

The expression pattern of p32 gene in femur, humeral muscle, back muscle and back fat tissues of Kermani lambs

Zahra Arabpoor Raghabadi

*Corresponding Author: MSc Student, Animal Science Department, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran. Email: zahra.arabpoor.da@gmail.com

Mohammadreza Mohammadabadi 

Professor of Animal Science Department, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran. Email: mrm@uk.ac.ir

Amin Khezri 

Associate professor, Animal Science Department, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran. Email: akhezri@uk.ac.ir

Abstract

Objective

Studies have shown that p32 is highly expressed in metabolically active and rapidly growing tissues, such as muscles, breast tumors, epidermis, and ovaries. One of the basic measures in domestic animals is the study of genes and proteins related to economic traits and their study at the cellular or chromosomal level. The aim of this study was to investigate the expression pattern of p32 gene in femur, humeral muscle, back muscle and back fat tissues of Kermani lambs.

Materials and Methods

Samples of femur, humeral muscle, back muscle and back fat tissues of Kermani lambs were collected (12 samples from 3 animals and 3 replicates from each tissue). After rapid freezing, the samples were stored in a -80 freezer. Total RNA was extracted using a standard kit. The quality and quantity of the extracted RNA were evaluated by agarose gel electrophoresis and using a nanodrop device. For cDNA synthesis, parstous cDNA synthesis kit was used. Real time PCR reaction by Syber Green method was used to evaluate the relative expression of genes. To analyze the data obtained from real time PCR, the Pfaffl method was used.

Results

The quality of the extracted RNAs showed that the quality is appropriate and desirable. Observation of 18S and 28S bands in RNA indicated that it was intact and that no additional bands indicated its purity. Electrophoresis of PCR products on agarose gel and the results of real time PCR curves showed that the p32 gene was not expressed in femur, back muscle and back fat tissues of Kermani male lambs and was amplified only in the humeral muscle tissue of these animals. The observation of a single band in the range of 281 bp for the p32 gene in the humeral muscle tissue and the presence of a band in the range of 112 bp for the beta actin gene in all samples indicated the accuracy of the experiment and the amplification of the fragment.

Conclusion

Considering that in this study the expression of p32 gene in Kermani sheep at the age of 11 months was studied and the expression of this gene has been reported more in the embryonic period, so no expression of this gene was observed in femur, back muscle and back fat and its low expression in the humeral muscle tissue confirms the results of previous studies. Low expression of this gene in the humeral muscle tissue may indicate that the muscle is still growing at this age or that the tissue may be cancerous, as this gene is more expressed in tissues that are growing rapidly or are involved in cancer.

Keywords: Expression pattern, p32 gene, Tissue, Kermani sheep.

Paper Type: Research Paper.

Citation: Arabpoor Raghavadi Z, Mohammadabadi MR, Khezri A (2021) The expression pattern of p32 gene in femur, humeral muscle, back muscle and back fat tissues of Kermani lambs. *Agricultural Biotechnology Journal* 13 (4), 183-200.

Agricultural Biotechnology Journal 13 (4), 183-200.

DOI: 10.22103/jab.2022.18782.1371

Received: November 06, 2021.

Accepted: December 04, 2021.

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




© the authors


الگوی بیانی ژن p32 در بافت‌های ران، دست، راسته و چربی پشت بره کرمانی

زهرا عرب پور رق آبادی

*نویسنده مسئول: دانشجوی کارشناسی ارشد بخش علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، ایران. تلفن: zahra.arabpoor.da@gmail.com، ایمیل: ۰۹۱۳۳۸۴۰۷۹۹۲

محمد رضا محمدآبادی 

استاد بخش علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، ایران. تلفن: ۰۹۱۳۳۹۸۷۵۳۴، ایمیل: mrm@uk.ac.ir

امین خضری 

دانشیار، بخش علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، ایران. تلفن: ۰۹۱۳۳۹۸۷۵۳۴، ایمیل: akhezri@uk.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۹/۱۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۸/۱۵

چکیده

هدف: مطالعات نشان داده‌اند که p32 در بافت‌های فعال متابولیکی و به سرعت در حال رشد، مانند ماهیچه‌ها، تومورهای سینه، اپیدرم و تخمدان به شدت بیان می‌شود. یکی از اقدامات اساسی در حیوانات اهلی مطالعه ژن‌ها و پروتئین‌های مرتبط با صفات اقتصادی و مطالعه آنها در سطح سلولی یا کروموزومی است. هدف این مطالعه، بررسی الگوی بیانی ژن p32 در بافت‌های ران، دست، راسته و چربی پشت کمر بره کرمانی بود.

مواد و روش‌ها: نمونه‌برداری از بافت‌های ران، دست، راسته و چربی پشت کمر بره‌های نر کرمانی (۱۲ نمونه از ۳ حیوان و از هر بافت ۳ تکرار) انجام شد. پس از انجماد سریع نمونه‌ها در داخل فریزر ۸۰- نگهداری شدند. RNA کل با استفاده از کیت استاندارد استخراج شد. کیفیت و کمیت RNA استخراج شده با روش الکتروفورز روی ژل آگارز و با استفاده از دستگاه نانودراپ مورد ارزیابی قرار گرفت. برای سنتز cDNA از کیت سنتز cDNA شرکت parstous استفاده شد. برای بررسی میزان نسبی بیان ژن‌ها از واکنش real time PCR به روش Syber Green استفاده شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از real time PCR از روش Pfaffl et al. استفاده شد.

نتایج: بررسی کیفیت RNAهای استخراج شده نشان داد که کیفیت مناسب و مطلوب است. مشاهده دو باند 18S و 28S در RNA نشان دهنده سالم بودن آن و عدم وجود باند اضافی نشان دهنده خلوص آن بود. الکتروفورز محصولات PCR روی ژل آگارز

و نتایج منحنی‌های real time PCR نشان داد که ژن p32 در بافت‌های ران، راسته و چربی پشت کمر بره‌های نر کرمانی بیان نشده است و فقط در بافت دست این حیوانات تکثیر شده است. مشاهده تک باند در محدوده ۲۸۱bp برای ژن p32 در بافت دست و وجود باند در محدوده ۱۱۲bp برای ژن بتا‌کتین در همه نمونه‌ها، بیانگر صحت انجام آزمایش و تکثیر قطعه مورد نظر بود.

