadabadi 2016; Ghotbaldini et al. 2019). انواع فراورده های گوسفند را در تمام طول سال می توان به بازار عرضه کرد، به همین جهت دامدار کمتر با مشکلات مالی مواجه می شود. در طول قرن ها بشر از این حیوان برای برطرف کردن برخی از نیازهای خود مانند نیاز به غذا (از طریق تولید گوشت و شیر)،

نیاز به تأمین پوشش و لباس (از طریق تولید پشم) استفاده می‌کند (Aminafshar et al. 2014; Mohammadabadi et al. 2017). گوشت مهم‌ترین محصول دامی تولیدشده توسط گوسفندان است به عبارتی تولید گوشت قرمز اولویت اول پرورش‌دهندگان گوسفند است. به طوری که با وجود اینکه مصرف گوشت طیور، گاو و گوساله طی سال‌های اخیر افزایش یافته است، ولی مصرف گوشت گوسفندی از لحاظ کیفی از جمله ذائقه مصرف و تنوع غذایی بر سایر گوشت‌های مصرفی برتری دارد که منبع مغذی بسیاری از ویتامین‌ها، پروتئین‌های حیاتی برای داشتن زندگی سالم می‌باشد (Mahmoodi et al. 2018; Masoudzadeh et al. 2020). شیر گوسفندان به‌عنوان یک ماده‌ی غذایی کامل شناخته می‌شود و اغلب در تولید پنیر و ماست استفاده می‌شود. همچنین برخلاف سایر فراورده‌ها، پشم به‌آسانی و برای مدت طولانی می‌تواند ذخیره شود و در موقع لزوم به بازار عرضه شود (Mohammadabadi and Soflaei 2020). از چربی خالص پشم ماده‌ای به نام لانولین تولید می‌شود که به‌عنوان ماده اصلی مخلوط کننده کرم‌های طبی و آرایشی استفاده می‌شود (Mohammadabadi et al. 2021). همچنین از فضولات گوسفند به‌عنوان کود کشاورزی استفاده می‌شود (Bahrapour et al. 2008; Shahsavari et al. 2021). هم‌اکنون مشخصات ۲۷ نژاد گوسفند در کشور شناسایی شده است (Jafari Ahmadabadi et al., 2023).

گوسفند نژاد کرمانی در زمره بهترین نژادهای پشمی ایران به شمار می‌رود و شیر و سایر فرآورده‌های آن در درجات دوم و سوم اهمیت قرار دارند (Safaei et al. 2022). گوسفندان کرمانی جزء نژادهای پشمی و گوشتی هستند این گوسفند در برابر آب‌وهوای خشک و کمبود علوفه، در مجموع مقاوم و چابک است و با داشتن دست‌وپایی بلند می‌تواند به راحتی برای جستجوی علوفه راهپیمایی نموده و به ارتفاعات صعود نماید (Shahsavari et al. 2022). حالت‌های فیزیکی بدن این گوسفندان نیز با شرایط زیست‌بوم آن‌ها سازگار است (Mohammadabadi et al. 2022). حالت بدن گوسفندان کرمانی گرد و مقداری کشیده است و مفصل خرگوشی در این نوع از گوسفندان حالت خمیده دارد حالت گردن در این گوسفندان عضله‌ای است و گوسفندان کرمانی دارای چشم‌های ریزی و کوچکی هستند پشت و کمر و کپل کم‌وبیش در یک امتداد قرار گرفته و صاف و هموار است. این ویژگی‌ها باعث تمایز از گوسفندان دیگر می‌شود (Arabpour et al., 2021). این گوسفندان دارای پشم و پوستی به رنگ نخودی هستند و از نظر رنگی می‌توان آن‌ها را از دیگر گوسفندان تمایز داد. از آنجاکه پشم این گوسفندان دارای رنگ نخودی می‌باشد و الیاف‌های آن مرغوبیت بالایی دارد. پشم این گوسفند همچنین دارای قدرت رنگ‌پذیری بالایی می‌باشد. گوسفندان کرمانی را اغلب می‌توان در شهرهایی مانند جیرفت، شهربابک، کهنوج، سیرجان و شهرستان بافت مشاهده کرد (Jafari Ahmadabadi et al., 2023). منطقه و زیستگاه اصلی این جانور جنوب شرقی ایران است که منطقه ای گرم و خشک با مراتع و پوشش گیاهی ضعیف و ناپایدار است (Mohammadabadi 2017). این گوسفند نقش مهمی در تأمین نیاز عشایر و دامداران این منطقه از ایران دارد (Mohammadabadi 2020). لذا، تحقق نیازهای این نژاد از طریق اصلاح ژنتیکی و غیر ژنتیکی وظیفه قابل توجهی در بهبود پرورش این گوسفند و حفظ آن دارد. در مطالعه گونه‌های بومی، شناسایی ژن‌های موثر بر صفات مهم تولیدی یکی از موضوعات ضروری است (Safaei et al. 2022). مطالعات نشان داده که مکانیسم‌های مولکولی، از جمله همانندسازی DNA، رونویسی، ترجمه و حتی نحوه تنظیم ژن‌ها یکی از

مهمترین فرآیندهای ژنتیکی هستند (Shahsavari et al. 2022). بنابراین، هدف این مطالعه بررسی بیان ژن *MYH7* در بافت‌های ماهیچه‌ای گوسفند کرمانی با استفاده از *real time PCR* بود.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش از شش بره نر کرمانی نمونه‌برداری از بافت‌های ران، دست و راسته در هنگام کشتار انجام شد. به طوری که تعداد کل نمونه‌ها برابر ۵۴ نمونه شد (۶ حیوان، ۳ بافت و از هر بافت ۳ تکرار). برای نمونه برداری از بافت‌ها از تیغ استریل استفاده شد. قطعات کوچک نمونه‌ها در داخل میکروتیوب های ۱/۵ میلی لیتری قرار داده شد. برای گذاشتن میکروتیوب‌ها در داخل تانک ازت از فویل آلومینیومی استفاده شد. پس از آن نمونه‌ها بلافاصله به فریزر -۸۰ منتقل شدند. برای عاری سازی وسایل از RNase، قبل از انجام استخراج RNA تمامی آنها با آب DEPC^۱ (سیناژن، MR8244) شستشو شدند.

