مجله تاکسونومی و بیوسیستماتیک، سال اول، شماره اول، زمستان ۱۳۸۸، صفحه ۸۰-۷۳

شواهدی از انتخاب متعادل چند شکلی‌های *PAH-Bgl*II و *PAH-Eco*RI در جمعیت اصفهان

زهرا فاضلی عطار، کارشناس ارشد ژنتیک، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران
صادق ولیان بروجنی، دانشیار ژنتیک، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران*

چکیده

دو مارکر چندشکلی *Bgl*II و *Eco*RI در اینترون ۱ و اینترون ۵ ژن فنیل آلانین هیدرکسیلاز (Phenylalanine Hydroxylase, PAH) شناخته شدند. برای آزمودن اینکه آیا این چندشکلی‌ها به مانند آلل‌های خنثی عمل می‌کنند یا در معرض فشار انتخاب در جمعیت اصفهان قرار دارند، ۱۱۰ فرد با روش PCR-RFLP تعیین ژنوتیپ گردیدند. فایل ورودی Arlequin با استفاده از اطلاعات هاپلوتیپی با فاز شناخته شده آماده شد و آزمون‌های Neutrality (آزمون D تاجیما و آزمون Fu's Fs) با استفاده از برنامه Arlequin انجام شد. ۴۲ فرد در هر دو چندشکلی هتروزیگوت بودند و فاز هاپلوتیپی آن‌ها ناشناخته باقی ماند. فاز هاپلوتیپی *Bgl*II-*Eco*RI فقط در ۶۸ فرد شناخته شد که برای آماده سازی فایل ورودی استفاده گردید. مقدار D تاجیما و مقدار Fs در جمعیت اصفهان به ترتیب ۱/۷ و ۱/۰۲ است. مقدار مثبت Fs و D>0 بیانگر آن است که این چندشکلی‌ها در جمعیت اصفهان تحت انتخاب متعادل هستند. اگرچه این چندشکلی‌ها در ناحیه غیرکدکننده ژن *PAH* قرار دارند، ولی آن‌ها آلل‌های خنثی نیستند و مقدار مثبت این آزمون‌ها، شواهدی برای انتخاب متعادل این چندشکلی‌ها در جمعیت اصفهان فراهم می‌سازند. نتایج این مطالعه می‌تواند درک ما را از تاریخ تکاملی و ساختار جمعیت اصفهان بهبود بخشد.

واژه‌های کلیدی: آزمون Neutrality، برنامه Arlequin، چندشکلی DNA، ژن *PAH*

مقدمه

مطابق با تئوری مولکولی تکامل خنثی، اکثر چندشکلی‌های DNA از لحاظ انتخاب خنثی هستند و تغییر در فراوانی آللی این لوکوس‌ها به دلیل رانش ژنتیکی تصادفی و به ندرت به دلیل انتخاب است. امروزه آزمون‌های Neutrality متعددی توسعه یافته است که با استفاده از آن‌ها می‌توان جایگزینی‌های نوکلئوتیدی را که به مانند آلل‌های خنثی عمل می‌کنند و یا در معرض فشار انتخاب در یک جمعیت قرار دارند بررسی کرد. یکی از آزمون‌های Neutrality که برای بررسی اثر فشار انتخاب بر روی یک ژن به کار برده می‌شود، D تاجیما (Tajima' D) است. این آزمون بر اساس مقایسه تنوع نوکلئوتیدی

* svallian@biol.ui.ac.ir

Archive of SID
www.SID.ir

حاصل از تعداد و تنوع نوکلئوتیدی حاصل از فراوانی اللی جایگاه‌های چند شکلی است (Carlson *et al.*,2005; Tajima,1989). با استفاده از آزمونD تاجیما و سایر آزمون‌های Neutrality، مانند آزمون‌های Fu's Fs و Wu's H، که برای آزمون تئوری خنثی به کار برده می‌شوند، مشخص شده است که طیف فراوانی جایگاه چندشکلی ژن‌های گروه خونی ABO (Seltsam *et al.*, 2003)، HLA (Hughes and Yeager, 1998)، لاکتاز (Bersaglieri *et al.*, 2004) و *TRPV6* (Akey *et al.*, 2004; Stajich and Hahn, 2005) با تئوری خنثی سازگار نیستند.