نتیجه‌گیری: با توجه به این که در این مطالعه بیان ژن p32 در گوسفند کرمانی در سن ۱۱ ماهگی مطالعه شد و بیان این ژن بیشتر در دوران جنینی گزارش شده است، لذا عدم مشاهده بیان این ژن در بافت‌های ران، راسته و چربی پشت و بیان پایین آن در بافت دست تایید کننده نتایج مطالعات قبلی است. بیان کم این ژن در عضله دست می‌تواند حاکی از این باشد که این عضله هنوز در این سن دارای رشد است و یا ممکن است این بافت سرطانی شده باشد، چرا که این ژن بیشتر در بافت‌هایی بیان می‌شود که در حال رشد سریع هستند و یا درگیر سرطان هستند.

کلیدواژه‌ها: الگوی بیانی، بافت، ژن p32، گوسفند کرمانی

نوع مقاله: پژوهشی.

استناد: 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.

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



© the authors

مقدمه

با توجه به شرایط اجتماعی و اقتصادی مناطق گرم، خشک و بیابانی، امرار معاش بخش بزرگی از جمعیت این مناطق توسط نژادهای بومی نشخوارکنندگان کوچک به ویژه گوسفند تامین می‌شود (Amiri Roudbar et al. 2017). بنابراین، تلاش برای بهبود تولید این حیوانات از طریق بهبود کمی و کیفی و بهبود رشد ژنتیکی بسیار مهم است (Mohammadifar and Mohammadabadi 2011; Amiri Roudbar et al. 2018). این بهبود عملکرد در گله‌های گوسفند معمولاً از طریق بهبود عملکرد و تولید مثل حاصل می‌شود (Mohammadabadi et al. 2018). حدود بیست و هفت نژاد و اکوتیپ گوسفند در ایران وجود دارد که در مجموع بیش از ۵۰ میلیون رأس دارند (Mohammadabadi 2016; Ghotbaldini et al. 2019). یکی از مهم‌ترین و معروف‌ترین گوسفندان ایرانی، گوسفند کرمانی است (Jafari Darehdor et al. 2016; Mohammadabadi et al. 2017) این جانور کاملاً با شرایط گرم، خشک و نامساعد منطقه جنوب شرقی ایران که زیستگاه اصلی آن است و دارای پوشش

گیاهی و مرتعی ضعیف و ناپایدار است، سازگاری دارد (Vajed Ebrahimi et al. 2016; Masoudzadeh et al. 2020a). این گوسفند از نژاد دو منظوره (گوشتی و پشمی) و دم چاق است که دارای پشم سفید و جثه متوسط است و بیشترین نیازهای زندگی عشایر و دامداران را تامین می کند (Masoudzadeh et al. 2020b). بنابراین توجه به پرورش این گوسفند برای توسعه و بهبود صفات فنوتیپی و ژنتیکی آن اثرات مثبتی بر نیازهای این نژاد خواهد داشت (Shahsavari et al. 2021). در پژوهش‌های گونه‌های اهلی شناسایی ژن‌های موثر بر صفات تولیدی مهم یکی از حوزه‌های ضروری است (Pasandideh et al. 2016). مطالعات بررسی‌های به عمل آمده در اواخر دهه ۸۰ میلادی روشن نمود که مکانیسم‌های مولکولی در زمره مهم‌ترین فرایندهای ژنتیکی (مشمتمل بر همانندسازی DNA، رونویسی، ترجمه و حتی نحوه تنظیم ژن‌ها) هستند (Mohammadabadi et al. 2021). ماده ژنتیکی^۱ یک سلول از تعداد زیادی ژن تشکیل شده است که هیچ‌گاه همه به طور همزمان بیان نمی‌شوند و در هر لحظه فقط تعداد کمی از آنها بیان شده و پروتئین یا آنزیم مورد نیاز سلول را تولید می‌نمایند (Mohammadabadi 2020). محیطی که موجود در آن رشد می‌کند مشخص می‌کند که آیا ژن بیان شود و یا این که نیازی به فرآورده آن نیست و باید غیرفعال و یا خاموش شود. ساز و کار بیان ژن اولین بار در باکتری *E. coli* کشف شد. ژن‌های یوکاریوتی بیان‌شان تحت کنترل موقت و چندبعدی است. تنها یک مجموعه نسبتاً کوچک از تمام ژنوم در هر یک از انواع بافت‌ها تنها یک مجموعه نسبتاً کوچک از تمام ژنوم در هر یک از انواع بافت‌ها نسبتاً کوچک از تمام ژنوم بیان می‌شود و نیز بیان ژن‌ها به مرحله نمو بستگی دارد. بنابراین، بیان ژن در یوکاریوت‌ها برای هر بافت اختصاصی است. همچنین مقدار محصولات ژن که در همان بافت و نیز در سایر بافت‌هایی که آن محصول را می‌سازند، ساخته شده سبب تنظیم بیان آن ژن می‌شود (Tohidi nezhad et al. 2015). یکی از اقدامات اساسی در حیوانات اهلی مطالعه ژن‌ها و پروتئین‌های مرتبط با صفات اقتصادی و مطالعه آنها در سطح سلولی یا کروموزومی است (Mohammadabadi and Soflaei 2020).

ماهچه‌های 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 حیوان 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 یا حدود ۱۰۰ روز از بارداری اتفاق می‌افتد و سپس میوفیبرها رشد می‌کنند تا با هم ترکیب شوند و هیپرتروفی را تجربه کنند

¹ DNA

(Ren et al. 2011). در پژوهشی Ren et al. (2017) با بررسی داده‌های RNA-seq نشان دادند که بیان p32 در عضله longissimus گوسفند در دوران جنینی به طور قابل توجهی بیشتر از عضله گوسفند پس از تولد است و نتیجه گرفتند p32 ممکن است نقش مهمی در رشد عضلات اسکلتی گوسفند ایفا کند.