RNA کل با استفاده از کیت استخراج (شرکت دناریست) استخراج شد. ابتدا ۵۰-۱۰۰ میلی گرم از بافت موردنظر در هاون چینی استریل به خوبی با نیتروژن مایع کوبیده شد و در یک میلی لیتر بافر استخراج به طور کامل همگن شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۵-۱۰ ثانیه ورتکس شده و به مدت ۵ دقیقه در دمای آزمایشگاه نگهداری شدند. سپس به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد با دور ۱۲۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شدند. پس از اتمام کار دستگاه سانتریفیوژ، محلول فوقانی تیوب به یک تیوب جدید ۱/۵ سی سی منتقل شد. سپس ۲۰۰ میکرو لیتر کلروفرم سرد به هر نمونه افزوده شد و به مدت ۱۵ ثانیه به شدت لوله تکان داده شد یا ورتکس گردید. لوله به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد با سرعت ۱۲۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شد. پس از اتمام سانتریفیوژ سه فاز تشکیل شد. فاز بالایی که حاوی RNA است به میکروتیوب جدید منتقل شد. در میکروتیوب جدید به میزان نیمی از حجم مایع منتقل شده ایزوپروپانول اضافه شد. همچنین به میزان نیمی از حجم مایع منتقل شده از بافر G2 اضافه شد. محتوای میکروتیوب به خوبی مخلوط گردید و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه انکوبه شد. سپس میکروتیوب به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد با سرعت ۱۲۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شد. پس از اتمام، رسوب سفیدرنگ کم حجمی (RNA) در ته لوله مشخص گردید. مایع رویی با احتیاط خارج گردید به رسوب باقی مانده یک میلی لیتر الکل ۷۰ درصد اضافه شد. مایع رویی با احتیاط و مشاهده مداوم رسوب ته میکرو تیوب خارج شد. رسوب در محیط آزمایشگاه به مدت ۱۵ دقیقه انکوبه گردید تا الکل خود را از دست بدهد. به رسوب خشک شده به میزان ۳۰ تا ۱۰۰ میکرو لیتر آب فاقد ریبونوکلاز اضافه شد. جهت حذف آلودگی احتمالی DNA ژنومی موجود در RNA استخراج شده، از آنزیم DNaseI شرکت سیناکلون مطابق دستورالعمل مندرج استفاده گردید. کیفیت و کمیت RNA استخراج شده با روش الکتروفورز روی ژل آگارز ۲ درصد و با استفاده از دستگاه نانودراپ مورد ارزیابی قرار گرفت. RNA استخراج شده تا انجام مراحل

¹Di Etyhyl Pyro Carbonate water

بعدی آزمایش به فریزر با دمای ۸۰- درجه سانتی گراد منتقل شد. برای سنتز cDNA از روی RNA استخراج شده از کیت سنتز cDNA شرکت parstous استفاده شد. جهت یکسان کردن RNA به کار رفته در ساخت cDNA، مقدار یک میکروگرم از RNA کل برای سنتز cDNA استفاده شد. محصول واکنش نسخه برداری معکوس در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد. برای انجام واکنش real time PCR از آغازگرهای داده شده در جدول ۱ استفاده شد. این آغازگرها توسط شرکت تکاپوزیست (ایران) سنتز شدند.

جدول ۱. خصوصیات آغازگرهای استفاده شده برای تکثیر ژن *MYH7* و بتاکتین در بافت‌های ران، دست و راسته بره‌های نژاد کرمانی

Table 1. Characterization of used primers for amplification of *MYH7* and beta actin genes in femur, humeral muscle, back muscle tissues of Kermani lambs

طول قطعه تکثیر شده	توالی آغازگر	نام ژن
Amplicon size (bp)	Primer sequence	Gene name
283	5'- GAGATGGCCGCGTTTGGGGAG -3'	ژن <i>MYH7</i> آغاز گر رفت Forward Primer
	5'- GGCTCGTGCAGGAAGGTCAGC -3'	Gene <i>MYH7</i> آغازگر برگشت Reverse Primer
112	5' GCACCACACCTTCTACAAC -3'	ژن بتاکتین آغاز گر رفت Forward Primer
	5'- CATGATCTGGGTCATCTTCTC -3'	Beta actin Gene آغازگر برگشت Reverse Primer

از واکنش real time PCR به روش Syber Green برای بررسی میزان نسبی بیان ژن‌ها استفاده شد. محتویات کیت Syber Green عبارت بودند از: Taq DNA polymerase، Mgcl2، dNTPs، PCRBuffer و sybergreen. واکنش‌های real time PCR در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر (جدول ۲) و با انجام ۴۰ سیکل (جدول ۳ و ۴) صورت گرفت.