ژن‌هایی که تنوع فراوانی آللی آن‌ها بالاست (همانند آنچه در مورد ژن‌های ABO و HLA مشاهده شده است) D تاجیما مثبت دارند و با انتخاب متعادل در جمعیت همراه هستند، در حالی که، ژن‌هایی که تنوع فراوانی آللی آن‌ها پایین است (مانند لاکتاز و *TRPV6*) D تاجیمای منفی دارند و با فشار انتخابی همراه هستند که یک واریانت سودمند را در جمعیت جایگزین سایر واریانت‌ها کرده است. ژن‌هایی که به تازگی در معرض انتخاب قرار گرفته اند و آلل سودمند هنوز آلل اصلی در جمعیت نشده است، برای مثال ژن *Duffy* (Hamblin and Di Rienzo, 2000, Hamblin *et al.*, 2002) و ژن *CCR5* (Claustres *et al.*, 1998) به سادگی با استفاده از آزمون D تاجیما قابل مطالعه نیستند، در حالی که آن‌ها را می‌توان با استفاده از آزمون Wu's بررسی کرد.

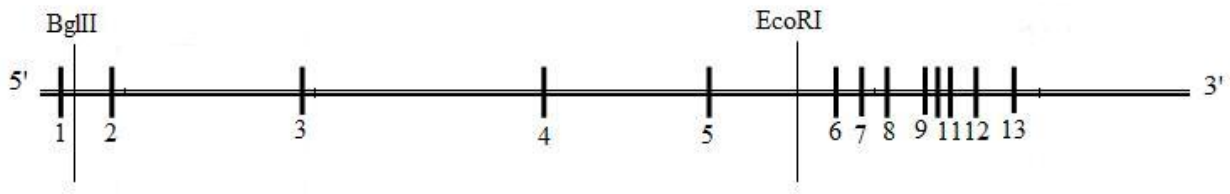
از جمله آزمون‌های Neutrality دیگری که برای مطالعه تأثیر انتخاب بر روی یک ژن به کار برده می‌شود، آزمون Ewens-Watterson (آزمون E-W) است. با استفاده از آزمون E-W می‌توان بررسی کرد که اثر انتخاب بر روی یک ژن در جمعیت جهت‌دار یا متعادل است (Watterson, 1978).

ژن فنیل آلانین هیدرکسیلاز (Phenylalanine Hydroxylase, PAH)، آنزیم فنیل‌آلانین ۴-مونوهیدروکسیلاز را کد می‌کند که تبدیل غیر قابل‌برگشت فنیل‌آلانین به تیروزین را بر عهده دارد. این آنزیم به طور طبیعی در کبد بیان می‌شود که بیان آن با مقدار کمتری در کلیه هم مشاهده شده است. از آن جهت که هیدروکسیلاسیون فنیل‌آلانین، مرحله محدودکننده سرعت در کاتابولیسم فنیل‌آلانین است، کمبود آنزیم فنیل آلانین هیدروکسیلاز باعث بروز فنوتیپ PKU می‌گردد (Kwok *et al*. and 1985; Madden, 2004). از جمله چندشکلی‌هایی که در ناحیه ژن *PAH* شناسایی شده است، مارکرهای چندشکلی با طول قطعات محدودکننده (RFLP) است. مارکرهای پلی مورف موجود در ناحیه ژنی با توجه به پیوستگی کاملی که با ژن *PAH* دارند، دارای کاربرد فراوانی در تحلیل پیوستگی ژن با جهش‌های ژنی هستند (Fazeli and Vallian, 2009). از جمله کاربرد آن‌ها می‌توان به شناسایی ناقلان بیماری در خانواده‌های افراد بیمار اشاره نمود (Dworniczak *et al.*, 1991).

با توجه به تفاوت فراوانی آللی و درجه هتروزیگوتی پلی‌مورف در جمعیت‌های مختلف، ضروری است قبل از به کارگیری مارکرهای مزبور، وضعیت آن‌ها در جمعیت مورد مطالعه، مورد بررسی دقیق جمعیت‌شناختی قرار گیرد. در این مطالعه، دو مارکر چندشکلی *Bgl*II و *Eco*RI که به ترتیب در اینترون ۱ و اینترون ۵ ژن *PAH* قرار دارند (شکل ۱) برای مطالعه آزمون Neutrality در جمعیت اصفهان انتخاب شدند. نتایج این مطالعه می‌تواند درک ما را از اثر فشار انتخاب بر روی ژن *PAH* در جمعیت اصفهان افزایش دهد.

