13 (2) 41-48, Summer 2021

Journal of Animal Environment
(AEJ)
Journal homepage: http://www.aejournal.ir

Original Research Paper

Investigation of SNPs in genes related to lipid and glucose metabolism in the genome of dromedary, domestic Bactrian and wild Bactrian camels

Nemat Hedayat Evrigh*, Reza Khalkhali Evrigh, Reza Seyed Sharifi

Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardebil, Iran

Key Words

Lipid metabolism
Glucose metabolism
Camel
Evolution process
Gene ontology

Abstract

Introduction: The aim of the present study was to identify the SNPs located in the genes that are associated with lipid and glucose metabolism in the genome of Dromedary, domestic and wild Bactrian camels.

Materials & Methods: For this purpose, firstly, important genes that related to lipid (15 genes) and glucose (17 genes) metabolism in mammalian were identified using DDD analysis and also reviewing of the authentic papers. In order to evaluate the accuracy of selected genes, gene ontology analysis was performed on them and significant lipid- and glucose-related terms were observed. In the next step, common SNPs among three Dromedaries (993,474), four domestic Bactrian (1,246,741) and two wild Bactrian camels (2,586,654) were extracted, identification and classification were done for SNPs of studied genes in the whole genome of three camel species.

Result: The results showed that the most of the identified SNPs are located in the intron, upstream and downstream of the genes that considered as regulatory variants. Some genes showed different pattern of SNPs among three species, so that, several genes had SNPs in some species and no variant in other species

Conclusion: Identified genes, especially those that showed different variant pattern in camels, may be considered as options for studying of evolution presses of these animals.

* Corresponding Author's email: nhedayat@uma.ac.ir

Received: 27 February 2020; Reviewed: 14 May 2020; Revised: 8 June 2020; Accepted: 13 July 2020
(DOI): 10.22034/aej.2020.135245

مقاله پژوهشی

بررسی SNPهای موجود در ژن‌های مرتبط با متابولیسم چربی و گلوکز در ژنوم شترهای تک‌کوهانه و دوکوهانه‌های اهلی و وحشی

نعمت هدایت‌ایوریق**، رضا خلخالی‌ایوریق، رضا سیدشریفی

گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

کلمات کلیدی

متابولیسم چربی
متابولیسم گلوکز
روند تکامل
هستی‌شناسی ژن
شتر

چکیده

مقدمه: هدف از تحقیق حاضر، شناسایی SNPهای موجود در ژن‌های مرتبط با متابولیسم چربی و گلوکز در ژنوم شترهای تک‌کوهانه و دوکوهانه اهلی و وحشی بود.

مواد و روش‌ها: بدین‌منظور، ابتدا ژن‌های مهم مرتبط با متابولیسم چربی (۱۵ ژن) و گلوکز (۱۷ ژن) در پستانداران با استفاده از آنالیز DDD و هم‌چنین مرور مقالات معتبر شناسایی شد. به‌منظور اعتبارسنجی برای ژن‌های انتخاب شده، آنالیز هستی‌شناسی ژن روی آن‌ها اجرا شده و عبارات معنی‌دار مربوط به چربی و گلوکز مشاهده شد. در مرحله بعد، SNPهای مشترک بین سه نفر شتر تک‌کوهانه (۹۹۳۴۷۴)، چهار نفر شتر دوکوهانه اهلی (۱۲۴۶۷۴۱) و دو نفر شتر دوکوهانه وحشی (۲۵۸۶۶۵۴) استخراج شده و SNPهای موجود در ژن‌های مورد مطالعه در کل ژنوم سه گونه شتر، شناسایی و دسته‌بندی شدند.

نتایج: نتایج به‌دست آمده نشان داد که بیش‌ترین SNPهای شناسایی شده، در نواحی اینترونی، بالادست و پایین‌دست ژن‌ها بوده و از انواع تغییر نوکلئوتیدهای تنظیمی به‌شمار می‌روند. برخی از ژن‌ها دارای الگوهای متفاوتی از نظر SNPها در بین سه گونه بودند. به‌طوری‌که برخی ژن‌ها در برخی از گونه‌ها دارای تعدادی SNP و در سایر گونه‌ها، بدون تغییر نوکلئوتید بودند.

نتیجه‌گیری و بحث: ژن‌های شناسایی شده به‌خصوص آن دسته از ژن‌هایی که الگوهای متفاوت تغییر نوکلئوتیدی در شترها نشان دادند را احتمالاً می‌توان گزینه‌هایی برای مطالعه روند تکامل در این حیوانات قلمداد کرد.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: nhedayat@uma.ac.ir

تاریخ دریافت: ۸ اسفند ۱۳۹۸؛ تاریخ داوری: ۲۵ اردیبهشت ۱۳۹۹؛ تاریخ اصلاح: ۱۹ خرداد ۱۳۹۹؛ تاریخ پذیرش: ۲۳ تیر ۱۳۹۹
(DOI): 10.22034/aej.2021.135245