جدول ۲. مواد و مقدار استفاده شده برای انجام واکنش real time PCR در مطالعه حاضر

Table 2. Used materials and amount for real time PCR reaction in the current study

Material	ماده	Amount (μL)	مقدار مورد استفاده (μL)
syber green Master-Mix		10	
Fed primer (10 pmol/μ)		1	
Rev primer (10pmol/μ)		1	
cDNA (20 ng/μ)		1	
Water (ddw)		7	

جدول ۳. شرایط دمایی برای انجام واکنش real time PCR جهت تکثیر ژن MYH7

Table 3. Thermal conditions for real time PCR reaction to amplicate MYH7 gene

time	زمان	temperature (°C)	درجه حرارت (°C)	step	مرحله
10 min		95		Primary denaturation	واسرشت سازی اولیه
10 S		95		Denaturation	واسرشت سازی هر چرخه
45 S		59		Annealing	اتصال پرایمر به توالی هدف
45 S		72		Extension	بسط و ساخت رشته جدید
5 min		72		Final Extension	تکثیر نهایی

جدول ۴. شرایط دمایی برای انجام واکنش real time PCR جهت تکثیر ژن بتا اکتین

Table 4. Thermal conditions for real time PCR reaction to amplicate beta-actin gene

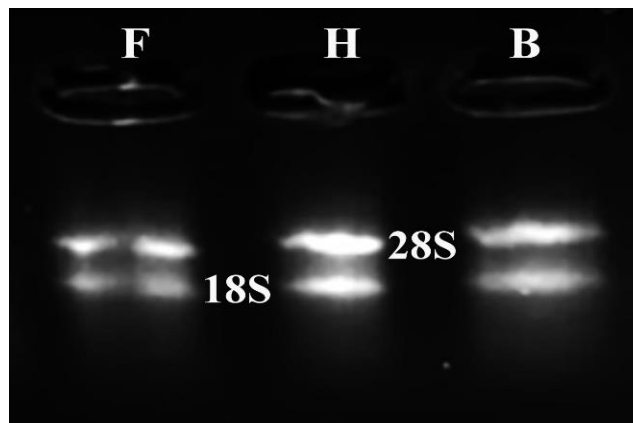
time	زمان	temperature (°C)	درجه حرارت (°C)	step	مرحله
10 min		94		Primary denaturation	واسرشت سازی اولیه
1 min		94		Denaturation	واسرشت سازی هر چرخه
50 S		58		Annealing	اتصال پرایمر به توالی هدف
40 S		72		Extension	بسط و ساخت رشته جدید
3 min		72		Final Extension	تکثیر نهایی

از روش Pfaffl et al. (2002) برای تجزیه و تحلیل داده های حاصل از real time PCR استفاده شد. برای بررسی درصد بازده واکنش PCR در این روش ابتدا نمودار استاندارد برای ژن های MYH7 و بتا اکتین ترسیم شد. از غلظت های مختلف cDNA

(۱، ۰/۱، ۰/۰۱، ۰/۰۰۱) برای PCR جهت بدست آوردن نمودارهای استاندارد استفاده شد. نتایج حاصله برای بررسی میزان نسبی تکثیر بیان با فرمول Pfaffl et al. (2002) محاسبه شد.

نتایج و بحث

نتایج بررسی کیفیت RNAهای استخراج شده در طول موج A260/A280 نشان داد که کیفیت مناسب و مطلوب است (۱/۸-۱/۹). به علاوه، همان طور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود مشاهده دو باند 18S و 28S برای RNA روی ژل آگارز نشان داد که RNA سالم است و نبود باند اضافی روی ژل نشان داد که RNA استخراج شده خالص است.

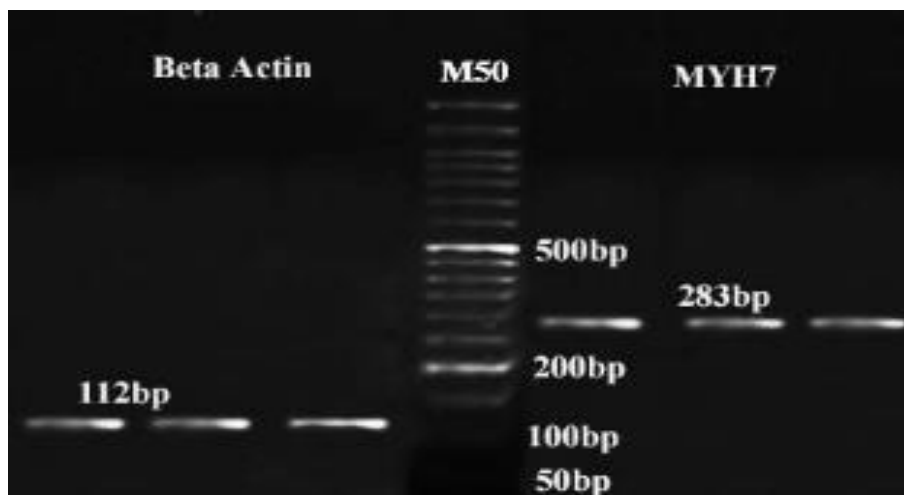


شکل ۱. نمونه‌های RNA استخراج شده از سه بافت ران (F)، دست (H) و راسته (B) بره کرمانی روی ژل آگارز

Figure 1. Samples of extracted RNA from three tissues femur (F), humeral muscle (H), back muscle (B) of Kermani lambs on agarose gel

نتایج منحنی‌های real time PCR و الکتروفورز محصولات PCR روی ژل آگارز (۲ درصد) نشان داد که ژن *MYH7* در بافت‌های دست، ران و راسته بره‌های کرمانی تکثیر و بیان می‌شود. برای بافت‌های مورد مطالعه (دست، ران و راسته) باند ۲۸۳ جفت بازی برای ژن *MYH7* و برای ژن بتاکتین باند ۱۱۲ جفت بازی در همه نمونه‌ها مشاهده شد (شکل ۲). این مشاهدات نشانگر این بود که آزمایش صحیح انجام شده است و قطعات مورد نظر به درستی تکثیر شده‌اند. طی انجام واکنش real time PCR دستگاه میزان تغییرات نور فلورسنت در هر سیکل را به صورت 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 فلورسنت ساطع شده از تکثیر واکنش به حد آستانه رسیده است. منحنی ذوب ژن *MYH7* و بتاکتین، اختصاصی بودن و دمای Tm محصول (دمایی است که در آن نیمی از

محصول از حالت دو رشته ای خارج شده است) واکنش real time PCR این دو ژن را نشان می‌دهد. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که این ژن در سه بافت دست، ران و راسته بیان می‌شود. بازده واکنش PCR برای ژن‌های *MYH7* و بتا‌اکتین در این مطالعه به ترتیب ۹۸ و ۹۹ درصد برآورد شد.