پروتئین C باند شونده به مکمل 1q یا C1QBP^۱ که همچنین به نام p32 نام نهاده‌اند، پروتئین اتصال دهنده هیالورونیک اسید^۲ (HABP1) و گیرنده دامین سر کروی مکمل C1q (gC1qR) پروتئین‌های حفاظت شده‌ای هستند که عمدتاً در ماتریکس میتوکندری قرار دارند (Dedio et al. 1998; Matos et al. 2014) و همچنین در سایر بخش‌های درون سلولی از جمله هسته، شبکه آندوپلاسمی، دستگاه گلژی و سطح سلول نیز بیان می‌شوند (Mengjie et al. 2013). برخی مطالعات نشان داده‌اند که p32 در بافت‌های فعال متابولیکی و به سرعت در حال رشد، مانند تومورهای سینه، اپیدرم و تخمدان به شدت بیان می‌شود (Valentina et al. 2008; Chen et al. 2010; Nguyen et al. 2011; Yu et al. 2013; Zhang et al. 2013). پروتئین p32 نقش مهمی در حفظ فسفوریلاسیون اکسیداتیو^۳ (OXPHOS) دارد (Muta et al. 1997). از بین رفتن p32 در سلول‌های سرطانی انسان به شدت سطح و فعالیت آنزیم OXPHOS را تحت تأثیر قرار می‌دهد و متابولیسم آنها را از OXPHOS به گلیکولیز تغییر می‌دهد. علاوه بر این، p32 نقش مهمی در تکثیر سلولی، چسبندگی، مهاجرت و تهاجم دارد (Xiaodong et al. 2002; Nguyen et al. 2011; Valentina et al. 2015). بیان p32 در جفت در دوران قبل از بارداری به طور قابل توجهی بیشتر از آن در اواخر بارداری است و بیان آن در تروفوبلاست در مورد محدودیت رشد جنین در زنان به طور قابل توجهی کاهش می‌یابد (Matos et al. 2014). موش‌های دارای کمبود p32 نقایص رشد جنینی شدیدی را نشان می‌دهند و ناک‌داون کردن p32 در سلول‌های فیبروبلاست جنین موش (MEF) به طور قابل توجهی تولید ATP را کاهش می‌دهد و تکثیر سلولی را به تاخیر می‌اندازد (Mikako et al. 2012). نوزادان با جهش‌های C1QBP دو آلی با کاردیومیوپاتی همراه با درگیری چند سیستمی (کبد، کلیه و مغز)، و کودکان و بزرگسالان با میوپاتی مشاهده شدند. همه آنها با کمبودهای چندگانه OXPHOS ظاهر می‌شوند (Saito et al. 2017). پروتئین کیناز فعال شده با AMP (AMPK) به طور قابل توجهی در قلب موش‌های دارای کمبود p32 در مقایسه با گروه کنترل فسفریله می‌شود (Hardie 2007). AMPK یک سنسور بسیار حفاظت شده وضعیت انرژی سلولی است که می‌تواند تحت شرایط ATP داخل سلولی پایین فعال شود (Song et al. 2014) و در رشد سلولی، تکثیر، آپوپتوز، اتوفژی و سایر فرآیندهای بیولوژیکی اساسی نقش دارد (Shaw et al. 2004). کیناز B1 کبدی (LKB1) کیناز فعال کننده بالادست AMPK پاسخگو به استرس است و به عنوان یک نقطه بازرسی کم انرژی در سلول‌ها عمل می‌کند (Gwinn et al.

¹ complement 1q binding protein C

² hyaluronic acid binding protein 1

³ oxidative phosphorylation

2008). علاوه بر این، AMPK با سرکوب رشد سلولی، تا حدی از طریق مهار مسیر mTOR (mTORC1) حساس به راپامایسین^۱ به استرس انرژی پاسخ می دهد (Rion et al. 2019). در واقع، mTORC1 یک تنظیم کننده مهم در طول میوزن جنینی و بالغ است، و کمبود mTORC1 در سلول های بنیادی عضلانی باعث بازسازی عضلانی ناشی از آسیب می شود (Chargé and Rudnicki 2004). در بافت هایی که به سرعت در حال رشد هستند، مانند ماهیچه های اسکلتی جنین گوسفند، p32 به شدت بیان می شود. با این حال، اثرات p32 بر رشد ماهیچه گوسفند و اینکه آیا مسیر سیگنال دهی AMPK را فعال می کند یا خیر ناشناخته باقی مانده است. لذا هدف این مطالعه بررسی بیان ژن p32 در بافت های مختلف گوسفند کرمانی با استفاده از real time PCR بود.

مواد و روش ها

نمونه برداری از بافت های ران، دست، راسته و چربی پشت کمر بره های نر کرمانی (۱۲ نمونه از ۳ حیوان و از هر بافت ۳ تکرار) در هنگام کشتار انجام شد. بلافاصله پس از کشتار دام قطعات کوچکی از اندام های مورد نیاز توسط تیغ استریل جدا گردید و در داخل میکروتیوب های ۱/۵ میلی لیتری قرار داده شدند. سپس هر چند عدد از میکروتیوب ها در داخل یک فویل آلومینیومی قرار داده شد و سریعاً در داخل تانک ازت گذاشته شدند. پس از انجماد سریع نمونه ها در داخل فریزر ۸۰- نگهداری شدند. استخراج RNA بایستی در محیط عاری از RNase^۲ انجام شود. قبل از انجام استخراج RNA تمامی وسایل توسط آب DEPC^۳ (سیناژن، MR8244) از RNase عاری^۴ شدند. RNA کل با استفاده از کیت استخراج (شرکت دنایست) استخراج شد. کیفیت و کمیت RNA استخراج شده با روش الکتروفورز روی ژل آگارز و با استفاده از دستگاه نانودراپ مورد ارزیابی قرار گرفت. RNA استخراج شده تا انجام مراحل بعدی آزمایش به فریزر با دمای ۸۰- درجه سانتی گراد منتقل شد.