مقدمه

امروزه از توالی‌یابی نسل بعد (Next Generation Sequencing) برای رمزگشایی از ژنوم‌های بزرگ و پیچیده، به‌منظور مطالعه ریشه‌های ژنتیکی تنوع فنوتیپی صفات مختلف و روند گونه‌زایی در طبیعت استفاده می‌شود (Gouin و همکاران، ۲۰۱۵). این فناوری این امکان را می‌دهد تا در سطح کل ژنوم، به شناسایی انواع تغییر نوکلئوتیدها و جایگاه وقوع آن‌ها پرداخته و ژن‌های تاثیر گرفته از این واریانت‌ها را مورد بررسی بیش‌تر قرار دهد. شترها به‌دلیل توانایی‌های ویژه‌ای که در سازگاری به شرایط سخت دارند، در سال‌های اخیر مورد توجه محققان مختلفی قرار گرفته‌اند. البته علی‌رغم توجهات ویژه‌ای که از سال ۲۰۱۲ و ۲۰۱۴، در پی اولین توالی‌یابی کامل ژنوم شترهای تک‌کوهانه، دوکوهانه اهلی و وحشی (Jirimutu و همکاران، ۲۰۱۲؛ Wu و همکاران، ۲۰۱۴) به بحث مطالعات ژنومیکی شترها شده است، هرچند تلاشهایی برای مطالعات شترهای ایرانی در سطح ژنی و ژنومی (خلخالی‌ایوریق و همکاران، ۱۳۹۷؛ Khalkhali-Evrigh و همکاران، ۲۰۱۸، Khalkhali-Evrigh و همکاران، ۲۰۱۹؛ رودباری و نصیری، ۱۳۹۸؛ Ming و همکاران، ۲۰۲۰؛ هدایت‌ایوریق و همکاران، ۱۴۰۰) صورت گرفته است اما تعداد مطالعات در این زمینه، اندک هستند. لذا پرداخت به مطالعات ژنومیک شترها به‌خصوص در کشوری مانند ایران که یکی از زیست‌بوم‌های مهم برای شترهای تک و دوکوهانه است، حائز اهمیت فراوانی می‌باشد. شترها در طول تکامل خود، ویژگی‌های منحصر به فردی را کسب کرده‌اند که آن‌ها را به حیواناتی مقاوم در شرایط نامساعد محیطی تبدیل کرده است. این پستانداران توانایی تحمل دماهای بالای ۴۰ درجه سانتی‌گراد را داشته و از دست دادن ۲۵ درصد از آب بدن نیز باعث مرگ آن‌ها نمی‌شود. این در حالی است که دیگر پستانداران اهلی، با از دست دادن ۱۵ درصد از آب بدن خود، می‌میرند (Wu و همکاران، ۲۰۱۴). دمای بدن شتر می‌تواند تا هشت درجه سلسیوس (۳۴ تا ۴۱/۷ درجه) در نوسان باشد (Bouâouda و همکاران، ۲۰۱۴). آن‌ها قادر به تحمل نمک بالا در جیره‌شان هستند به‌طوری‌که این توانایی در آن‌ها، هشت برابر بیش‌تر از گاوها و گوسفندها می‌باشد (Al-Ali و همکاران، ۱۹۸۸). کوهان‌دار بودن شترها را می‌توان یکی از رموز موفقیت آن‌ها برای غلبه بر شرایط سخت بیابانی دانست. کوهان شترها جایگاه ذخیره چربی در فصول پر غذا و مصرف آن در شرایط کم آبی و کم غذایی می‌باشد. لذا متابولیسم چربی یکی از اساسی‌ترین و مهم‌ترین چرخه‌های متابولیکی در شترها به‌شمار می‌رود (Khalkhali-Evrigh و همکاران، ۲۰۱۸). شناخت ژن‌های دخیل در این فرآیند و هم‌چنین تنوع موجود در آن ژن‌ها، این شانس را به محققان می‌دهد تا روند تکامل در شترها و چگونگی تعامل آن‌ها با شرایط سخت بیابانی را درک کنند. هم‌چنین مطالعه چرخه و فرآیندی که طی آن، ژن‌های موثر در متابولیسم چربی عمل می‌کنند، این امکان را فراهم می‌کند تا در مسیر اصلاح نژاد شترها، با آگاهی کامل‌تری به بهینه‌سازی مصرف انرژی در این گونه پرداخته شود. سطح گلوکز در خون شترها تقریباً دو برابر دیگر نشخوارکنندگان است (Al-Ali و همکاران، ۱۹۸۸) و این در حالی است که شترها از اثرات مخرب قند بالای خون مانند ابتلا به دیابت در امان هستند (Jirimutu و همکاران، ۲۰۱۲). این ویژگی شترها، ایجاب می‌کند تا به مطالعه ژن‌های دخیل در متابولیسم گلوکز و ژن‌های مرتبط با انسولین پرداخته شود. به‌نظر می‌رسد شناخت دقیق این ژن‌ها و هم‌چنین چگونگی تکامل آن‌ها و مطالعه تغییر نوکلئوتیدهای موجود در آن‌ها می‌تواند در کمک به پیدا کردن راهی برای مقابله با دیابت در انسان، موثر باشد. در مقایسه با مطالعات زیادی که در مورد گونه‌های دامی در ایران از جنبه‌های مختلف، صورت پذیرفته است (عمری کولانکوه و همکاران، ۱۳۹۸؛ محمدآبادی، ۱۳۹۸؛ هاشمی و همکاران، ۱۳۹۸؛ قربانی و همکاران، ۱۳۹۹)، تحقیقات در زمینه شترها در مراحل ابتدایی خود قرار دارد. هدف این مطالعه، بررسی ژن‌های دخیل در متابولیسم چربی و گلوکز در شترهای تک‌کوهانه و دوکوهانه اهلی و وحشی و هم‌چنین شناسایی انواع تغییر نوکلئوتیدهای موجود در آن‌ها با استفاده از داده‌های توالی‌یابی کل ژنوم می‌باشد. شناسایی ژن‌های دخیل در متابولیسم چربی و گلوکز در موجودات دیگر، گام اول در این مطالعه به‌شمار می‌رود. سپس به جستجوی این ژن‌ها در ژنوم شترهای مورد مطالعه پرداخته شده و سعی می‌شود تغییر نوکلئوتیدهای موجود در این ژن‌ها مورد بررسی و کاوش قرار بگیرد. در نهایت وجود شباهت‌ها و تفاوت‌های الگویی از نظر نوع و تعداد تغییر نوکلئوتیدهای موجود در این ژن‌ها در شترهای تک‌کوهانه و دوکوهانه اهلی و وحشی مورد بحث قرار خواهد گرفت.

مواد و روش‌ها

نمونه‌ها: در مطالعه حاضر، از فایل‌های VCF (Variant Call Format) به‌دست آمده در تحقیقات پیشین بر روی توالی‌یابی کل ژنوم در شترهایی از گونه‌های مختلف، به‌عنوان داده‌های خام برای انجام آنالیزها استفاده شد. یکی از تحقیقات مذکور حاوی اطلاعات مربوط به دو نفر شتر دوکوهانه ایرانی (شماره دسترسی در NCBI: SRX3763563 و SRX3774562 برای نمونه یک؛ SRX3773669 و SRX3916437 برای نمونه دو)، دو نفر شتر دوکوهانه اهلی مغولستانی (شماره دسترسی در NCBI: SRX973830 و SRX973833) و دو نفر شتر دوکوهانه وحشی (شماره دسترسی در NCBI: SRX973840 و SRX973843) می‌باشد. هم‌چنین از فایل‌های VCF به‌دست آمده برای شترهای تک‌کوهانه ایرانی (شماره دسترسی در NCBI:

SRX3519514 برای نمونه یک و SRX3382662 برای نمونه دو) و آفریقایی (شماره دسترسی در NCBI: SRX1013838) نیز استفاده شد (Khalkhali-Evrigh و همکاران، ۲۰۱۸). فایل‌های VCF حاوی اطلاعات مربوط به تنوع‌های ژنتیکی (چندشکلی‌های تک‌نوکلئوتیدی) است که با استفاده از داده‌های توالی‌یابی شده کل ژنوم شترهای مذکور به‌دست آمده است. در واقع، SNP در یک مطالعه ژنومی که با استفاده از داده‌های توالی‌یابی شده صورت می‌پذیرد، به‌صورت تفاوت تک‌نوکلئوتیدی بین خوانش‌ها (Reads) و ژنوم مرجع (Reference genome) در یک موقعیت خاص، در نظر گرفته می‌شود. در کل، تعداد نمونه شترهای مورد استفاده برای این تحقیق نه نفر می‌باشند که شامل دو نفر شتر تک‌کوهانه ایرانی، یک نفر شتر تک‌کوهانه آفریقایی، دو نفر شتر دوکوهانه ایرانی، دو نفر شتر دوکوهانه اهلی مغولستانی و دو نفر شتر دوکوهانه وحشی می‌باشد.