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۱- جایگاه مارکرهای چندشکلی *Bgl*II و *Eco*RI که به ترتیب در اینترون ۱ و اینترون ۵ ژن *PAH* قرار دارند. ژن *PAH* دارای ۱۳ اگزون است. اگزون‌ها در ژن *PAH* با اعداد ۱۳-۱ مشخص شدند.

مواد و روش‌ها

تهیه نمونه

در این مطالعه، نمونه خون از ۱۱۰ فرد غیرخویشاوند از جمعیت اصفهان گرفته شد که زیرمجموعه‌ای از جمعیت اصفهان هستند. بنابراین، نتایج به دست آمده را می‌توان به تمام جمعیت اصفهان نسبت داد.

استخراج DNA ژنومی و انجام PCR

از نمونه‌های خونی تهیه شده، DNA ژنومی با روش اصلاح شده استاندارد رسوب نمک استخراج شد (Miller *et al*., 1988). پس از آن، ناحیه مربوط به دو مارکر ژن *PAH*، *PAH-Bgl*II و *PAH-Eco*RI، با استفاده از پرایمرهای اختصاصی تکثیر شد (Dworniczak *et al*., 1991; Kidd, 2002). واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر شامل ۵۰ نانوگرم DNA ژنومی، ۱۰ پیکو مول از هر پرایمر، ۲/۵ واحد آنزیم Taq پلیمراز و مخلوط dNTP در غلظت نهایی ۱۰ میلی مولار، در بافر 10X همراه PCR و $MgCl_2$ انجام شد. پس از آن ژنوتیپ محصولات PCR بر روی ژل آگاروز ۱/۵٪ تعیین شد.

هضم آنزیمی محصول PCR

پس از انجام PCR، به منظور تعیین حضور یا عدم حضور جایگاه شکست آنزیم‌های *Bgl*II و *Eco*RI، هضم آنزیمی بر روی محصولات تکثیر جایگاه‌های *Bgl*II و *Eco*RI انجام شد. هضم آنزیمی محصول PCR با هر کدام از این آنزیم‌ها بدین صورت انجام شد که به یک ویال ۱۰ میکروگرم از نمونه DNA محصول PCR به همراه ۵ واحد از آنزیم (۰/۵ میکرولیتر از آنزیم) و ۲/۵ میکرولیتر بافر اضافه گردید و با آب دو بار تقطیر به حجم ۲۵ میکرولیتر رسانده شد. ویال حاوی مخلوط واکنش هضم آنزیمی به مدت یک شب در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد در بن ماری قرار داده شد تا هضم آنزیمی کامل گردد. محصولات هضم آنزیمی توسط الکتروفورز با ژل ۱/۵ درصد آگاروز بررسی گردید (Fazeli and Vallian, 2009).

آنالیزهای آماری

اطلاعات اولیه‌ای که برنامه Arlequin برای تخمین آزمون Neutrality استفاده می‌کند، باید از نوع توالی DNA یا اطلاعات مربوط به مارکرهای RFLP با فاز گامتی شناخته شده باشند(Schneider *et al*., 2000) . در این مطالعه، از اطلاعات هاپلوتیپی با فاز گامتی شناخته شده دو مارکر RFLP برای تخمین آزمون‌های Neutrality (آزمون‌های D تاجیما و Fu's Fs و آزمون E-W) در جمعیت اصفهان استفاده گردید. همچنین با استفاده از همین برنامه، هتروزیگوسیتی مورد انتظار و هتروزیگوسیتی مشاهده شده این دو مارکر در جمعیت اصفهان تخمین زده شد.

