

بررسی بیان ژن مادری فیلیا (Filia) در تخمدان، تخمک و رویان آزمایشگاهی گاو

آزاده زحمتکش^{۱*}، سعید انصاری مهیاری^۱، مرتضی دلیری جوپاری^۲، عباس شیرازی^۳، حمیدرضا رحمانی^۱

^۱ گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران، ^۲ گروه بیوتکنولوژی دام و آبزیان، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، تهران، ایران، ^۳ گروه بیوتکنولوژی تولیدمثل، پژوهشگاه فناوری های نوین علوم زیستی ابن سینا،

جهاد دانشگاهی دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

a.zahmatkesh@ag.iut.ac.ir*نویسنده مسئول: آزاده زحمتکش

چکیده

برای بررسی بیان ژن مادری فیلیا در گاو، دو جفت آغازگر، یکی بر اساس کل توالی پیش‌بینی‌شده‌ی mRNA فیلیای گاو در NCBI (XM_868481.4) و دیگری بر اساس همولوژی بخشی از آن با فیلیای انسان، با نرم‌افزار OLIGO5 طراحی شد. تخمک‌ها به محیط بلوغ، منتقل شدند و پس از ۲۴ ساعت تخمک‌های بالغ برای استخراج RNA استفاده شدند. تعدادی از تخمک‌های بالغ وارد محیط لقاح شدند و پس از ۲۲ ساعت تخمک‌های بارور بعد از جدا کردن کومولوس‌ها به محیط SOF منتقل شدند و رویان‌های دوسلولی پس از ۲۴ ساعت، برای استخراج RNA استفاده شدند. استخراج RNA از بافت تخمدان نیز صورت گرفت. پس از سنتز cDNA، ژن فیلیا و ژن شاخص Histone-H2a وارد واکنش زنجیره‌ای پلیمرز شدند. واکنش با آغازگرهای اول، تکثیری از ژن فیلیا به همراه نداشت. ممکن است mRNA پیش‌بینی‌شده کاملاً مطابق با mRNA حقیقی فیلیا پیش‌بینی نشده باشد و یا توالی ۸۴۶ بازی دارای توالی های غنی از GC باشد و تکثیر آن با شرایط ذکر شده ممکن نباشد. واکنش دوم منجر به تکثیر ژن فیلیا (۱۶۴ bp) و شاخص (۲۴۰ bp) در تخمدان، تخمک بالغ و رویان دوسلولی گاو شد. این نشان می‌دهد که ژن فیلیا در تخمدان، تخمک و رویان گاو بیان می‌شود. بیان این ژن نشانه‌ی نقش احتمالی آن در تکامل رویان پیش از لانه‌گزینی در گاو است.

واژه‌های کلیدی: ژن فیلیا، تکامل پیش از لانه‌گزینی، تخمک بالغ، رویان دوسلولی.

مقدمه

هنگامی که تخمک وارد مرحله‌ی رشد و بلوغ می‌شود، پروتئین‌های مادری درون آن تجمع می‌کنند (۹). عوامل مادری، تکامل رویان اولیه پیش از فعال شدن ژنوم رویان، مراحل کلیواژ بعدی و ایجاد اجداد سلولی را کنترل می‌کنند (۱، ۲، ۳). بررسی ژنتیکی در موش منجر به شناسایی چندین ژن با آثار مادری شد که از آن‌ها می‌توان به فیلیا اشاره کرد. mRNA فیلیا توسط یک ژن تک کپی با سه اگزون در کروموزوم ۹ موش کد می‌شود. پروتئین آن دارای ده تکرار از یک توالی ۲۳ اسیدآمینهای است که در نزدیکی انتهای کربوکسیل آن قرار دارد که در ژنوم موش اختصاصی است (۴). بیان این ژن منحصراً در تخمک در حال رشد حیوانات بالغ شناسایی شده است. ژن خاموش‌شده‌ی فیلیا در موش منجر به کاهش تعداد فرزندان به یک‌دوم حالت طبیعی یا هتروزیگوت می‌شود. عدم حضور فیلیا باعث تأخیر در روند چرخه‌ی سلولی و اختلال در تکامل پیش از لانه‌گزینی می‌شود. از آن‌جا که پروتئین فیلیا در موش با این پروتئین در موش صحرائی (۶۷٪) و انسان (۴۱٪) همولوژی دارد (NCBI)، این فکر ایجاد شده است که پروتئین فیلیا در تخمک گاو نیز حضور و نقش مهمی داشته باشد. در این تحقیق وجود آن مورد بررسی قرار گرفته است.