برای سنتز cDNA از کیت سنتز cDNA شرکت parstous استفاده شد. برای این منظور مقدار ۱۰ μg از RNA کل استفاده شد. ممکن است حین استخراج مقادیر متفاوتی RNA از هر بافت به دست آید، لذا جهت یکسان کردن RNA به کار رفته در ساخت cDNA، از مقدار ۱ میکروگرم از RNA استفاده شد. برای انجام واکنش های RT-PCR باید نمونه RNA عاری از آلودگی به DNA باشد، به این منظور RNA با استفاده از DNaseI تیمار شد. محصول واکنش نسخه برداری معکوس در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد. آغازگرها (جدول ۱) توسط شرکت تکاپوزیست (ایران) ساخته شدند (Ma et al., 2019).

¹ rapamycin-sensitive mTOR

² RNase-free environment

³ Di Etyhyl Pyro Carbonate water

⁴ RNase-free

جدول ۱. توالی آغازگرهای استفاده شده برای بیان ژن p32 و بتاکتین در بافت‌های مختلف بره‌های نژاد کرمانی

Table 1. Primer sequence used for p32 and beta actin genes expression in different tissues of Kermani lambs

طول قطعه تکثیر شده Amplicon size (bp)	توالی آغازگر Primer sequence	نام ژن Gene name
281	5'- GCTGTAGCGGACTGCACACC -3'	آغاز گر رفت Sense Primer
	5'- CAATTCAGGCTCCTGCTCCTCAG -3'	آغازگر برگشت Antisense Primer
112	5' GCACCACACCTTCTACAAC -3'	آغاز گر رفت Sense Primer
	5'- CATGATCTGGGTCATCTTCTC -3'	آغازگر برگشت Antisense Primer

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

جدول ۲. اجزای کیت استفاده شده برای انجام real time PCR

Table 2. Kit components used for real time PCR

Material	ماده	Amount (μ L)	مقدار مورد استفاده (μ L)
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. برنامه حرارتی real time PCR برای ژن بتاکتین

Table 3. Real time PCR thermal program for beta-actin gene

time	درجه حرارت (°C)	مرحله step
زمان	(°C) temperature	
12 min	94	Primary denaturation واسرشت سازی اولیه
1 min	94	Denaturation واسرشت سازی هر چرخه
50 S	57	Annealing اتصال پرایمر به توالی هدف
40 S	72	Extension بسط و ساخت رشته جدید
90 S	72	Final Extension تکثیر نهایی

برای تجزیه و تحلیل داده های حاصل از real time PCR از روش Pfaffl et al. (2002) استفاده شد. در این روش برای بررسی درصد بازده واکنش PCR ابتدا نمودار استاندارد برای ژن های p32 و بتاکتین ترسیم شد. برای ترسیم نمودار استاندارد غلظت های مختلف cDNA (۱، ۰/۱، ۰/۰۱، ۰/۰۰۱) برای PCR استفاده شد و بازده واکنش PCR برای ژن های p32 و بتاکتین به ترتیب ۹۸ و ۹۹ درصد برآورد شد. در ادامه روی نمونه های تیمار شده و نرمال واکنش های PCR انجام شد و نتایج حاصله برای بررسی میزان نسبی تکثیر بیان با فرمول Pfaffl et al. (2002) محاسبه گردید.

$$\text{ratio} = \frac{(E_{\text{target}})^{\Delta\text{CT}_{\text{target}}(\text{control}-\text{sample})}}{(E_{\text{ref}})^{\Delta\text{CT}_{\text{ref}}(\text{control}-\text{sample})}}$$

در این رابطه E_{target} و E_{ref} به ترتیب بازدهی PCR ژن مورد مطالعه و ژن مرجع یا کنترل داخلی می باشند. ΔCt حاصل تفریق Ct^1 (حد آستانه) ژن p32 از Ct ژن بتاکتین می باشد.

نتایج و بحث

بررسی کیفیت RNA های استخراج شده در طول موج A260/A280 (۱/۹-۱/۸) نشان داد که کیفیت مناسب و مطلوب است. مشاهده دو باند 18S و 28S در RNA نشان دهنده سالم بودن آن و عدم وجود باند اضافی نشان دهنده خلوص آن بود (شکل ۱).

1 Threshold cycle

جدول ۴. برنامه حرارتی real time PCR برای ژن p32

Table 4. Real time PCR thermal program for p32 gene

time	زمان	درجه حرارت (°C)	مرحله step
		(°C) temperature	
12 min		94	Primary denaturation واسرشت سازی اولیه
10 S		98	Denaturation واسرشت سازی هر چرخه
45 S		60	Annealing اتصال پرایمر به توالی هدف
45 S		72	Extension بسط و ساخت رشته جدید
300 S		72	Final Extension تکثیر نهایی