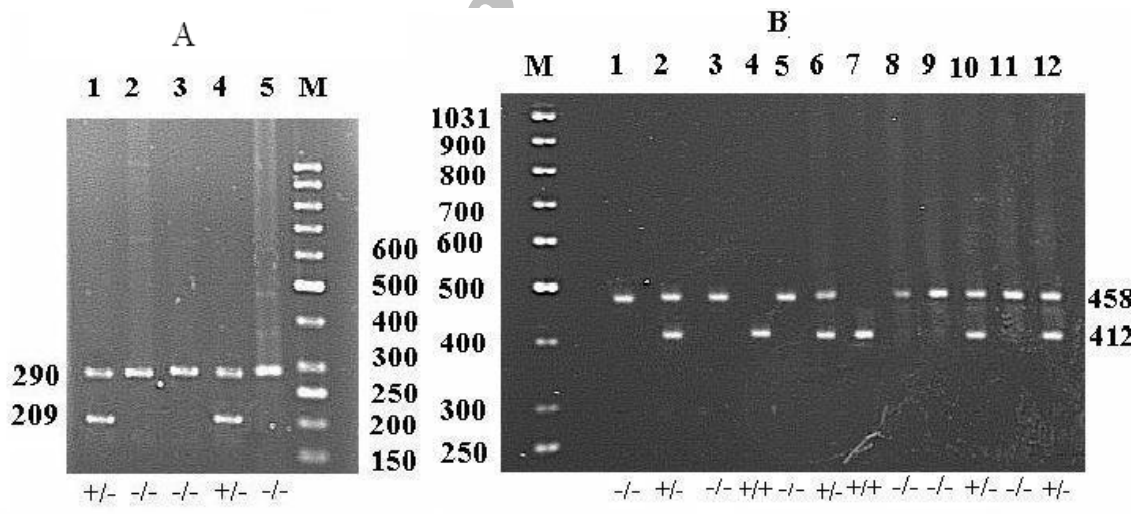
Archive of SID

www.SID.ir

مشاهدات

امروزه به منظور بررسی اثر فشار انتخاب بر روی یک ژن در جمعیت از آزمون‌های Neutrality استفاده می‌گردد. در این مطالعه از اطلاعات هاپلوتیپی *Bgl*II-*Eco*RI در ژن *PAH* برای تخمین D تاجیما، Fs و اجرای آزمون E-W (آزمون‌های Neutrality) استفاده گردید. مارکرهای *BglII* و *EcoRI* به ترتیب در اینترون ۱ و اینترون ۵ ژن *PAH* قرار دارند (شکل ۱). تخمین فاز هاپلوتیپی با استفاده از تعیین ژنوتیپ دو مارکر *Bgl*II و *Eco*RI در ۱۱۰ فرد غیر خویشاوند انجام گرفت. تکثیر ناحیه مربوط به مارکر *Bgl*II و *Eco*RI به ترتیب قطعه‌ای با طول ۲۹۰ و ۴۵۸ جفت بازی تولید کرد که در صورت حضور جایگاه شکست آنزیم *Bgl*II و *Eco*RI به ترتیب به قطعاتی با طول ۲۰۹ و ۸۱ جفت بازی و طول ۴۱۲ و ۴۶ جفت بازی شکسته شدند (شکل ۲).

فاز گامتی هاپلوتیپ *Bgl*II-*Eco*RI مشاهده شده در ۱۱۰ فرد مورد مطالعه در جمعیت اصفهان در جدول ۱ نشان داده شده است. برای هر هاپلوتیپ اعداد از چپ به راست به ترتیب نشان‌دهنده آلل *Bgl*II، *Eco*RI در ژن *PAH* است. برای مارکرهای *Bgl*II و *Eco*RI اعداد ۱ و ۰ به ترتیب حضور (+) و عدم‌حضور(-) جایگاه شکست آنزیم محدودکننده را مشخص می‌کند. در اطلاعات ژنوتیپی، اعداد ۰، ۱ و ۲ به ترتیب برابر با ژنوتیپ‌های -/-، +/+ و +/- است. با استفاده از اطلاعات ژنوتیپی، تنها فازگامتی هاپلوتیپ *Bgl*II-*Eco*RI در ۶۸ فرد تعیین گردید. ژنوتیپ ۴۲ فرد مورد مطالعه در هر دو مارکر *Bgl*II و *Eco*RI هتروزیگوت بود. بنابراین، فاز هاپلوتیپی در این افراد ناشناخته باقی ماند.