انتخاب ژن‌های مرتبط با متابولیسم چربی و گلوکز: در گام اول و به‌منظور شناسایی ژن‌های با بیان بالا در بافت چربی پستانداران، از ابزار DDD (Digital Differential Display) در NCBI استفاده شد. در واقع، DDD ابزاری مناسب جهت مقایسه ساختار بیان ژن‌ها با استفاده از برچسب توالی‌های بیان شده (EST) در بین کتابخانه‌ها و یا مجموعه‌ای از کتابخانه‌های مربوط به یک گونه در UniGene به شمار می‌رود. برای اینکه ESTهای مربوط به انسان، خوک و گاو نسبت به دیگر پستانداران کامل‌تر می‌باشند، لذا از این سه گونه برای شناسایی ژن‌ها استفاده شد. در این مطالعه و به‌منظور شناسایی ژن‌های با بیان بالا در بافت چربی، کتابخانه‌های EST بافت‌های مرتبط با چربی (بافت چربی، چربی شکمی و چربی بین ماهیچه‌ای) در مقابل کتابخانه‌های بافت‌های دیگر (غده فوق کلیه، خون، مغز، روده، قلب، کلیه، کبد، ریه، ماهیچه، تخمدان، بیضه، پوست و رحم) قرار گرفت. سپس ژن‌هایی که در بافت چربی از بیان بالاتری برخوردار بودند، انتخاب شده و برای ادامه مطالعه مورد استفاده قرار گرفتند. در واقع معیار انتخاب ژن‌های با بیان بالا، تقسیم فراوانی ESTها در کتابخانه اول بر این فراوانی در کتابخانه دوم بود و ژن‌هایی که در کتابخانه اول حداقل ده برابر بیش‌تر از کتابخانه دوم بیان‌شده‌بودند، به‌عنوان ژن‌های مدنظر انتخاب شدند. علاوه بر این، ژن‌های مهم مرتبط با چربی‌که در مطالعات مختلفی (Zhao و همکاران، ۲۰۰۹؛ Bakhtiarizadeh و همکاران، ۲۰۱۳؛ Fagerberg و همکاران، ۲۰۱۴؛ Li و همکاران، ۲۰۱۸) مورد بررسی قرار گرفته بودند نیز به مجموعه یاد شده اضافه شدند. هم‌چنین ژن‌های مرتبط با متابولیسم گلوکز از طریق بررسی مقالات منتشر شده با موضوع متابولیسم گلوکز در گونه‌های مختلف (Webb و همکاران، ۲۰۰۰؛ Saltiel و Kahn، ۲۰۰۱؛ He و همکاران، ۲۰۱۷؛ Wu و همکاران، ۲۰۱۸) و هم‌چنین بررسی چرخه‌های مرتبط با گلوکز مانند گلیکوژنسیز، گلیکوژنز، گلیکولیز و چرخه عملکرد انسولین مورد انتخاب قرار گرفتند. بدین ترتیب تعداد ۱۵ ژن به‌عنوان ژن‌های دخیل در متابولیسم چربی و ۱۷ ژن به‌عنوان ژن‌های دخیل در متابولیسم گلوکز برای مطالعه بیش‌تر انتخاب شدند (جدول ۱).

هستی‌شناسی ژن (**Gene Ontology**): به‌منظور اعتبارسنجی ژن‌های شناسایی شده مرتبط با چربی و گلوکز، از برنامه تحت وب DAVID (نسخه 6.8) (Huang و همکاران، ۲۰۰۸) برای کلاس‌بندی این ژن‌ها استفاده شد. مقدار p-value در این مطالعه، با استفاده از تصحیح Benjamini برای تست چندگانه (Benjamini و Hochberg، ۱۹۹۵)، تصحیح شده و مطابق توصیه Khalkhali-Evrigh و همکاران (۲۰۱۸) عبارات هستی‌شناسی ژن که p-value تصحیح شده کم‌تر از ۰/۱ داشتند، به‌عنوان عبارت معنی‌دار در نظر گرفته شدند.

حاشیه‌نویسی و شناسایی تغییر نوکلئوتیدها: دراین مرحله، فایل‌های VCF که با استفاده از برنامه Snpeff (نسخه ۴/۳) (Cingolani و همکاران، ۲۰۱۲) حاشیه‌نویسی شده و جایگاه و عملکرد هر کدام از تغییر نوکلئوتیدهای (SNPs) موجود در آن تعیین شده بودند، مورد استفاده قرار گرفتند. حاشیه‌نویسی، باعث اضافه شدن ستونی با نام ANN به فایل VCF می‌شود که حاوی اطلاعاتی مانند جایگاه و نوع (مانند SNPهای اینترونی، اگزونی، بین‌ژنی، بدمعنی) هر کدام از SNPها در ژنوم می‌باشد. در گام بعدی و با استفاده از دستور extractFields در برنامه Snpsift (نسخه ۴/۳)، اطلاعات مربوط به حاشیه‌نویسی هر کدام از SNPها استخراج شد. تغییر نوکلئوتیدهایی که بین شترهای تک‌کوهانه، بین شترهای دوکوهانه اهلی و بین شترهای دوکوهانه وحشی مشترک بودند با استفاده از برنامه VCFtools (نسخه ۳/۰) (Danecek و همکاران، ۲۰۱۱) در قالب سه مجموعه داده استخراج شدند. در واقع، برنامه VCFtools با جستجو در مجموعه تغییر نوکلئوتیدهای مورد مقایسه، SNPهایی که در هر مجموعه، دارای موقعیت و نوع جایگزینی یکسانی هستند را به‌عنوان SNPهای مشترک استخراج کرده و در قالب یک فایل VCF در اختیار محقق قرار می‌دهد.در مرحله بعد،اسامی ژن‌هایی که توسط هر تعداد تغییر نوکلئوتید و از هر نوعی، تحت‌تأثیر قرار گرفته بودند، با استفاده از برنامه Snpsift مورد استخراج قرار گرفتند. در نهایت در هر سه گونه شتر مورد مطالعه، به مقایسه عملکرد و نقش ژن‌های دخیل در متابولیسم چربی و گلوکز که حاوی انواع تغییر نوکلئوتیدها بودند، پرداخته شد.