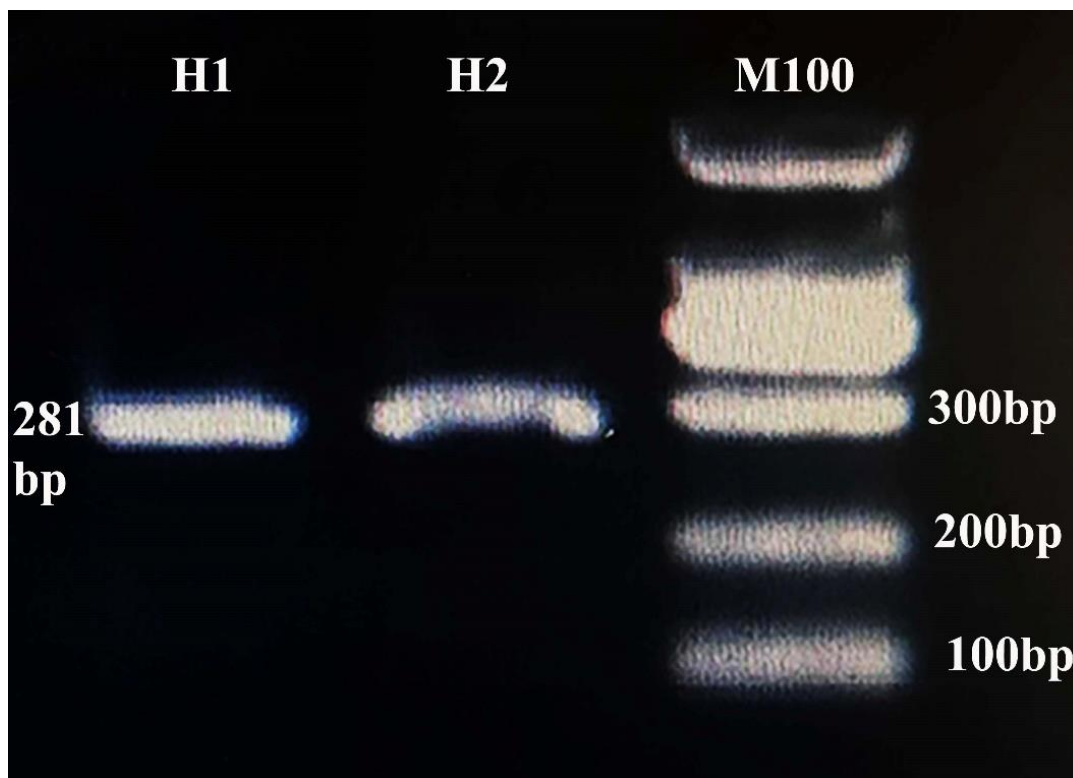


شکل ۱. سه نمونه از RNA استخراج شده از سه بافت بره کرمانی روی ژل آگارز

Figure 1. Three samples of extracted RNA from three tissues of Kermani lambs on agarose gel

الکتروفورز محصولات PCR روی ژل آگارز (۲ درصد) و نتایج منحنی‌های real time PCR نشان داد که ژن p32 در بافت‌های ران، راسته و چربی پشت کمر بره‌های کرمانی بیان نشده است و فقط در بافت دست این حیوانات تکثیر شده است. مشاهده تک باند در محدوده ۲۸۱bp برای ژن p32 در بافت دست (شکل ۲) و وجود باند در محدوده ۱۱۲bp برای ژن بتا‌کتینین (شکل ۳) در همه نمونه‌ها، بیانگر صحت انجام آزمایش و تکثیر قطعه مورد نظر بود. دستگاه real time PCR طی انجام واکنش

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 p32 و بتاکتین، اختصاصی بودن و دمای Tm محصول (دمایی است که در آن نیمی از محصول از حالت دو رشته‌ای خارج شده است) واکنش real time PCR این دو ژن را نشان می‌دهد. در پژوهش حاضر بیان ژن p32 در چهار بافت مختلف گوسفند کرمانی با استفاده از روش PCR در زمان واقعی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که این ژن در بافت دست این حیوانات که بالغ هستند بیان می‌شود و در بافت‌های ران، راسته و چربی پشت گوسفندان بالغ بیان نمی‌شود.

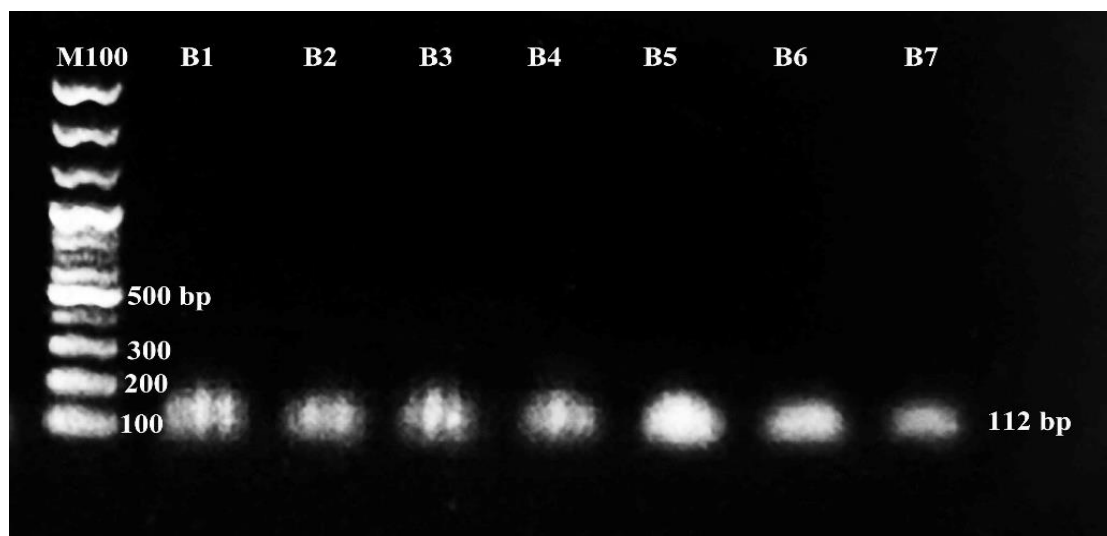


شکل ۲. الکتروفورز محصول تکثیر ژن p32 در بافت ماهیچه دست بره کرمانی روی ژل آگارز. H1 و H2 دو نمونه دست و M100 نشانگر اندازه

Figure 2. Electrophoresis of amplified products for p32 gene in humeral muscle of Kermani lambs on agarose gel. H1 and H2 are 2 samples of humeral muscle and M100 is size marker

عضله اسکلتی به عنوان بزرگترین اندام بدن، نه تنها از سیستم حرکتی پستانداران محافظت می‌کند، بلکه مکانی را برای اکسیداسیون گلوکز بافت‌های اطراف فراهم می‌کند (Parker et al. 2003). رشد طبیعی ماهیچه‌های اسکلتی پیش نیاز حیوانات