شکل ۲- بررسی وضعیت ژنوتیپی مارکرهای Eco *RI* و Bgl *II* در جمعیت اصفهان

تعیین ژنوتیپA) مارکر Bgl *II* ، B) Eco*RI*. به منظور بررسی وضعیت ژنوتیپی مارکرهای مزبور DNA ژنومی با استفاده از پرایمرهای اختصاصی تکثیر شده و سپس توسط آنزیم‌های محدود کننده مورد هضم قرار گرفته است. چنانکه در شکل نشان داده شده است، اطلاعات ژنوتیپی برای افراد هموزیگوت منفی، هموزیگوت مثبت و هتروزیگوت به ترتیب به صورت -/-، +/+ و +/- نشان داده شده‌اند. M نشان‌دهنده مارکر اندازه است. برای اطلاعات بیشتر به متن رجوع شود.

www.SID.ir

جدول ۱- فازهای گامتی هاپلوتیپ *Bgl*II-*Eco*RI مشاهده شده در ۱۱۰ فرد مورد مطالعه جمعیت اصفهان

فراوانی (تعداد افراد)	فازهای گامتی هاپلوتیپ	اطلاعات ژنوتیپی
۵	۱۱ ۱۰	۱۲
۴۲	۰۱ ۰۰	۰۲
۱۲	۱۱ ۰۱	۲۱
۱	۱۰ ۱۰	۱۰
۲	۱۰ ۰۰	۲۰
۲	۰۰ ۰۰	۰۰
۴	۰۱ ۰۱	۰۱
۴۲	نامشخص	۲۲

اطلاعات هاپلوتیپی ۶۸ فرد که فاز گامتی آن‌ها مشخص بود، برای تهیه فایل ورودی برنامه Arlequin استفاده گردید و مقدار D تاجیما و Fu's Fs در جمعیت اصفهان به ترتیب برابر با ۱/۷ و ۱/۰۲ تخمین زده شد. مقدار *F* موردانتظار و مشاهده شده در آزمون E-W برابر با ۰/۳۵ و ۰/۵۹ تخمین زده شد. برای تخمین هتروزیگوسیتی مشاهده شده و هتروزیگوسیتی مورد انتظار این دو مارکر در جمعیت اصفهان از اطلاعات ژنوتیپی ۱۱۰ فرد استفاده گردید. میزان هتروزیگوسیتی موردانتظار و هتروزیگوسیتی مشاهده شده دو مارکر *Bgl*II و *Eco*RI در جمعیت اصفهان که با استفاده از برنامه Arlequin تخمین زده شد، در جدول ۲ نشان داده شده است.

جدول ۲: درجه هتروزیگوسیتی چندشکلی‌های *Bgl*II و *Eco*RI در ژن *PAH* در جمعیت اصفهان

چندشکلی	هتروزیگوسیتی مورد انتظار	هموزیگوسیتی مورد انتظار	هتروزیگوسیتی مشاهده شده	هموزیگوسیتی مشاهده شده
*PAH-Bgl*II	٪۴۳	٪۵۷	٪۵۱	٪۴۹
*PAH-Eco*RI	٪۵۰	٪۵۰	٪۸۱	٪۱۹

Archive of SID

www.SID.ir

نتیجه‌گیری و بحث

در این مطالعه، از اطلاعات هاپلوتیپی *Bgl*II-*Eco*RI در ژن *PAH* برای بررسی اثر انتخاب بر روی این ژن در جمعیت اصفهان استفاده گردید. اگر چه هر دو این چندشکلی‌ها درناحیه غیرکدکننده ژن *PAH* قرار دارند و به نظر می‌رسد که تئوری خنثی در مورد آن‌ها صدق می کند، ولی تخمین مقدار D تاجیما و Fu's Fs نشان می‌دهد که این چندشکلی‌ها در جمعیت اصفهان از نظر انتخاب خنثی نیستند. مقدار مثبت هر دو آزمون بیانگر آن است که این چندشکلی‌ها در جمعیت اصفهان تحت تأثیر انتخاب متعادل قرار دارند یا به تازگی تحت تأثیر مانع جمعیتی قرار گرفته‌اند.