شکل ۲. الکتروفورز محصولات تکثیر ژن‌های *MYH7* (سمت راست) و بتا اکتین (سمت چپ) در بافت‌های دست، ران و راسته بره کرمانی روی ژل آگارز. M50=نشانگر اندازه

Figure 2. Electrophoresis of amplified products for *MYH7* (right side) and Beta actin (left side) genes in femur, humeral muscle, and back muscle of Kermani lambs on agarose gel. M50=size marker

میوزین‌های سارکومریک موجود در ماهیچه مخطط پستانداران کلاس II یا میوزین‌های معمولی هستند که هر مولکول میوزین از دو زنجیره سنگین (MyHCs)، دو زنجیره سبک ضروری (MLCs) و دو MLC تنظیمی تشکیل شده است. هر دو MyHC و MLC در ایزوفرم‌های مختلف وجود دارند که توسط ژن‌های مختلف کدگذاری می‌شوند. در مجموع یازده MyHCs توسط ۶ ژن زنجیره سنگین میوزین (MYH) کدگذاری می‌شوند که به طور گسترده در عضلات بدن و ۵ ژن دیگر با بیان محدود در عضلات اسکلتی تخصصی بیان می‌شوند. پنج MLC ضروری توسط چهار ژن زنجیره سبک میوزین (MYL) و دو MLC تنظیمی توسط دو ژن MYL دیگر کدگذاری می‌شوند. بیشتر این ژن‌ها در عضله اسکلتی در حال رشد نیز بیان می‌شوند، از جمله دو ایزوفرم MyHC به نام میوزین‌های جنینی و نوزادی (یا پری‌ناتال) که به ترتیب توسط MYH3 و MYH8 کدگذاری می‌شوند و زنجیره سبک میوزین ۱ جنینی/دهلیزی، که توسط ژن MYL4 کدگذاری می‌شود. این ژن‌ها در مراحل اولیه رشد عضلانی در سطوح بالایی وجود دارند، پس از تولد کاهش می‌یابند و در طی بازسازی عضلانی دوباره بیان می‌شوند (Schiaffino et al. 2015). بیان نابرابر دو آلل یک ژن (عدم تعادل آللی) برای طیف وسیعی از ژن‌ها و بافت‌ها گزارش شده است و بیان

نامتعداد انواع مرتبط با بیماری می تواند بر پیشرفت بیماری های مختلف تأثیر بگذارد (Pastinen 2010). همچنین برای HCM (کاردیومیوپاتی هیپرتروفیک) نشان داده شد که فراوانی نسبی mRNA و پروتئین جهش یافته و نوع وحشی بین جهش های HCM متفاوت است (Di Domenico et al. 2012; Helms et al. 2014; Tripathi et al. 2011; Witjas-Paalberends et al. 2013). به نظر می رسد نسبت β -MyHC جهش یافته به نوع وحشی با شدت بیماری مرتبط باشد (Jiang et al. 2013; Tripathi et al. 2011). علاوه بر این عدم تعادل آلی در سطح بافت، اخیراً نشان داده شده که کسر نسبی mRNA ژن جهش یافته در مقابل نوع وحشی نیز از سلولی به سلول دیگر در میوکارد بیماران HCM متغیر است (Kraft et al. 2016). شواهد نشان می دهد این عدم تعادل آلی سلول به سلول به دلیل یک سوئیچینگ مستقل و تصادفی روشن و خاموش شدن آل جهش یافته و آل نوع وحشی ژن MYH7 در هر سلول ایجاد می شود. در اصل، چنین بیان تصادفی باید به کسرهای تقریباً مساوی از mRNA از هر دو آل در سطح بافت منجر شود. با این حال، به طور متوسط، انحراف یکسانی از رابطه ۱:۱ mRNA ژن جهش یافته و نوع وحشی برای همه سلول های منفرد آنالیز شده پیدا شده است، همانطور که در سطح بافت برای همان بیماران تعیین شده است (Kraft et al. 2016; Tripathi et al. 2011). بنابراین، عواملی علاوه بر سوئیچ روشن و خاموش شدن تصادفی آل ها باید باعث عدم تعادل آلی در سطح بافت شوند. مکانیسم های تنظیمی عدم تعادل آلی شامل انواع عناصر تنظیم کننده سیس مختلف مانند ثبات و گردش RNA، تنظیم کننده های اتصال یا پیرایش فاکتور رونویسی و همچنین تنظیم کننده های اپی ژنتیکی مانند متیلاسیون DNA می شود (Bjornsson et al. 2008; Milani et al. 2009). بنابراین، عدم تعادل آلی ژن MYH7 در HCM ممکن است تحت تأثیر تغییرات توالی ذاتی در نواحی تنظیمی آل های همبسته با HCM قرار گیرد یا مستقیماً توسط جهش ها تغییر یابد. در همین راستا در پژوهشی Montag et al. (2017) بیان نسبی آل های MYH7 را بر اساس جایگزینی های تک بازی در ۱۱ اهداکننده غیر HCM (کاردیومیوپاتی هیپرتروفیک) و در ده بیمار HCM (کاردیومیوپاتی هیپرتروفیک) بررسی کردند. آنها نتیجه گرفتند که آل های MYH7 را می توان در mRNA و در سطح پروتئین در هر دو، بیماران HCM و غیر HCM، متعادل و بسیار نامتعادل بیان کرد. در افراد غیر کنترل کننده HCM، بیان نامتعادل هیچ تأثیر فیزیولوژیکی نخواهد داشت. با این حال، در بیماران HCM یک آل برای یک پروتئین تغییر یافته عملکردی دستگاه انقباضی کم می کند. تأثیر این تغییر ممکن است با افزایش کسر پروتئین جهش یافته افزایش یابد. نتایج آنها نشان داد که مکانیسم های مختلفی باید برای ایجاد عدم تعادل آلی نه تنها بین بیماران با جهش های مختلف، بلکه بین بیمارانی که جهش های HCM یکسان دارند، وجود داشته باشد.