برای حفظ فعالیت‌های طبیعی زندگی و متابولیسم است. هر گونه رشد غیر طبیعی منجر به بیماری‌هایی مانند دیسپلازی عضلانی، آتروفی عضلانی و هیپرتروفی عضلانی می‌شود (Ren et al. 2011). رشد و تکامل عضله اسکلتی یک فرآیند فیزیولوژیکی پیچیده است که می‌توان آن را به چهار مرحله تقسیم کرد که شامل تشکیل و تکثیر میوبلاست‌ها، تشکیل میوتوب‌ها و فیبرهای عضلانی و فرآیند بلوغ نهایی می‌شود (Zhao et al. 2011; Xu et al. 2012). رشد ماهیچه‌های اسکلتی از تنظیم دقیق بسیاری از فاکتورها غیرقابل تفکیک است. بسیاری از این فاکتورها با ژن‌های دخیل در تکثیر سلولی، تمایز، بازسازی، مهاجرت و آپوپتوز تعامل می‌کنند تا یک شبکه تنظیمی پیچیده و دقیق را برای حفظ رشد طبیعی ماهیچه‌های اسکلتی تشکیل دهند (Fahey et al. 2005; Song et al. 2014).



شکل ۳. الکتروفورز محصول تکثیر ژن بتا اکتین در بافت‌های ران، دست، راسته و چربی پشت کمر بره کرمانی

روی ژل آگارز. B1 تا B7 نمونه‌های بافت‌های ران، دست، راسته و چربی پشت کمر و M100 نشانگر اندازه

Figure 3. Electrophoresis of amplified products for beta actin gene in femur, humeral muscle, back muscle and back fat of Kermani lambs on agarose gel. B1-B7 are samples of femur, humeral muscle, back muscle and back fat and M100 is size marker

شواهد بسیار زیادی نقش مهم p32 را در بافت‌های فعال متابولیکی و به سرعت در حال رشد، مانند جفت و تومورهای مختلف نشان داده‌اند (Valentina et al. 2008; Chen et al. 2010; Nguyen et al. 2011; Matos et al. 2014). همچنین در ماهیچه‌های اسکلتی جنین گوسفند به شدت بیان می‌شود (Ren et al. 2017). دوره جنینی یک دوره کلیدی از رشد ماهیچه‌های اسکلتی است، زیرا تکثیر میوسیت‌ها و تشکیل فیبرهای عضلانی بیشتر در دوره جنینی کامل می‌شود (Edmondson et al. 1994; Fahey et al. 2005; Ren et al. 2011). هیپرپلازی فیبر عضلانی اسکلتی در طول بارداری کامل می‌شود و

در بدو تولد ثابت می‌شود (Peterson et al. 1997). با این حال، تحقیقات کمی در مورد عملکرد p32 در رشد عضلات گوسفند انجام شده است. در مطالعه‌ای، Ma et al. (2019) بیان p32 را در ماهیچه اسکلتی گوسفند Hu در دوره‌های رشد مختلف در داخل بدن و بیان p32 را در طی تغییر میوبلاست در شرایط آزمایشگاهی بررسی کردند. آنها دریافتند که از بین رفتن p32 در میوبلاست گوسفند می‌تواند تمایز و تکثیر را مهار کند و در نتیجه باعث آپوپتوز شود. همچنین آنها دریافتند که از بین رفتن p32 در میوبلاست‌ها می‌تواند سطح ATP سلولی را کاهش دهد و مسیر سیگنالینگ پروتئین کیناز فعال شده با AMP (AMPK) را فعال کند. در این مطالعه آنها توالی کدکننده p32 را از عضله longissimus گوسفند Hu شبیه‌سازی کردند. نتایج آنها نشان داد که توالی کدکننده p32 متشکل از ۸۳۷ جفت باز بود که ۲۷۸ اسید آمینه را کد می‌کنند. توالی کدکننده p32 به ترتیب ۲۷۸، ۲۷۹ و ۲۸۲ اسید آمینه را در گاو، موش و انسان کد می‌کند (Byrne et al. 2010; Liu et al. 2017). توالی اسید آمینه p32 گوسفند دارای همسانی بالایی با p32 در گاو (۹۶/۸۲٪) است و همچنین با موش (۸۱/۶۳٪) و انسان (۸۴/۸۱٪) همولوگ است. این نتایج ثابت می‌کند که پروتئین p32 بسیار حفاظت شده است و عملکرد آن ممکن است در میان گونه‌های مختلف، مانند تومورهای انسانی و جفت موش مشابه باشد (Matos et al. 2014). نتایج بررسی mRNA ژن p32 و بیان پروتئین در عضله longissimus گوسفند Hu نتایج مطالعات قبلی را تایید کرد (Ren et al. 2017). علاوه بر این، بیان p32 در عضله چهار سر ران گوسفند در دوران جنینی نیز بیشتر از سایر مراحل رشد است. یکی از خصوصیات عضله اسکلتی گوسفند در دوران جنینی رشد سریع است (Fogal et al. 2010) که عمدتاً مبتنی بر تکثیر سریع و تمایز میوبلاست‌ها است (Edmondson et al. 1994). علاوه بر این، p32 برای بافت‌هایی که به سرعت رشد می‌کنند لازم است (Valentina et al. 2008; Chen et al. 2010; Nguyen et al. 2013; Zhang et al. 2013; Yu et al. 2013). از این رو، می‌توان حدس زد که p32 نقش کلیدی در رشد ماهیچه‌های اسکلتی در گوسفند در دوران جنینی ایفا می‌کند. برای درک نقش p32 در رشد عضله، Ma et al. (2019) مایوبلاست گوسفند را جدا کردند و نشان دادند که p32 عمدتاً در سیتوپلاسم توسط ایمونوفلورسانس بیان می‌شود، که با نتایج در فیبروبلاست‌های جنین موش (Mikako et al. 2012)، سلول‌های MDA-MB-231 (لاین سلولی سلول‌های پوششی سرطان سینه انسان) و سایر سلول‌های سرطانی مطابقت دارد (Naya 1999; Yu et al. 2013). برای تجزیه و تحلیل بیشتر و تمرکز روی p32 در میوبلاست‌ها، Ma et al. (2019) بیان پروتئین p32 را در میتوکندری و سایر اندامک‌های سلولی اندازه‌گیری کردند. نتایج آن‌ها نشان داد که p32 عمدتاً در میتوکندری وجود دارد، اما در سایر اندامک‌ها نیز بیان می‌شود. محل قرارگیری p32 در میوبلاست‌ها مشابه سلول‌های سرطانی است (Dedio et al. 1998; Mengjie et al. 2013).