موانع جمعیتی، فرآیندهای تکاملی هستند که مانع تولیدمثل درصد بالایی از جمعیت می گردند. موانع جمعیتی می‌تواند باعث افزایش درون‌زادآوری یا اثر بنیانگذار گردد (Pasternak, 2005) که معمولا باعث کاهش هتروزیگوسیتی می گردند. در جمعیت مورد مطالعه، هتروزیگوسیتی مشاهده شده چندشکلی *Bgl*II تقریبا با هموزیگوسیتی مشاهده شده برابر است و هیچ کاهشی در هتروزیگوسیتی نسبت به هموزیگوسیتی مشاهده نمی‌شود. در مورد چندشکلی *Eco*RI، هتروزیگوسیتی در جمعیت اصفهان فراوانی بالاتری نسبت به هموزیگوسیتی دارد، بنابراین، به نظر نمی‌رسد که مانع جمعیتی نقش مهمی را در مثبت بودن مقدار آزمون D تاجیما و Fu's Fs در جمعیت اصفهان داشته باشد.

انتخاب متعادل مربوط به فرآیندهای انتخابی است که چندین آلل مختلف یک ژن در استخر ژنی یک جمعیت در فراوانی بالا حفظ می گردد. در این شرایط، معمولا هتروزیگوت‌ها سازگاری زیستی و تولید مثلی بالاتری نسبت به هموزیگوت‌ها را دارا هستند (Schneider *et al.*, 2000) همانطور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود، هتروزیگوسیتی مشاهده شده چندشکلی *Eco*RI در ژن *PAH* در جمعیت اصفهان بسیار بالاتر از هتروزیگوسیتی مورد انتظار این مارکر است که شاهدی بر انتخاب متعادل بر روی چندشکلی *Eco*RI در ژن *PAH* در جمعیت اصفهان است. با وجود اینکه چندشکلی *Eco*RI در اینترون ۵ ژن *PAH* (ناحیه غیرکدکننده) قرار دارد، ولی به نظر می‌رسد که افراد هتروزیگوت در چندشکلی *Eco*RI سازگاری زیستی بالاتری نسبت به افراد هموزیگوت دارند. در واقع، نتایج حاصل از آزمون‌های Neutrality به همراه مقایسه نتایج حاصل از تخمین هتروزیگوسیتی مورد انتظار و هتروزیگوسیتی مشاهده شده، مؤید آن است که چندشکلی *Eco*RI در جمعیت اصفهان تحت تأثیر انتخاب متعادل قرار دارد.

آزمون دیگری که به طور گسترده در ژنتیک جمعیت به منظور تخمین اثر انتخاب بر روی یک ژن به کار برده می‌شود، آزمون E-W است. در این آزمون، مجموع هموزیگوسیتی مشاهده شده برای هر هاپلوتیپ در یک لوکوس (F_o) با مجموع هموزیگوسیتی مورد انتظار برای هر هاپلوتیپ در یک لوکوس (F_e) مقایسه می گردد. در صورتی که ژنی تحت تأثیر انتخاب خنثی، تکامل یابد، مقدار F_o با F_e برابر خواهد بود. مقدار F_o و F_e برای هاپلوتیپ *Bgl*II-*Eco*RI در ژن *PAH* در جمعیت اصفهان برابر با ۰/۳۵ و ۰/۵۹ تخمین زده شد. از آن جهت که مقدار F_e هاپلوتیپ *Bgl*II-*Eco*RI در ژن *PAH* در جمعیت اصفهان بزرگتر از مقدار F_o است، بنابراین، می توان نتیجه‌گیری کرد که این هاپلوتیپ در ژن *PAH* در جمعیت اصفهان تحت تأثیر انتخاب متعادل قرار دارد.

Archive of SID

www.SID.ir

اگر چه نتایج مطالعه حاضر بر روی چندشکلی‌های *Bgl*II و *Eco*RI در ژن *PAH* می‌تواند درک ما را از تاریخچه تکاملی و ساختار ژنتیکی جمعیت اصفهان افزایش دهد، البته لازم است تا مطالعات بیشتری بر روی ژن‌های مختلف در جمعیت اصفهان انجام شود تا بصیرت ما در مورد ساختار ژنتیکی جمعیت اصفهان، که یکی از بزرگترین جمعیت‌های ایران است، افزایش یابد.