در پژوهشی Yu et al. (2018) به مطالعه ژن های پردها که مستقیماً به سیگنال دهی DLK1 (Delta-Like 1 homolog 1) و RTL1 (Retrotransposon-like 1) (ژن هایی که در نتیجه اثرات خاص عضلانی تغییر می کنند) پاسخ می دهند. آنها در این مطالعه از گوسفند کالیپچ (ماهیچه مضاعف) استفاده کردند. گوسفند کالیپچ به دلیل هیپرتروفی عضلانی پس از تولد که در قسمت های کمر و عقب برجسته است به خوبی شناخته شده است (Koohmaraie et al. 1995; Jackson et al. 2000; Duckett et al. 1997). توده عضلانی گوسفند کالیپچ ۳۵-۴۰ درصد افزایش یافته و چربی لاشه ۶-۷ درصد کاهش

می‌یابد، در حالی که وزن زنده نسبت به بره های معمولی یکسان است (Jackson et al. 1997; Freking et al. 1998). بره های کالیپیج با ماهیچه های طبیعی متولد می‌شوند و هیپرتروفی در ۴ تا ۶ هفتگی قابل تشخیص است (Carpenter and Cockett 2000; Lorenzen et al. 2000). پس از ۵ هفتگی، نسبت افزایش یافته و اندازه بزرگتر فیبرهای عضلانی سریع انقباض و گلیکولیتیک در عضلات کالیپیج آشکار می‌شود (Carpenter et al. 1996). همه ماهیچه های اسکلتی در گوسفند کالیپیج دچار هیپرتروفی نمی‌شوند، ماهیچه های *supraspinatus* و *infraspinatus* در اندام های قفسه سینه هر دو دچار هیپرتروفی نمی‌شوند. جهش *callipyge* یک تغییر تک بازی A (ال نوع وحشی) به یک ال G (*Callipyge*) بین ژن های *DLK1* (*Delta-Like homolog 1*) و *MEG3* (*Maternal Expressed Gene 3*) در کلاستر ژنی ایمپرینت شده است (Freking et al. 2002; Smit et al. 2003). جهش *DLK1-DIO3* (*Deiodinase, Iodothyronine, type III*) در کلاستر ژنی ایمپرینت شده در برگیرنده جهش به عنوان یک عنصر کنترل کننده پروتئین را مختل نمی‌کند. توالی ۱۲ جفت باز بسیار حفاظت شده در برگیرنده جهش به عنوان یک عنصر بردن یک آل کالیپیج از پدر، رونویسی ژن های کدکننده پروتئین پدري *DLK1* و *RTL1* (*Retrotransposon-like 1*) را تنظیم می‌کند، در حالی که به ارث بردن یک آل کالیپیج مادری بیان RNA غیر کدکننده مادری، از جمله *MEG3*، *MEG8* و *RTL1AS* (*Maternal Expressed Gene 8*) و *RTL1 antisense*) را افزایش می‌دهد (Bidwell et al. 2001, 2006 and 2014; Charlier et al. 2001; Perkins et al. 2006). از آنجایی که فنوتیپ عضلانی فقط در افراد هتروزیگوت بیان می‌شود که جهش را از پدر به ارث می‌برند، نتیجه گرفته شده است که ژن (های) کدکننده پروتئین بیان شده توسط پدر باید عامل اصلی باشند. برای بررسی تغییر ایزوفرم های زنجیره سنگین میوزین در حیوانات کالیپیج، چهار ژن زنجیره سنگین میوزین (*MYH1*، *MYH2*، *MYH4*، *MYH7*) توسط Yu et al. (2018) مورد بررسی قرار گرفته است. البته بیان افتراقی ایزوفرم های میوزین تغییرات نوع فیبر ایجاد شده را در عضله کالیپیج نشان داد. تنظیم مثبت و قابل توجه ژن های ماهیچه ای مشخص کننده نوع *IIb* (*MYH4*) و کاهش تنظیم ژن های مشخص کننده فیبرهای نوع *IIa* (اکسیداتیو/گلیکولیتیک سریع) یا *MYH2* و فیبرهای نوع *I* (اکسیداتیو کند) یا *MYH7* در عضلات هیپرتروفی شده گزارش شده اند (Vuocolo et al. 2007). بر اساس تجزیه و تحلیل پروفایل های بیان ژن در ماهیچه اسکلتی گوسفند از پنج نژاد گوشتی اسپانیایی، *MYH7* به عنوان ژن کاندید مربوط به انقباض عضلانی شناسایی شده است (Noce et al. 2018).

نتیجه گیری: در پژوهش حاضر مشخص شد که ژن *MYH7* در بافت های ماهیچه های ران، دست و راسته بیان می‌شود. لذا، می‌توان نتیجه گرفت که ژن *MYH7* در ماهیچه های مختلف، که برای تولید بیشتر گوشت در نژادهای گوشتی بسیار ضروری هستند نقش ایفا می‌کند. نتایج این پژوهش را برای پژوهش های آینده جهت توصیف نقش ژن *MYH7* به عنوان یک ژن کاندیدا برای تولید گوشت بیشتر در حیوانات اهلی، به ویژه گوسفند فراهم کرده است. به علاوه، از آنجا که رشد عضله بسیار پیچیده است و

عوامل زیادی در تنظیم این فرآیند دخیل هستند، پیشنهاد می‌شود که بیان ژن *MYH7* در گوسفند کرمانی در مراحل مختلف رشد و در ماهیچه‌های قسمت‌های مختلف بدن مطالعه شود. همچنین تفاوت در الگوی بیان *MYH7* در شرایط *in vitro* و *in vivo* نامشخص است، لذا در مطالعات آینده این مورد هم بهتر است مورد بررسی قرار گیرد.