نتیجه‌گیری: با توجه به این که در این مطالعه بیان ژن p32 در گوسفند کرمانی در سن ۱۱ ماهگی مطالعه شد و بیان این ژن بیشتر در دوران جنینی گزارش شده است، لذا عدم مشاهده بیان این ژن در بافت‌های ران، راسته و چربی پشت و بیان پایین آن در بافت دست تایید کننده نتایج مطالعات قبلی است. بیان کم این ژن در عضله دست می‌تواند حاکی از این باشد که این عضله هنوز در این سن دارای رشد است و یا ممکن است این بافت سرطانی شده باشد، چرا که این ژن بیشتر در بافت‌هایی بیان می‌شود

که در حال رشد سریع هستند و یا درگیر سرطان هستند. به علاوه، از آنجا که رشد عضله بسیار پیچیده است و عوامل زیادی در تنظیم این فرآیند دخیل هستند، پیشنهاد می‌شود که بیان ژن p32 در گوسفند کرمانی در مراحل مختلف رشد و در ماهیچه‌های قسمت‌های مختلف بدن مطالعه شود. همچنین تفاوت در الگوی بیان p32 در شرایط *in vivo* و *in vitro* 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

- توحیدی نژاد فاطمه، محمدآبادی محمدرضا، اسمعیلی زاده کشکوئیه علی، نجمی نوری عذرا (۱۳۹۳). مقایسه سطوح مختلف بیان ژن *Rheb* در بافت‌های مختلف بز کرکی راینی. *مجله بیوتکنولوژی کشاورزی* ۶(۴)، ۳۵-۵۰.
- جعفری دره در امیر حسین، محمدآبادی محمدرضا، اسمعیلی زاده کشکوئیه علی، ریاحی مدوار علی (۱۳۹۵). بررسی بیان ژن *CIB4* در بافت‌های مختلف گوسفند کرمانی با استفاده از *real time qPCR*. *مجله پژوهش در نشخوارکنندگان* ۴(۴)، ۱۱۹-۱۳۲.
- محمدآبادی محمدرضا (۱۳۹۹). بیان ژن *ESR1* در بز کرکی راینی با استفاده از *real time PCR*. *مجله بیوتکنولوژی کشاورزی* ۱۲(۱)، ۱۷۷-۱۹۲.
- محمدآبادی محمدرضا، سفلائی محمد (۱۳۹۹). پروفایل بیانی *mRNA* مختص بافت ژن *BMP15* در بز. *مجله بیوتکنولوژی کشاورزی* ۱۲(۳)، ۱۹۱-۲۰۸.
- محمدآبادی محمدرضا، کرد محبوبه، نظری محمود (۱۳۹۷). مطالعه بیان ژن *لپتین* در بافت‌های مختلف گوسفند کرمانی با استفاده از *real time PCR*. *مجله بیوتکنولوژی کشاورزی* ۱۰(۳)، ۱۱۱-۱۲۲.
- محمدی فر آمنه، محمدآبادی محمدرضا (۱۳۹۰). کاربرد نشانگرهای ریزماهواره برای مطالعه ژنوم گوسفند کرمانی. *مجله علوم دامی ایران* ۴۲(۴)، ۳۳۷-۳۴۴.
- واجدابراهیمی محمدتقی، محمدآبادی محمدرضا، اسماعیلی زاده علی (۱۳۹۴). بررسی تنوع ژنتیکی پنج جمعیت گوسفند ایرانی با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره‌ای. *مجله بیوتکنولوژی کشاورزی* ۷(۴)، ۱۴۳-۱۵۸.

References

- 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 Rum 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.
- Byrne K, Vuocolo T, Gondro C, et al. (2010) A gene network switch enhances the oxidative capacity of ovine skeletal muscle during late fetal development. *BMC Genomics* 11, e378.
- Chargé SBP, Rudnicki MA (2004) Cellular and molecular regulation of muscle regeneration. *Physiol Rev* 84, 209–238.
- Chen YB, Jiang CT, Zhang GQ, et al. (2010) Increased expression of hyaluronic acid binding protein 1 is correlated with poor prognosis in patients with breast cancer. *J Surg Oncol* 100, 382–386.
- Dedio J, Jahnen-Dechent W, Bachmann M, Müller-Esterl W (1998) The multiligand-binding protein gC1qR, putative C1q receptor, is a mitochondrial protein. *J Immunol* 160, 3534.
- 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.
- Fahey AJ, Brameld JM, Parr T, et al. (2005) The effect of maternal undernutrition before muscle differentiation on the muscle fiber development of the newborn lamb. *J Anim Sci* 83, e2564.
- Fogal V, Richardson AD, Karmali PP, et al. (2010) Mitochondrial p32 Protein is a Critical Regulator of Tumor Metabolism via Maintenance of Oxidative Phosphorylation. *Mol Cell Biol* 30, e1303.
- Ghotbaldini H., Mohammadabadi M.R., Nezamabadi-pour H., Babenko O.I., Bushtruk M.V. and Tkachenko S.V. (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.
- Gwinn DM, Shackelford DB, Egan DF, et al. (2008) AMPK Phosphorylation of Raptor Mediates a Metabolic Checkpoint. *Mol Cell* 30, 214–226.
- Hardie DG (2007) AMP-activated/SNF1 protein kinases: Conserved guardians of cellular energy. *Nat Rev Mol Cell Biol* 8, 774–785.
- 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.
- Jafari Darehdor AH, Mohammadabadi MR, Esmailzadeh AK, Riahi Madvar A (2016) Investigating expression of CIB4 gene in different tissues of Kermani Sheep using real time qPCR. *J Rumin Res* 4, 119-132 (In Persian).
- Liu Y, Leslie PL, Jin A, et al. (2017) p32 heterozygosity protects against age- and diet-induced obesity by increasing energy expenditure. *Sci Rep* 7, e5754.