جدول ۱: ژن‌های انتخاب شده مرتبط با متابولیسم چربی و گلوکز در پستانداران

متابولیسم چربی			متابولیسم گلوکز		
ژن	توضیح	منبع	ژن	توضیح	منبع
ADIPOQ	Adiponectin, C1Q and collagen domain containing	آنالیز DDD؛ Li و همکاران، ۲۰۱۸	*AKT1*	AKT serine/threonine kinase 1	He و همکاران، ۲۰۱۷
CCDC80	Coiled-coil domain containing 80	آنالیز DDD	*G6Pc*	Glucose-6-phosphatase catalytic subunit	He و همکاران، ۲۰۱۷
CD36	CD36 molecule	آنالیز DDD؛ Li و همکاران، ۲۰۱۸	*GLUT1*	Glucose transporter 1	He و همکاران، ۲۰۱۷
CPT1B	Carnitine palmitoyltransferase 1BC	Zhao و همکاران، ۲۰۰۹	*GLUT4*	Solute carrier family 2 (facilitated glucose transporter), member 4	He و همکاران، ۲۰۱۷
DGAT2	Diacylglycerol O-acyltransferase 2	آنالیز DDD	*GPT*	Glutamic--pyruvic transaminase	Webb و همکاران، ۲۰۰۰
FABP3	Fatty acid binding protein 3	Zhao و همکاران، ۲۰۰۹	*HK2*	Hexokinase 2	He و همکاران، ۲۰۱۷
FABP4	Fatty acid binding protein 4	آنالیز DDD؛ Bakhtiarizadeh و همکاران، ۲۰۱۳	*IGF1*	Insulin like growth factor 1	Saltiel و Kahn، ۲۰۰۱
HSL	Hormone-sensitive lipase	Zhao و همکاران، ۲۰۰۹	*INS*	Insulin	Saltiel و Kahn، ۲۰۰۱
LEP	Leptin	Fagerberg و همکاران، ۲۰۱۴	*LDHA*	Lactate dehydrogenase A	He و همکاران، ۲۰۱۷
LPL	Lipoprotein lipase	آنالیز DDD	*LDHB*	Lactate dehydrogenase B	He و همکاران، ۲۰۱۷
PLIN4	Perilipin 4	آنالیز DDD	*PC*	Pyruvate carboxylase	He و همکاران، ۲۰۱۷
PNLIP	Pancreatic lipase	Fagerberg و همکاران، ۲۰۱۴	*PCK1*	Phosphoenolpyruvate carboxykinase 1	Wu و همکاران، ۲۰۱۸
PNPLA2	Patatin like phospholipase domain containing 2	Zhao و همکاران، ۲۰۰۹	*PCK2*	phosphoenolpyruvate carboxykinase 2, mitochondrial	He و همکاران، ۲۰۱۷
SCD	Stearoyl-CoA desaturase	آنالیز DDD؛ Bakhtiarizadeh و همکاران، ۲۰۱۳	*PFKM*	Phosphofructokinase	He و همکاران، ۲۰۱۷
SFRP4	Secreted frizzled related protein 4	آنالیز DDD	*PKM2*	Pyruvate kinase M1/2	He و همکاران، ۲۰۱۷
-	-		*PRKAA1*	Protein kinase AMP-activated catalytic subunit alpha 1	He و همکاران، ۲۰۱۷
-	-		*STAT3*	Signal transducer and activator of transcription 3	He و همکاران، ۲۰۱۷

نتایج

تعداد SNPهای مشترک بین شترهای تک‌کوهانه مورد مطالعه برابر با ۹۹۳۴۷۴ بود. این مقادیر برای شترهای دوکوهانه اهلی و وحشی به‌ترتیب برابر با ۱۲۴۶۷۴۱ و ۲۵۸۶۶۵۴ بود. هم‌چنین تعداد SNPهای مشترک بین شترهای دوکوهانه اهلی و وحشی نیز برابر با ۸۰۰۵۳۰ بود. پس از آنالیز DDD که در مورد سه گونه انسان، گاو و خوک انجام گرفت، مشخص شد که ۷۰ رونوشت برای انسان، ۲۵۰ رونوشت برای گاو و ۲۷۴ رونوشت برای خوک در بافت چربی دارای بیان بالاتری نسبت به بافت‌های دیگر (غده فوق‌کلیه، خون، مغز، روده و قلب) می‌باشند. برای انتخاب مجموعه ژن‌های مرتبط با متابولیسم چربی از طریق آنالیز DDD، ابتدا ژن‌هایی که در بافت چربی حداقل ده برابر بیش‌تر از بافت‌های دیگر بیان شده بودند، در هر سه گونه به عنوان ژن‌های با بیان بالا در بافت چربی درنظر گرفته شدند. سپس تعداد نه ژن که در هر سه گونه و یا حداقل بین دو گونه مشترک بودند به‌عنوان ژن‌های مرتبط با چربی درنظر گرفته شدند. تعداد شش ژن باقی‌مانده برای دسته ژن‌های مرتبط با چربی و تمام ژن‌های مرتبط با گلوکز نیز از طریق بررسی منابع و مقالات معتبر منتشر شده، مورد انتخاب قرار گرفتند. انجام آنالیز هستی‌شناسی ژن به‌منظور اطمینان از این‌که این ژن‌های در ارتباط با متابولیسم چربی و گلوکز هستند، روی ژن‌های انتخاب شده صورت پذیرفت. نتایج آنالیز در مورد ژن‌های مرتبط با متابولیسم گلوکز نشان داد که نه عبارت معنی‌دار برای فرآیندهای زیستی (Biological process) وجود دارد. درحالی‌که عبارت معنی‌داری برای بخش‌های سلولی (Cellular component) و کارکردهای مولکولی (Molecular function) پیدا نشد. هم‌چنین آنالیز بر روی ژن‌های مرتبط با متابولیسم چربی نیز نشان داد که دو عبارت معنی‌دار برای فرآیندهای زیستی و یک عبارت معنی‌دار برای کارکردهای مولکولی وجود دارند (جدول ۲). نتایج به‌دست آمده به خوبی ارتباط ژن‌های انتخابی با روندهای متابولیسمی مدنظر را نمایان می‌سازد، به‌طوری‌که آنالیز هستی‌شناسی ژن روی ژن‌های مرتبط با متابولیسم گلوکز منجر به معنی‌دارشدن عباراتی در ارتباط با هموستازی گلوکز، گلوکونئوژنز (تولید گلوکز از مواد غیرقندی)، پاسخ به هورمون