سپاسگزاری: از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه شهید باهنر کرمان به خاطر حمایت‌های مالی و معنوی در راستای

اهداف پژوهشی سپاسگزاری می‌شود.

منابع

- جعفری احمدآبادی سید علی اصغر، عسکری همت حشمت‌اله، محمدآبادی محمدرضا (۱۴۰۲) تاثیر شاهدانه بر بیان ژن *DLK1* در بافت قلب بره‌های کرمانی. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی، ۱۵(۱)، ۲۱۷-۲۳۴.
- عرب پور رق آبادی زهرا، محمدآبادی محمدرضا، خضری امین (۱۴۰۰) الگوی بیانی ژن *p32* در بافت‌های ران، دست، راسته و چربی پشت بره کرمانی. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی، ۱۳(۴)، ۱۸۳-۲۰۰.
- محمدآبادی محمدرضا (۱۳۹۹) بیان ژن *ESR1* در بز کرکی راینی با استفاده از *real time PCR*. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی ۱۲(۱)، ۱۹۲-۱۷۷.
- محمدآبادی محمدرضا، خیرالدین حمید، لطیفی آیین، بابنکو اولنا ایوانیونا (۱۴۰۱) پروفایل بیانی ژن *DNAH1* در بافت بیضه بز کرکی راینی. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی، ۱۴(۳)، ۲۴۳-۲۵۶.
- محمدآبادی محمدرضا، سفلائی محمد (۱۳۹۹). پروفایل بیانی mRNA مختص بافت ژن *BMP15* در بز. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی ۱۲(۳)، ۲۰۸-۱۹۱.
- محمودی فر آمنه، محمدآبادی محمدرضا (۱۳۹۰) کاربرد نشانگرهای ریزماهواره برای مطالعه ژنوم گوسفند کرمانی. مجله علوم دامی ایران ۴۲(۴)، ۳۳۷-۳۴۴.
- محمودی مریم، آیت‌اللهی مهرجردی احمد، محمدآبادی محمدرضا (۱۳۹۶) بررسی اگزون چهارم ژن کاپاکازین گوسفند کرمانی با تکنیک *PCR-RFLP*. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی، ۹(۳)، ۱۲۸-۱۱۹.

References

- Aminafshar M, Bahrampour V, Baghizadeh A, et al. (2014) CD44 gene expression in mature, immature oocytes and fetal kermani, baluchi sheep and rayeni, tali goats. J cell Anim Biol 8 (8), 156-160.
- Amiri Roudbar M, Mohammadabadi MR, Mehrgardi AA, Abdollahi-Arpanahi A (2017) Estimates of variance components due to parent-of-origin effects for body weight in Iran-Black sheep. Small Rumin Res 149, 1-5.

- Amiri Roudbar M, Abdollahi-Arpanahi R, Ayatollahi Mehrgardi A, et al. (2018) Estimation of the variance due to parent-of-origin effects for productive and reproductive traits in Lori-Bakhtiari sheep. *Small Rumin Res* 160, 95-102.
- Arabpour Z, Mohammadabadi M, Khezri A (2021) The expression pattern of p32 gene in femur, humeral muscle, back muscle and back fat tissues of Kermani lambs. *Agric Biotechnol J* 13 (4), 183-200 (In Persian).
- Bahrampour V, Mohammadabadi MR, Mirzaei HR, et al. (2008) Molecular analysis of Calpastatin gene in Kermani sheep herds. *J Agric Sci Nat Resource* 15 (4), 124-131.
- Bidwell CA, Kramer LN, Perkins AC, et al. (2004) Expression of PEG11 and PEG11AS transcripts in normal and callipyge sheep. *BMC Biol* 2(17), e17.
- Bidwell CA, Shay TL, Georges M, et al. (2001) Differential expression of the GTL2 gene within the callipyge region of ovine chromosome 18. *Anim Genet* 32(5), 248–256.
- Bidwell CA, Waddell JN, Taxis TM, et al. (2014) New insights into polar overdominance in callipyge sheep. *Anim Genet* 45(Suppl 1), 51–61.
- Bjornsson HT, Albert TJ, Ladd-Acosta CM, et al. (2008) SNP-specific array-based allele-specific expression analysis. *Genome Res* 5, 771–779.
- Carpenter CE, Cockett NE (2000) Histology of longissimus muscle from 2-week-old and 8-week-old normal and callipyge lambs. *Can J Anim Sci* 80, 511–514.
- Carpenter E, Rice OD, Cockett NE, Snowden GD (1996) Histology and composition of muscles from normal and callipyge lambs. *J Anim Sci* 74(2), 388–393.
- Cecconi M, Parodi MI, Formisano F, et al. (2016) Targeted next-generation sequencing helps to decipher the genetic and phenotypic heterogeneity of hypertrophic cardiomyopathy. *Int J Mol Med* 4, 1111–1124.
- Charlier C, Segers K, Karim L, et al. (2001) The callipyge mutation enhances the expression of coregulated imprinted genes in cis without affecting their imprinting status. *Nat Genet* 27(4), 367–369.
- Colegrave M, Peckham M (2014) Structural implications of β -cardiac myosin heavy chain mutations in human disease. *Anat Rec* 297, 1670–80.
- Di Domenico M, Casadonte R, Ricci P, et al. (2012) Cardiac and skeletal muscle expression of mutant beta-myosin heavy chains, degree of functional impairment and phenotypic heterogeneity in hypertrophic cardiomyopathy. *J Cell Physiol* 10, 3471–3476.
- Duckett SK, Snowden GD, Cockett NE (2000) Effect of the callipyge gene on muscle growth, calpastatin activity, and tenderness of three muscles across the growth curve. *J Anim Sci* 78(11), 2836–2841.