منابع

Akey, J. M., Eberle, M. A., Rieder, M. J., Carlson, C. S., Shriver, M. D., Nickerson, D. A and Kruglyak, L. (2004) Population history and natural selection shape patterns of genetic variation in 132 genes. PLoS Bioogyl 2: 286.

Bersaglieri, T., Sabeti, P. C., Patterson, N., Vanderploeg, T., Schaffner, S. F., Drake, J. A., Rhodes, M., Reich, D. E. and Hirschhorn, J. N. (2004) Genetic signatures of strong recent positive selection at the lactase gene. The American Journal of Human Genetics 74: 1111-1120.

Carlson, C. S., Thomas, D. J., Eberle, M. A., Swanson, J. E., Livingston, R. J., Rieder, M. J. and Nickerson, D. A (2005) Genomic regions exhibiting positive selection identified from dense genotype data. Genome Research 15: 1553-1565.

Dworniczak, B., Wedemeyer, N. and Horst, J. (1991) PCR detection of the *Bgl*II RFLP at the human phenylalanine hydroxylase (*PAH*) locus. Nucleic Acids Research 19; 1958.

Fazeli Zahra and Vallian Sadeq (2009) Estimation Haplotype Frequency of *Bgl*II/*Eco*RI/VNTR Markers at the *PAH* Gene Region in Iranian Population. International Journal of Human Genetics 9(2):115-121.

Hamblin, M. T. and Di Rienzo, A. (2000) Detection of the signature of natural selection in humans: Evidence from the Duffy blood group locus. The American Journal of Human Genetics 66: 1669-1679.

Hamblin, M. T., Thompson, E. E. and Di Rienzo, A. (2002) Complex signatures of natural selection at the Duffy blood group locus. The American Journal of Human Genetics 70: 369-383.

Hughes, A. L. and Yeager, M. (1998) Natural selection and the evolutionary history of major histocompatibility complex loci. Frontiers in Bioscience. 3: d509-d516.

Kidd, K. K. 2002. PAH *Eco*RI Polymorphism. Available: http://info.med.yale.edu/genetics/kkidd/PAH_EcoRI.html.

Kwok, S. C. M., Ledley, F. D., DiLella, A. G., Robson, K. J. H and Woo, S. L. C. (1985) Nucleotide sequence of a full-length complementary DNA clone and amino acid sequence of human phenylalanine hydroxylase. Biochemistry 24: 556- 561.

Libert, F., Cochaux, P., Beckman, G., Samson, M., Aksenova, M., Cao, A., Czeizel, A., Claustres, M., de la Rua, C., Ferrari, M., Ferrec C., Glover G., Grinde B., Guran S., Kucinskas V., Lavinha J., Mercier B., Ogur G., Peltonen L., Rosatelli C., Schwartz M., Spitsyn V., Timar L., Beckman L. and Vassart G. (1998) The deltaccr5 mutation conferring protection against HIV-1 in Caucasian populations has a single and recent origin in Northeastern Europe. Human Molecular Genetics 7: 399–406.

Madden, M. (2004) Phenylketonuria: Defects in amino acid metabolism. South Carolina Journal of Molecular Medicine 5: 57-61.

Miller S. A., Dykes D. D. and Polesky H. F. (1988) A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic Acids Research 16: 1215.

Pasternak, J. J. (2005) An introduction to human molecular genetics, mechanisms of inherited diseases. 2nd Ed. John Wiley & Sons, Inc.

Schneider, S., Roesli, D. and Excofier, Y. L. (2000) Arlequin: A software for population genetics data analysis, version 2.000. Genetics and Biometry Laboratory. University of Geneva, Switzerland.

Archive of SID

www.SID.ir

Seltsam, A., Hallensleben, M., Kollmann, A. and Blasczyk, R. (2003) The nature of diversity and diversification at the ABO locus. Blood 102: 3035-3042.
Stajich, J. E. and Hahn, M. W. (2005) Disentangling the effects of demography and selection in human history. Molecular Biology and Evolution 22: 63-73.
Tajima, F. (1989) Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. Genetics 123: 585-595.
Watterson, G. (1978) The homozygosity test of Neutrality. Genetics 88: 405-417.

Archive of SID

www.SID.ir