رشد، تنظیم بیوسنتز گلیکوژن و روندهای متابولیکی گلوکز شدند. هم‌چنین نتایج آنالیز در مورد ژن‌های مرتبط با متابولیسم چربی نیز از معنی‌دار شدن عباراتی در رابطه با هموستازی کلسترول، بتااکسیداسیون اسیدهای چرب و فعالیت لیپازی پرده برداشت. نتایج نشان دادند که تعداد SNPهای شناسایی شده در ژن‌های مرتبط با چربی و گلوکز به‌ترتیب برای شترهای تک‌کوهانه برابر با ۷۴، ۱۹۸، برای دوکوهانه‌های اهلی برابر با ۶۲، ۱۹۴ و برای دوکوهانه‌های وحشی برابر با ۱۹۹ و ۴۰۶ می‌باشند. بررسی تغییر نوکلئوتیدهای موجود در ژن‌های منتخب در سه گونه شتر نشان داد که بیش‌تر آن‌ها از نوع تغییر نوکلئوتیدهای تنظیمی (ازجمله تغییر نوکلئوتیدهای موجود در اینترون، بالادست و پایین‌دست ژن‌ها) بوده و تاثیری در تغییر ساختار ژن و متعاقب آن در پروتئین تولیدی نداشتند. با توجه به مقایسه تعداد SNPها در دو دسته ژن‌های مورد مطالعه، به‌نظر می‌رسد که ژن‌های مرتبط با گلوکز در روند تکامل درصد بالاتری از تغییرات را در مقایسه با ژن‌های مرتبط با چربی، متحمل شده باشند. سهم تغییر نوکلئوتیدهای اینترونی در ژن‌های مرتبط با متابولیسم چربی و گلوکز به‌ترتیب برای شترهای تک‌کوهانه برابر با ۵۹/۵، ۷۴/۲ درصد، برای دوکوهانه اهلی برابر با ۳۸/۷، ۷۰/۱ درصد و برای دوکوهانه وحشی برابر با ۴۳/۷، ۶۰/۱ درصد بود (جداول ۳ و ۴). درصد تغییر نوکلئوتیدهای اینترونی به‌وضوح در شترهای تک‌کوهانه بیش‌تر از دو گونه دیگر بود و هم‌چنین تعداد این نوع از تغییر نوکلئوتیدها در ژن‌های مرتبط با گلوکز در شترهای دوکوهانه اهلی و وحشی در مقایسه با ژن‌های مرتبط با چربی بالاتر بود. تغییر نوکلئوتیدهای اینترونی هرچند تغییری در محصول پروتئین ژن‌ها ایجاد نمی‌کنند اما می‌توانند در تغییر و تنظیم بیان ژن‌ها نقش داشته باشند (Shaul، ۲۰۱۷؛ Rose، ۲۰۱۸).

جدول ۲: عبارت هستی‌شناسی معنی‌دار برای ژن‌های مرتبط با متابولیسم چربی و گلوکز

دسته‌بندی	دسته ژنی	عبارت	شناسه عبارت	تصحیح شده P-value
فرآیند زیستی	مرتبط با گلوکز	هموستازی گلوکز	**GO:0042593**	$۲/۵۰ \times ۱۰^{-۶}$
فرآیند زیستی	مرتبط با گلوکز	گلوکونئوژنز	**GO:0006094**	$۱/۰۴ \times ۱۰^{-۴}$
فرآیند زیستی	مرتبط با گلوکز	فرآیند متابولیک گلوکز	**GO:0006006**	$۱/۳۷ \times ۱۰^{-۴}$
فرآیند زیستی	مرتبط با گلوکز	پاسخ به هورمون رشد	**GO:0060416**	$۷/۴۵ \times ۱۰^{-۴}$
فرآیند زیستی	مرتبط با گلوکز	تنظیم مثبت گلیکوژن	**GO:0045725**	$۲/۶۱ \times ۱۰^{-۳}$
فرآیند زیستی	مرتبط با گلوکز	پاسخ به غذا	**GO:0032094**	$۳/۴۵ \times ۱۰^{-۳}$
فرآیند زیستی	مرتبط با گلوکز	تنظیم مثبت ورود گلوکز	**GO:0046326**	$۵/۸۹ \times ۱۰^{-۳}$
فرآیند زیستی	مرتبط با گلوکز	تنظیم منفی مرگ سلولی	**GO:0043066**	$۴/۱۷ \times ۱۰^{-۲}$
فرآیند زیستی	مرتبط با گلوکز	نگه‌داری محل پروتیئن در میتوکندری	**GO:0072656**	$۹/۷۰ \times ۱۰^{-۲}$
فرآیند زیستی	مرتبط با چربی	بتااکسیداسیون اسید چرب	**GO:0006635**	$۷/۴۸ \times ۱۰^{-۲}$
فرآیند زیستی	مرتبط با چربی	هموستازی کلسترول	**GO:0042632**	$۸/۰۶ \times ۱۰^{-۲}$
عملکرد مولکولی	مرتبط با چربی	فعالیت تری گلیسرید لیپاز	**GO:0004806**	$۱/۹۴ \times ۱۰^{-۳}$

جدول ۳: چندشکلی‌های شناسایی شده در ژن‌های مرتبط با متابولیسم چربی در شترهای تک‌کوهانه، دوکوهانه اهلی و دوکوهانه وحشی

	شتر تک‌کوهانه				شتر دوکوهانه اهلی				شتر دوکوهانه وحشی			
ژن	اینترون	بالا و پایین‌دست	بدمعنی	بقیه	اینترون	بالا و پایین‌دست	بدمعنی	بقیه	اینترون	بالا و پایین‌دست	بدمعنی	بقیه
ADIPOQ	-	۱	-	-	-	۱	-	-	-	۳	-	-
CCDC80	۱۰	-	-	-	۵	۶	-	۱	۷	۶	-	۱
CD36	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CPT1B	-	-	-	-	-	۳	-	-	-	۴	۲	۱
DGAT2	۴	-	-	-	۵	۲	-	-	۷	۲	-	-
FABP3	-	-	-	-	۲	۸	-	۲	۱	۱۵	-	۳
FABP4	-	۴	-	-	-	-	-	-	۲	۱۰	-	۱
HSL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LEP	۱	-	-	-	۲	۳	-	-	۱۵	۱۵	-	۲
LPL	۲۷	۱۳	۲	۲	۳	۱	-	-	۴۰	۱۸	-	۴
PLIN4	-	۴	-	۱	-	-	-	-	۳	۱	۸	۹
PNLIP	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PNPLA2	-	-	-	۱	-	-	-	-	-	-	-	-
SCD	۱	۱	-	-	۳	-	-	-	۳	-	-	-
SFRP4	۱	۱	-	-	-	۳	-	۱	۹	۵	-	۲

جدول ۴: چندشکلی‌های شناسایی شده در ژن‌های مرتبط با متابولیسم گلوکز در شترهای تک‌کوهانه، دوکوهانه اهلی و دوکوهانه وحشی