- Edmondson DG, Lyons GE, Martin JF, Olson EN (1994) Mef2 gene expression marks the cardiac and skeletal muscle lineages during mouse embryogenesis. *Development* 120, 1251–1263.
- Freking BA, Keele JW, Nielsen MK, Leymaster KA (1998) Evaluation of the ovine callipyge locus: II. Genotypic effects on growth, slaughter, and carcass traits. *J Anim Sci* 76(10), 2549–2559.
- Freking BA, Murphy SK, Wylie AA, et al. (2002) Identification of the single base change causing the callipyge muscle hypertrophy phenotype the only known example of polar overdominance in mammals. *Genome Res* 12(10), 1496–1506.
- Ghotbaldini H, Mohammadabadi MR, Nezamabadi-pour H, et al. (2019) Predicting breeding value of body weight at 6-month age using Artificial Neural Networks in Kermani sheep breed. *Acta Scientiarum. Anim Sci* 41, e45282.
- Helms AS, Davis FM, Coleman D, et al. (2014) Sarcomere mutation-specific expression patterns in human hypertrophic cardiomyopathy. *Circ Cardiovasc Genet* 4, 434–443.
- Hemmings KM, Daniel ZCTR, Buttery PJ, et al. (2015) Differential effects of short-term agonist and growth hormone treatments on expression of myosin heavy chain IIB and associated metabolic genes in sheep muscle. *Animal* 9, 285–294.
- Jackson SP, Miller MF, Green RD (1997) Phenotypic characterization of Rambouillet sheep expression the callipyge gene: III. Muscle weights and muscle weight distribution. *J Anim Sci* 75(1), 133–138.
- Jafari Ahmadabadi SAA, Askari-Hemmat H, Mohammadabadi M, et al. (2023) The effect of Cannabis seed on DLK1 gene expression in heart tissue of Kermani lambs. *Agric Biotechnol J* 15 (1), 217-234 (In Persian).
- Jiang J, Wakimoto H, Seidman JG, Seidman CE (2013) Allele-specific silencing of mutant Myh6 transcripts in mice suppresses hypertrophic cardiomyopathy. *Science* 6154, 111–114.
- Koohmaraie M, Shackelford SD, Wheeler TL, et al. (1995) Muscle hypertrophy condition in lamb (callipyge): characterization of effects on muscle growth and meat quality traits. *J Anim Sci* 73(12), 3596-607.
- Kraft T, Montag J, Radocaj A, Brenner B (2016) Hypertrophic cardiomyopathy: cell-to-cell imbalance in gene expression and contraction force as trigger for disease phenotype development. *Circ Res* 9, 992–995.
- Krendel M, Mooseker MS (2005) Myosins: tails (and heads) of functional diversity. *Physiology* 20, 239-51.
- Lobjois V, Liaubet L, SanCristobal M, et al. (2008) A muscle transcriptome analysis identifies positional candidate genes for a complex trait in pig. *Anim Genet* 39, 147-162.

- Lopes LR, Rahman MS, Elliott PM (2013) A systematic review and meta-analysis of genotype–phenotype associations in patients with hypertrophic cardiomyopathy caused by sarcomeric protein mutations. *Heart* 24, 1800–1811.
- Lorenzen CL, Koohmaraie M, Shackelford SD, et al. (2000) Protein kinetics in callipyge lambs. *J Anim Sci* 78(1), 78–87.
- Mahmoodi M, Ayatollahi A, Mohammadabadi MR (2018) Studying exon 4 of kappa-casein gene in Kermani sheep using PCR-RFLP. *Agric Biotechnol J* 9 (3), 119-128 (In Persian).
- Maron BJ (2002) Hypertrophic cardiomyopathy: a systematic review. *J Am Med Assoc* 10, 1308–1320.
- Maron BJ, Maron MS, Semsarian C (2012) Genetics of hypertrophic cardiomyopathy after 20 years: clinical perspectives. *J Am Coll Cardiol* 8, 705–715.
- Masoudzadeh SH, Mohammadabadi MR, Khezri A, et al. (2020) Dlk1 Gene Expression in Different Tissues of Lamb. *Iran J Appl Anim Sci* 10 (4), 669-677.
- Milani L, Lundmark A, Nordlund J, et al. (2009) Allele-specific gene expression patterns in primary leukemic cells reveal regulation of gene expression by CpG site methylation. *Genome Res* 1, 1–11.
- Mohamadipoor Saadatabadi L, Mohammadabadi M, Amiri Z, et al. (2021) Signature selection analysis reveals candidate genes associated with production traits in Iranian sheep breeds. *BMC Vet Res* 17 (1), 1-9.
- Mohammadabadi M, Kheyroodin H, Latifi A, Babenko O (2022) mRNA expression profile of DNAH1 gene in testis tissue of Raini Cashmere goat. *Agric Biotechnol J* 14 (3), 243-256 (In Persian).
- Mohammadabadi M, Masoudzadeh SH, Khezri A, et al. (2021) Fennel (*Foeniculum vulgare*) seed powder increases Delta-Like Non-Canonical Notch Ligand 1 gene expression in testis, liver, and humeral muscle tissues of growing lambs. *Heliyon* 7 (12), e08542.
- Mohammadabadi M, Soflaei M (2020) Tissue-specific mRNA expression profile of BMP15 gene in goat. *Agric Biotechnol J* 12, 191-208 (In Persian).
- Mohammadabadi MR (2016) Role of clostridium perfringens in pathogenicity of some domestic animals. *J Adv Agric* 7 (3), 1117-1121.
- Mohammadabadi MR (2017) Inter-Simple Sequence Repeat loci Associations with Predicted Breeding Values of Body Weight in Kermani Sheep. *Genet 3rd Millen* 14 (4), 4383-4390.
- Mohammadabadi MR (2020) Expression of ESR1 gene in Raini Cashmere goat using real time PCR. *Agric Biotechnol J* 12 (1), 177-192 (In Persian).