- Ma J, Ren C, Yang H, Zhao J, et al. (2019) The Expression Pattern of p32 in Sheep Muscle and Its Role in Differentiation, Cell Proliferation, and Apoptosis of Myoblasts. *Int J Mol Sci* 20(20), e5161.
- Masoudzadeh SH, Mohammadabadi M, Khezri A, et al. (2020a) Effects of diets with different levels of fennel (*Foeniculum vulgare*) seed powder on DLK1 gene expression in brain, adipose tissue, femur muscle and rumen of Kermani lambs. *Small Rumin Res* 193, e106276.
- Masoudzadeh SH, Mohammadabadi MR, Khezri A, et al. (2020b) Dlk1 Gene Expression in Different Tissues of Lamb. *Iran J Appl Anim Sci* 10 (4), 669-677.
- Matos P, Horn JA, Beards F, et al. (2014) A role for the mitochondrial-associated protein p32 in regulation of trophoblast proliferation. *Mol Hum Reprod* 20, 745.
- Mengjie H, Crawford SA, Henstridge DC (2013) p32 protein levels are integral to mitochondrial and endoplasmic reticulum morphology, cell metabolism and survival. *Biochem J* 453, 381-391.
- Mikako Y, Takeshi U, Shinya T, et al. (2012) p32/gC1qR is indispensable for fetal development and mitochondrial translation: Importance of its RNA-binding ability. *Nucleic Acids Res* 40, 9717-9737.
- 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).

- Muta T, Kang D, Kitajima S, et al. (1997) p32 protein, a splicing factor 2-associated protein, is localized in mitochondrial matrix and is functionally important in maintaining oxidative phosphorylation. *J Biol Chem* 272, 24363.
- Naya FJ (1999) MEF 2: A transcriptional target for signaling pathways controlling skeletal muscle growth and differentiation. *Curr. Opin. Cell Biol* 11, 683–688.
- Nguyen N, Kim KB, Yi JS (2011) Cell-surface receptor for complement component C1q(gC1qR) is a key regulator for lamellipodia formation and cancer metastasis. *J Biol Chem* 286, 23093–23101.
- Parker MH, Patrick S, Rudnicki MA (2003) Looking back to the embryo: Defining transcriptional networks in adult myogenesis. *Nat Rev Genet* 4, 497–507.
- Pasandideh M, Kharrati Koopae H, Mohammad Abadi MR, et al. (2016) Association of the OPN and PPARGC1A Alleles with Milk Somatic Cell Count in Iranian Holstein cattle. *Modern Genet J* 11, 357-365 (In Persian).
- Peterson KL, Zhang W, Lu PD, et al. (1997) The C1q-binding cell membrane proteins cC1q-R and gC1q-R are released from activated cells: Subcellular distribution and immunochemical characterization. *Clin Immunol Immunopathol* 84, 17–26.
- 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 C, Deng M, Fan Y, et al. (2017) Genome-Wide Analysis Reveals Extensive Changes in LncRNAs during Skeletal Muscle Development in Hu Sheep. *Genes* 8, 283.
- 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.
- Rion N, Castets P, Lin S, et al. (2019) mTOR controls embryonic and adult myogenesis via mTORC1. *Development* 146, dev172460.
- Saito T, Uchiumi T, Yagi M, et al. (2017) Cardiomyocyte-specific loss of mitochondrial p32/C1qbp causes cardiomyopathy and activates stress responses. *Cardiovasc Res* 113, 1173–1185.
- 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. *Animal Biotechnology* 33, 1-11.
- Shaw RJ, Monica K, Nabeel B, et al. (2004) The tumor suppressor LKB1 kinase directly activates AMP-activated kinase and regulates apoptosis in response to energy stress. *Proc Natl Acad Sci USA* 101, 3329–3335.

- Song X, Kim SY, Zhang L, et al. (2014) Role of AMP-activated protein kinase in cross-talk between apoptosis and autophagy in human colon cancer. *Cell Death Dis* 5, e1504.
- Tohidi nezhad F, Mohammadabadi MR, Esmailizadeh AK, Najmi Noori A (2015) Comparison of different levels of Rheb gene expression in different tissues of Raini Cashmir goat. *Agric Biotechnol J* 6, 35-50 (In Persian).
- Vajed Ebrahimi MT, Mohammad Abadi MR, Esmailizadeh AK (2016) Analysis of genetic diversity in five Iranian sheep population using microsatellites markers. *Agric Biotechnol J* 7 (4), 143-158 (In Persian).
- Valentina F, Ivan B, Ying C, et al. (2015) Mitochondrial p32 is upregulated in Myc expressing brain cancers and mediates glutamine addiction. *Oncotarget* 6, 1157–1170.
- Valentina F, Lianglin Z, Stan K, Erkki R (2008) Mitochondrial/cell-surface protein p32/gC1qR as a molecular target in tumor cells and tumor stroma. *Cancer Res* 68, 7210.
- Xiaodong F, Tonnesen MG, Peerschke EIB, Berhane G (2002) Cooperation of C1q receptors and integrins in C1q-mediated endothelial cell adhesion and spreading. *J Immunol* 168, 2441–2448.
- 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.
- Yu H, Liu Q, Xin T, et al. (2013) Elevated expression of hyaluronic acid binding protein 1 (HABP1)/P32/C1QBP is a novel indicator for lymph node and peritoneal metastasis of epithelial ovarian cancer patients. *Tumor Biol* 34, 3981–3987.
- Zhang X, Zhang F, Guo L, et al. (2013) Interactome analysis reveals that C1QBP (complement component 1, q subcomponent binding protein) is associated with cancer cell chemotaxis and metastasis. *Mol Cell Proteom* 12, 3199–3209.
- 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.