ژن	شتر تک‌کوهانه				شتر دوکوهانه اهلی				شتر دوکوهانه وحشی			
	اینترون	بالا و پایین‌دست	بدمعنی	بقیه	اینترون	بالا و پایین‌دست	بدمعنی	بقیه	اینترون	بالا و پایین‌دست	بدمعنی	بقیه
AKT1	۱	-	-	-	۵	-	-	۱	۱۱	۴	۱	۱
G6Pc	۱	۶	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GLUT1	۲۰	۱۴	۴	-	-	-	-	-	۲۹	۴	-	۱
GLUT4	-	۲	-	-	۳	۶	۱	-	-	۴	۱	-
GPT	-	۱	-	-	-	-	-	-	-	۲	-	-
HK2	۴۴	-	۱	-	۵۶	۵	-	-	۵۱	۱۵	-	۳
IGF1	۸	۲	-	-	۳۱	۱۴	-	۱	۶۱	۱۷	-	۱
INS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LDHA	-	-	-	-	-	-	-	-	۱۳	۱۹	-	۲
LDHB	۱۷	۴	۳	۱	۱۱	۳	۱	-	۱۸	۳۲	۱	-
PC	۲۹	۲	-	-	۱۱	-	-	-	۲۲	۱	-	-
PCK1	-	۲	-	-	۷	۱۶	۱	۴	۱۱	۲۸	-	۳
PCK2	۱	-	-	-	۲	۳	-	-	۴	۸	-	-
PFKM	-	-	-	-	۳	۱	-	-	۱۶	۴	-	۱
PKM2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PRKAA1	۶	۵	-	-	۲	۱	-	-	۳	۸	-	۱
STAT3	۲۰	۴	-	-	۵	-	-	-	۵	-	-	-

بحث

هدف از تحقیق حاضر دستیابی و بهینه‌سازی تکنیک تعیین دلیل استفاده از آنالیز DDD برای انتخاب ژن‌های مرتبط با متابولیسم چربی این بود که بافت‌هایی در بدن پستانداران وجود دارند (بافت چربی، چربی شکمی و چربی بین ماهیچه‌ای) که به‌صورت ویژه و اختصاصی در متابولیسم چربی دخیل بوده و بدین‌ترتیب قابلیت مقایسه با بافت‌های دیگر را دارا هستند. درحالی‌که این امکان برای متابولیسم گلوکز وجود ندارد چرا که متابولیسم گلوکز در بافت‌های متعددی صورت می‌گیرد. لذا از مطالعات انجام گرفته روی ژن‌های مرتبط با گلوکز، برای شناسایی و انتخاب ژن‌های دخیل در متابولیسم گلوکز استفاده شد. بررسی ژن‌های مورد مطالعه نشان داد که برخی از ژن‌ها شامل *CD36*، *HSL*، *PNLIP* (مرتبط با چربی)، *INS* و *PKM2* (مرتبط با گلوکز) در هر سه گونه شتر، بدون تغییر بوده و هیچ SNP در آن‌ها مشاهده نشد و در مورد ژن‌هایی مانند *PNPLA2* نیز فقط یک SNP از نوع هم‌معنی (Synonymous) در شترهای تک‌کوهانه مشاهده شد. به‌نظر می‌رسد این ژن‌ها از حفاظت‌شدگی بالاتری در شترها برخوردار هستند. ژن *FABP3* در شترهای تک‌کوهانه بدون SNP بود درحالی‌که در شترهای دوکوهانه اهلی دارای یک SNP اینترونی و ۸ SNP نیز در بالادست و پایین‌دست ژن بود و این تعداد برای شتر دوکوهانه وحشی به‌ترتیب برابر با ۱ و ۱۵ بود. مطالعه‌ای روی گاو نشان دادکه ژن *FABP3* به‌همراه هم‌خانواده نوع چهار و پنج خود، در دوران شیردهی دارای بیان بالایی در بافت پستان می‌باشد (Bionaz و Loor، ۲۰۰۸) هم‌چنین نقش پروتئین تولیدی این ژن (*H-FABP*) در بهبود حساسیت انسولین (Shearer و همکاران، ۲۰۰۵)، تنظیم چربی بین ماهیچه‌ای و توسعه بافت چربی (Li و همکاران، ۲۰۰۷) مورد مطالعه قرار گرفته است. یکی دیگر از نقش‌های اساسی *H-FABP* در تغییر سوبسترای تولید انرژی از گلوکز به اسیدهای چرب بلند زنجیره می‌باشد (Shearer و همکاران، ۲۰۰۵) که در زندگی شترها که دائم تحت شرایط متغیر محیطی هستند، به آن‌ها انعطاف متابولیسمی بیش‌تر می‌دهد. لذا به‌نظر می‌رسد SNPهای تنظیمی موجود در دوکوهانه‌ها، با این نقش از ژن، در ارتباط باشد هر چند به شواهد مطالعاتی بیش‌تری در این زمینه نیاز است. ژن دیگری که به وضوح دارای تفاوت الگو در سه گونه از شترها بود، ژن *LDHA* می‌باشد که فقط در شترهای دوکوهانه وحشی دارای ۳۴ SNP بوده و در دو گونه دیگر تغییری در آن مشاهده نشد. این ژن، پروتئینی را تولید می‌کند که مسئول تبدیل پیروات به لاکتات در مسیر گلیکولیز است (Ross، ۲۰۱۰). مطالعه‌ای روی خوک‌ها که براساس شواهد ژنومی، از گونه‌های نزدیک به شترها به‌شمار می‌روند (Wu و همکاران، ۲۰۱۴)، نشان داد که مقدار بیان ژن *LDHA* در گرازهای وحشی در مقایسه با خوک‌های اهلی بالاتر می‌باشد. محققان ظرفیت بالای گرازهای وحشی در متابولیسم بی‌هوازی و هم‌چنین توانایی حرکتی سریعتر (تغییر متابولیسم هوازی و غیرهوازی) در گونه‌های وحشی را علت این عامل معرفی کردند(He و همکاران، ۲۰۱۷). از آن‌جایی‌که در مطالعه کنونی، SNPهای تنظیمی زیادی در ژن *LDHA* شترهای دوکوهانه وحشی شناسایی شد، به‌نظر می‌رسد این تغییرات را بتوان به ظرفیت‌های