- Mohammadabadi MR, Esfandyarpoor E, Mousapour A (2017) Using Inter Simple Sequence Repeat Multi-Loci Markers for Studying Genetic Diversity in Kermani Sheep. *J Res Dev* 5 (2), e154.
- Mohammadabadi MR, Kord M, Nazari M (2018) Studying expression of leptin gene in different tissues of Kermani Sheep using real time PCR. *Agric Biotechnol J* 10, 111-122 (In Persian).
- Mohammadifar A, Mohammadabadi MR (2011) Application of Microsatellite Markers for a Study of Kermani Sheep Genome. *Iran J Anim Sci* 42 (4), 337-344 (In Persian).
- Montag J, Syring M, Rose J, et al. (2017) Intrinsic *MYH7* expression regulation contributes to tissue level allelic imbalance in hypertrophic cardiomyopathy. *J Muscle Res Cell Motil* 38, 291–302.
- Noce A, Cardoso TF, Manunza A, et al. (2018) Expression patterns and genetic variation of the ovine skeletal muscle transcriptome of sheep from five Spanish meat breeds. *Sci Rep* 8, e10486.
- Parker MH, Patrick S, Rudnicki MA (2003) Looking back to the embryo: Defining transcriptional networks in adult myogenesis. *Nat Rev Genet* 4, 497–507.
- Pastinen T (2010) Genome-wide allele-specific analysis: insights into regulatory variation. *Nat Rev Genet* 8, 533–538.
- Perkins AC, Kramer LN, Spurlock DM, et al. (2006) Postnatal changes in the expression of genes located in the callipyge region in sheep skeletal muscle. *Anim Genet* 37(6), 535–342.
- Pfaffl MW, Horgan GW, Dempfle L (2002) Relative expression software tool (REST©) for group-wise comparison and statistical analysis of relative expression results in real-time PCR. *Nucleic Acids Res* 30, e36.
- Ren HX, Li L, Su HW, et al. (2011) Histological and Transcriptome-wide Level Characteristics of Fetal Myofiber Hyperplasia During the Second Half of Gestation in Texel and Ujumqin Sheep. *BMC Genom* 12, 411.
- Safaei SMH, Dadpasand M, Mohammadabadi M, et al. (2022) An *Origanum majorana* Leaf Diet Influences Myogenin Gene Expression, Performance, and Carcass Characteristics in Lambs. *Animals* 13 (1), e14.
- Schiaffino S, Rossi AC, Smerdu V, et al. (2015) Developmental myosins: expression patterns and functional significance. *Skeletal Muscle* 5, e22.
- Shahsavari M, Mohammadabadi M, Khezri A, et al. (2021) Correlation between insulin-like growth factor 1 gene expression and fennel (*Foeniculum vulgare*) seed powder consumption in muscle of sheep. *Anim Biotechnol* 33, 1-11.

- Shahsavari M, Mohammadabadi M, Khezri A, et al. (2022) Effect of Fennel (*Foeniculum Vulgare*) Seed Powder Consumption on Insulin-like Growth Factor 1 Gene Expression in the Liver Tissue of Growing Lambs. *Gene Expr* 21 (2), 21-26.
- Smit M, Segers K, Carrascosa LG, et al. (2003) Mosaicism of solid gold supports the causality of a noncoding A-to-G transition in the determinism of the callipyge phenotype. *Genetics* 163(1), 453–456.
- Tajsharghi H, Oldfors A (2013) Myosinopathies: pathology and mechanisms. *Acta Neuropathol* 125, 3-18.
- Tripathi S, Schultz I, Becker E, et al. (2011) Unequal allelic expression of wildtype and mutated beta-myosin in familial hypertrophic cardiomyopathy. *Basic Res Cardiol* 6, 1041–1055.
- Vuocolo T, Byrne K, White J, et al. (2007) Identification of a gene network contributing to hypertrophy in callipyge skeletal muscle. *Physiol Genomics* 28(3), 253–272.
- Walsh R, Rutland C, Thomas R, Loughna S (2009) Cardiomyopathy: a systematic review of disease-causing mutations in myosin heavy chain 7 and their phenotypic manifestations. *Cardiology* 1, 49–60.
- Witjas-Paalberends ER, Ferrara C, Scellini B, et al. (2013) Faster cross-bridge detachment and increased tension cost in human hypertrophic cardiomyopathy with the R403Q *MYH7* mutation. *J Physiol* 15, 3257–3272.
- Xu Y, Qian H, Feng X, et al. (2012) Differential proteome and transcriptome analysis of porcine skeletal muscle during development. *J Proteom* 75, 2093–2108.
- Yates DT, Cadaret CN, Beede KA, et al. (2016) Intrauterine growth-restricted sheep fetuses exhibit smaller hindlimb muscle fibers and lower proportions of insulin-sensitive Type I fibers near term. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 310, R1020–R1029.
- Yu H, Waddell JN, Kuang S, et al. (2018) Identification of genes directly responding to DLK1 signaling in Callipyge sheep. *BMC Genomics* 19, e283.
- Zhao X, Mo D, Li A, et al. (2011) Comparative Analyses by Sequencing of Transcriptomes during Skeletal Muscle Development between Pig Breeds Differing in Muscle Growth Rate and Fatness. *PLoS ONE* 6, e19774.
- Zheng Q, Zhang Y, Chen Y, et al. (2009) Systematic identification of genes involved in divergent skeletal muscle growth rates of broiler and layer chickens. *BMC Genomics* 10, e87.