متفاوت متابولیسمی و هم‌چنین قابلیت‌های تحرکی در این گونه‌ها نسبت داد هر چند مطالعات بیان ژنی می‌تواند در اثبات این ادعا به محققان کمک کند. نکته جالبی که در نتایج به چشم می‌خورد، وجود تعداد بالاتر تغییر نوکلئوتیدهای اینترونی و بالا و پایین‌دستی ژن‌ها در شترهای دوکوهانه وحشی در مقایسه با تک‌کوهانه‌ها و دوکوهانه‌های اهلی می‌باشد. به‌نظر می‌رسد یکی از دلایل احتمالی این تفاوت، ناشی از سبک زندگی گونه‌وحشی در مقایسه با شترهای اهلی باشد. به‌طوری که تعداد تنوع در این شترها به‌خصوص در مورد ژن‌های تحت مطالعه، بالاتر بوده و احتمالاً انعطاف متابولیسمی بیش‌تری برای مقابله با شرایط سخت بیابانی را در اختیار آن‌ها قرار می‌دهد. مقایسه ژن‌های مورد مطالعه با ژن‌هایی که به‌عنوان ژن‌های با انتخاب مثبت (PSG=Positively Selected Gene) در شترهای تک‌کوهانه (۳۲۴ ژن) و دوکوهانه اهلی (۲۸۷ ژن) گزارش شده بودند (Wu و همکاران، ۲۰۱۴) نشان داد که هیچ‌کدام از ژن‌های حاضر در این مطالعه، از نوع PSG نیستند. البته به‌نظر می‌رسد برای شناسایی PSGها در شترها، به مطالعات متعدد و با تعداد نمونه‌های بیش‌تری نیاز است. لذا مطالعه ژن‌های مهم در شترها و بررسی تفاوت‌های مشاهده شده در آن‌ها می‌تواند به ردگیری روند تکاملی در شترها کمک شایانی نماید. نتایج مطالعه کنونی از تفاوت آشکار در الگوی تنوع ژنتیکی موجود در برخی از ژن‌های مهم مرتبط با متابولیسم چربی و گلوکز در سه گونه شتر پرده برداشت. به‌نظر می‌رسد مطالعه این ژن‌ها از جنبه‌های مختلف می‌تواند به شناخت هر چه بهتر روند تکاملی در شترها کمک کند. هم‌چنین شترها به‌دلیل استفاده بهینه از منابع چربی و قندی و مقاومت در برابر برخی بیماری‌های مهم مانند دیابت می‌تواند در شناخت مکانیسم مقاومتی در مقابل این بیماری به‌عنوان مدل مورد مطالعات بیش‌تری قرار بگیرند. به‌نظر می‌رسد با استفاده از نمونه‌های توالی‌یابی شده بیش‌تر و هم‌چنین تجمیع اطلاعات مربوط به مطالعاتی مانند تحقیق کنونی، بتوان به یافته‌های بیش‌تری در مورد ژن‌های مهم در گونه‌هایی مانند شترها دست یافت. این مطالعه یک گام در ابتدای مسیری طولانی می‌باشد که محققان باید در آن قدم گذاشته و اطلاعات را درباره شترها افزایش دهند. افزایش اطلاعات زیستی در مورد شترها می‌تواند باعث تسریع ورود علم اصلاح نژاد برای به‌نژادی در شترها شده و زمینه ورود شترها به پرورش صنعتی را تسهیل کند. حال مطالعه کنونی تا حدودی توانست کاندیداهای ژنی و تغییر نوکلئوتیدی مطلوبی را برای مطالعات دقیق‌تر و بیش‌تر معرفی کند.

منابع

۱. **خلخالی‌ایوریق، ر.؛ حافظیان، ح.؛ هدایت‌ایوریق، ن.؛ فرهادی، ا. و بختیاری‌زاده، م.ر.، ۱۳۹۷.** شناسایی و آنالیز حذف و درج‌ها در ژنوم شترهای تک‌کوهانه ایرانی با استفاده از داده‌های توالی‌یابی کل ژنوم. مجله تولیدات دامی. دوره ۲۰، شماره ۱، صفحات ۱۰۹ تا ۱۲۰.

۲. **رودباری، ز. و نصیری، خ.، ۱۳۹۸.** بررسی تنوع ژنتیکی و اثر انتخاب ژن‌های RNA ریبوزومی و ناقل در ژنوم میتوکندریایی شترهای تک‌کوهانه و دوکوهانه. فصلنامه محیط زیست جانوری. دوره ۱۱، شماره ۴، صفحات ۳۳ تا ۳۸.

۳. **عمری‌کولانکوه، م.؛ هدایت ایوریق، ن.؛ بوستان، آ.؛ سیدشریفی، ر.؛ واحدی، و. و خلخالی ایوریق، ر.، ۱۳۹۸.** شناسایی هاپلوگروه‌های مادری جمعیت اسب‌های استان اردبیل با استفاده از ناحیه کنترل ژنوم میتوکندریایی. فصلنامه محیط زیست جانوری. دوره ۱۱، شماره ۲، صفحات ۶۳ تا ۶۸.

۴. **قربانی، ا.؛ پرنعمت خانقاه، س.؛ ماهری سیس، ن. و تقی‌نژاد رودبنه، م.، ۱۳۹۹.** ارتباط چندشکلی ژن PIT-1 با صفات مرتبط با شیر در گاوهای نر هلشتاین. فصلنامه محیط زیست جانوری. دوره ۱۲، شماره ۱، صفحات ۵۹ تا ۶۴.

۵. **محمدآبادی، م.ر.، ۱۳۹۸.** بیان ژن کلپاستاتین در بز کرکی راینی با استفاده از Real Time PCR. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی. دوره ۱۱، شماره ۴، صفحات ۲۱۹ تا ۲۳۵.

۶. **هاشمی، م.؛ احمدی، ا. و عبدلی، ر.، ۱۳۹۸.** بررسی تنوع ژنتیکی ژن پروتئین پرایون در گوسفندان نژاد مهربان و رومانف. تحقیقات تولیدات دامی. دوره ۸، شماره ۴، صفحات ۹ تا ۱۸.

۷. **هدایت‌ایوریق، ن.؛ زارع، ن.؛ سیدشریفی، ر.؛ خلخالی‌ایوریق، ر. و بوستان، آ.؛ ۱۴۰۰.** شناسایی کل ریزماهواره‌ها در ژنوم شترهای دوکوهانه ایرانی با استفاده از داده‌های توالی‌یابی کل ژنوم. مجله پژوهش‌های علوم دامی ایران. دوره ۱۳، شماره ۱.

8. **Al-Ali, A.K.; Husayni, H.A. and Power, D.M., 1988.** A comprehensive biochemical analysis of the blood of the camel (Camelus dromedarius). Comparative Biochemistry and Physiology B. Vol. 89, pp: 35-37.

9. **Bakhtiarizadeh, M.R.; Moradi-Shahrbabak, M. and Ebrahimie, E., 2013.** Underlying functional genomics of fat deposition in adipose tissue. Gene. Vol. 521, pp: 122-128.

10. **Benjamini, Y. and Hochberg, Y., 1995.** Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Methodological). Vol. 57, pp: 289-300.

11. **Bionaz, M. and Loor, J.J. 2008.** ACSL1, AGPAT6, FABP3, LPIN1, and SLC27A6 are the most abundant isoforms in bovine mammary tissue and their expression is affected by stage of lactation. The Journal of Nutrition. Vol. 138, pp: 1019-1024.

12. **Bouâouda, H.; Achâaban, M.R.; Ouassat, M.; Oukassou, M.; Piro, M.; Challet, E.; El-Allali, K. and Pévet, P., 2014.** Daily regulation of body temperature rhythm in the camel (*Camelus dromedarius*) exposed to experimental desert conditions. Physiological Reports. Vol. 2. e12151.

13. **Cingolani, P.; Platts, A.; Wang, L.L.; Coon, M.; Nguyen, T.; Wang, L.; Land, S.J.; Lu, X. and Ruden, D.M., 2012.** A program for annotating and predicting the effects of single nucleotide polymorphisms, SnpEff: SNPs in the genome of

Drosophila melanogaster strain w1118; iso-2; iso-3. Fly. Vol. 6, pp: 80-92.

14. **Danecek, P.; Auton, A.; Abecasis, G.; Albers, C.A.; Banks, E.; DePristo, M.A.; Handsaker, R.E.; Lunter, G.; Marth, G.T.; Sherry, S.T. and McVean, G., 2011.** The variant call format and VCFtools. Bioinformatics. Vol. 27, pp: 2156-2158.

15. **Fagerberg, L.; Hallström, B.M.; Oksvold, P.; Kampf, C.; Djureinovic, D.; Odeberg, J.; Habuka, M.; Tahmasebpoor, S., Danielsson, A.; Edlund, K. and Asplund, A., 2014.** Analysis of the human tissue-specific expression by genome-wide integration of transcriptomics and antibody-based proteomics. Molecular & Cellular Proteomics. Vol. 13, pp: 397-406.

16. **Gouin, A.; Legeai, F.; Nouhaud, P.; Whibley, A.; Simon, J.C. and Lemaitre, C., 2015.** Whole-genome re-sequencing of non-model organisms: lessons from unmapped reads. Heredity. Vol. 114, pp: 494.

17. **He, D.; Ma, J.; Long, K.; Wang, X.; Li, X.; Jiang, A. and Li, M., 2017.** Differential expression of genes related to glucose metabolism in domesticated pigs and wild boar. Bioscience Biotechnology and Biochemistry. Vol. 81, pp: 1478-1483.

18. **Huang, D.W.; Sherman, B.T.; and Lempicki, R.A., 2008.** Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources. Nature Protocols. Vol. 4, pp: 44.

19. **Jirimutu, A.; Wang, Z.; Ding, G.; Chen, G.; Sun, Y.; Sun, Z.; Zhang, H.; Wang, L.; Hasi, S.; Zhang, Y.; Li, J. and Shi, Y., 2012.** Genome sequences of wild and domestic bactrian camels. Nature Communications. Vol. 3, pp: 1202-1202.

20. **Khalkhali-Evrigh, R.; Hafezian, S.H.; Hedayat-Evrigh, N.; Farhadi, A. and Bakhtiarizadeh, M.R., 2018.** Genetic variants analysis of three dromedary camels using whole genome sequencing data. PloS one. Vol. 13, p. e0204028.

21. **Khalkhali-Evrigh, R.; Hafezian, S.H.; Hedayat-Evrigh, N.; Farhadi, A. and Bakhtiarizadeh, M.R., 2019.** Genome-wide identification of microsatellites and transposable elements in the dromedary camel genome using whole genome sequencing data. Frontiers in Genetics. Vol.10, 692 p.

22. **Li, B.; Qiao, L.; An, L.; Wang, W.; Liu, J.; Ren, Y.; Pan, Y.; Jing, J. and Liu, W., 2018.** Transcriptome analysis of adipose tissues from two fat-tailed sheep breeds reveals key genes involved in fat deposition. BMC Genomics. Vol. 19, pp: 338.

23. **Li, B.; Zerby, H.N. and Lee, K., 2007.** Heart fatty acid binding protein is upregulated during porcine adipocyte development. Journal of Animal Science. Vol. 85, pp: 1651-1659.

24. **Ming, L.; Yuan, L.; Yi, L.; Ding, G.; Hasi, S.; Chen, G.; Jambl, T.; Hedayat-Evrigh, N.; Batmunkh, M.; Badmaevna, G.K. and Gan-Erdene, T., 2020.** Whole-genome sequencing of 128 camels across Asia reveals origin and migration of domestic Bactrian camels. Communications Biology. Vol. 3, pp: 1-9.

25. **Rose, A.B., 2018.** Introns as Gene Regulators: A Brick on the Accelerator. Frontiers in Genetics. Vol. 9.

26. **Ross, J.M.; Öberg, J.; Brené, S.; Coppotelli, G.; Terzioglu, M.; Pernold, K.; Goiny, M.; Sitnikov, R.; Kehr, J.; Trifunovic, A. and Larsson, N.G., 2010.** High brain lactate is a hallmark of aging and caused by a shift in the lactate dehydrogenase A/B ratio. Proceedings of the National Academy of Sciences. Vol. 107, pp: 20087-20092.

27. **Saltiel, A.R. and Kahn, C.R., 2001.** Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. Nature. Vol. 414, pp: 799.

28. **Shaul, O., 2017.** How introns enhance gene expression. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology. Vol. 91, pp: 145-155.

29. **Shearer, J.; Fueger, P.T.; Bracy, D.P.; Wasserman, D.H. and Rottman, J.N., 2005.** Partial gene deletion of heart-type fatty acid–binding protein limits the severity of dietary induced insulin resistance. Diabetes. Vol. 54, pp: 3133-3139.

30. **Webb, G.C.; Akbar, M.S.; Zhao, C. and Steiner, D.F., 2000.** Expression profiling of pancreatic β cells: glucose regulation of secretory and metabolic pathway genes. Proceedings of the National Academy of Sciences. Vol. 97, pp: 5773-5778.

31. **Wu, H.; Guang, X.; Al-Fageeh, M.B.; Cao, J.; Pan, S.; Zhou, H.; Zhang, L.; Abutarboush, M.H.; Xing, Y.; Xie, Z. and Alshanqeeti, A.S., 2014.** Camelid genomes reveal evolution and adaptation to desert environments. Nature Communications. Vol. 5, pp: 5188.

32. **Wu, Y.; Pan, Q.; Yan, H.; Zhang, K.; Guo, X.; Xu, Z.; Yang, W.; Qi, Y.; Guo, C.A.; Hornsby, C. and Zhang, L., 2018.** Novel Mechanism of Foxo1 phosphorylation in glucagon signaling in control of glucose homeostasis. Diabetes. Vol. 67, pp: 2167-2182.

33. **Zhao, S.M.; Ren, L.J.; Chen, L.; Zhang, X.; Cheng, M.L.; Li, W.Z.; Zhang, Y.Y. and Gao, S.Z., 2009.** Differential expression of lipid metabolism related genes in porcine muscle tissue leading to different intramuscular fat deposition. Lipids. Vol. 44, pp: 1029.