**مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران**

**عنوان طرح:**

# تولید مجموعه سلول های شتر دوکوهانه به منظور حفظ ذخایر ژنتیکی دامی کشور

کد طرح: **44-2140**

**مسئول طرح:**

دکتر سید ابوالحسن شاهزاده فاضلی

بانک سلول‌های انسانی و جانوری

**اردیبهشت 1394**

Archive of SID

www.SID.ir

**عنوان طرح:** تولید مجموعه سلول های شتر دوکوهانهبمنظور حفظ ذخایر ژنتیکی دامی کشور

**کد طرح:44-2140**

**محل اجرا: مرکز** ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران- بانک سلولهای انسانی و جانوری

**مسئول طرح:** دکتر ابوالحسن شاهزاده فاضلی

تاریخ تهیه گزارش :**اردیبهشت 1394**

Archive of SID



www.SID.ir

## مشخصات همکاران طرح:

| ردیف | نام و نام خانوادگی* | رتبه علمی | رشته تحصیلی | مقطع تحصیلی | شغل و موسسه متبوع | نوع مسئولیت درطرح | میزان همکاری در طرح | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | تعداد ساعات در ماه | تعداد ماه |
| 1 | **عبدالرضا دانشور آملی** | کارشناس | علوم دامی | کارشناسی ارشد | کارشناس | همکار اصلی | 84 | 12 |
| 2 | لاله نیک فرجام | استادیار | بیوتکنولوژی | دکتری تخصصی | هیئت علمی | همکار | 17 | 12 |
| 3 | حسین بهاروند | دانشیار | زیست شناسی تکوینی | دکتری تخصصی | هیئت علمی | همکار | 17 | 12 |
| 4 | فضل ال.. افراز | استادیار | ژنتیک و اصلاح نژاد دام | دکتری تخصصی | هیئت علمی | همکار | 17 | 12 |
| 5 | سپیده آشوری موثق | کارشناس | دامپزشکی | دکترایحرفه ای | کارشناس | همکار | 50 | 12 |
| 6 | احمد نسیمیان | کارشناس | ایمونولوژی | کارشناسی ارشد | کارشناس | مجری آزمایشگاه | 65 | 12 |
| 7 | مهرناز ایزدپناه | کارشناس | سلولی مولکولی | کارشناسی ارشد | کارشناس | مجری آزمایشگاه | 65 | 12 |
| 8 | شیوا محمدی | کارشناس | ژنتیک | کارشناسی ارشد | کارشناس | مجری آزمایشگاه | 65 | 12 |
| 9 | میثم گنجی بخش | کارشناس | بافت شناسی و جنین شناسی | کارشناسی ارشد | کارشناس | مجری آزمایشگاه | 65 | 12 |
| 10 | فائزه وخشیته | کارشناس | بیوتکنولوژیزشکی | کارشناسی ارشد | کارشناس | مجری آزمایشگاه | 65 | 12 |
| 11 | زهرا مرادمند | کارشناس | سلولی مولکولی | کارشناسی | کارشناس | مجری آزمایشگاه | 65 | 12 |
| 12 | مریم فرقدان | کارشناس | علوم آزمایشگاهی | کارشناسی | کارشناس | مجری آزمایشگاه | 65 | 12 |

Archive of SID



www.SID.ir

چکیده:

شتریکیازعجایبآفرینشاستودرمیانموجودات،اینحیوانبهعلتخلق و خووصفاتشازسایردامهامتمایزاست **.درقرآنکریمهمازاینحیوانبهعنوانیکیازشاهکارهایخلقتیادشدهکهبایددرآفرینشوخلقتاینحیواندقتوتأملشود.** شتر دو کوهانه *(Camelus Bactrianus)* با قدمتی چند هزارساله که بر طبق گزارشFAOخاستگاه اولیه آن از ایران است یکی از نژادهای در معرض انقراض کشور می باشد. جمعیت شتر دوکوهانه در ایران محدود بوده و حدود 150 نفر تخمین زده می شود که اکثر آنها در استان اردبیل پرورش می یابند.ذخیره سازی سلولهای فیبروبلاستی بافت زنده این دام در شرایط مناسب می تواند منبع پایائی از DNA این نژاد منحصر به فرد کشور را برای سالهای متمادی در اختیار محققین و دانشجویان قرار دهد. علاوه بر این،با روش شبیه سازیمی توان سلولهای بنیادی پر توان القائی (iPS) را از سلولهای فیبروبلاستی تهیه نمود و در آینده با تمایز آنها به سلولهای گامتی امکان احیاء و تکثیر این دام در خطر انقراض و تولید حیوانات تراریخته را نیز فراهم نمود. حداقل اندازه موثر جمعیتی 55-50 راس بوده که از دو جنس نر و ماده استفاده می شود (فائو، 2011). ابتدا برای تهیه رده های فیبروبلاستی، نمونه ای از پوست شتر با رعایت شرایط آسپتیک تهیه شده و در دمای 4 تا 8 درجه سانتی گراد به آزمایشگاه کشت سلول تحویل داده می شود. برای کشت، نمونه ها در محیط DMEM دارای (20%) FBS و آنتی بیوتیک قرار می گیرند، بعد از انجام سه پاساژ سلول های فیبروبلاستی بدست آمده فریز می شوند. طی مراحل کار برای اطمینان از عدم آلودگی باکتریایی، قارچی و مایکوپلاسما، سلول ها با مشاهده میکروسکوپی، بررسی ظواهر کشت سلولی، روشهای کشت مستقیم، رنگ آمیزی DNA و PCR مورد بررسی قرار می گیرند. برای اطمینان از عدم آلودگی و اختلاط سلول های گونه های مختلف با یکدیگر آزمایش تعیین و تایید گونه ها به روشPCRانجام می شود و سپس با رعایت کلیه نکات مربوط به بانک کردن سلولها و ثبت اطلاعات لازم ، ویالهای حاوی سلولهای به دست آمده به تانک ازت فاز بخار منتقل می شوند. برای تمامی نمونه ها شناسنامه سلولی، حیوانی و عکس از گسترش کروموزومی( کاریوتایپینگ) تهیه می شود.

**واژه های کلیدی:**

بانک سلولهای سوماتیک، بانک ژن ، شتردوکوهانه

فهرست



Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه.....6
تاریخچهحفاظتازذخایرژنتیکیدامی .....8
تعیینژادهایدرالویت .....9
تهدیدهاوعواملمهمدرارتباطباذخایرژنتیکیدامی.....10
روشهایحفاظتازذخایرژنتیکی.....10
الف) نگهداریدامزندهدرمحل.....11
ب) نگهداریدامزندهدرخارجازمحل .....11
ج. استفادهازروشهایآزمایشگاهی .....12
شتردوکوهانه(Bactrian Camel):.....13
پراکنششترهایدوکوهانهدرایران .....18
تولیدردهسلولی:.....18
بررسیمنابع.....22
بررسیومرورمنابع: .....23
موادوروشها.....26
1-مراحلنمونهگیریوتولیدردهسلولی:.....27
1-1انتخابشترهایدوکوهانهخالص: .....27
1-2- روشنمونهگیری:.....31
2- تولیدوکشتردهسلولیفیبروبلاستی: .....32
3- روش کشت و پاساژ سلولها .....34
4- دستورالعمل شمارش سلولها.....37



Archive of SID
www.SID.ir

5- روش بررسی آلودگی نمونه های سلولی به مایکوپلاسما ..... 40

6-روشانجامMultiplex PCRبرایتشخیصگونههایجانوری ..... 44

7- روش فریز رده های سلولی فیبروبلاستی : ..... 50

نتایجوبحث..... 54

1- مراحل نمونه گیری ..... 55

2- تولید رده سلولی ..... 58

3- مورفولوژی سلول ..... 60

4- منحنی رشد: ..... 60

5- تست های کنترل کیفی: ..... 61

6- تعیین گونه جانوری: ..... 63

بحث ..... 67

تشکر و قدر دانی: ..... 70

ضمیمه ..... 71

شناسنامهسلولی..... 73

شناسنامهحیوانی ..... 131

منابع ..... 189

چکیده انگلیسی ..... 193

Archive of SID



www.SID.ir

# مقدمه

Archive of SID



www.SID.ir

**مقدمه:**

از نگرانی های بزرگ انسان برای قرن حاضر و آینده با توجه به ازدیاد سریع جمعیت درجهان مسئله کمبود مواد غذائی و به خصوص پروتئین با منشاء حیوانی است. نگهداری و پرورش شتر و استفاده از محصولات عمده آن که از منابع پروتئین حیوانی است از اهمیت به سزائی برخوردار است. جمعیت حدود 19 میلیون راسی این دام درجهان نشاندهنده اهمیت شناخت و استفاده بهتر از قابلیتهای آن می باشد(Simon, D.L. et al. ۱۹۹۹) . کشور ما ایران دارای 90 میلیون هکتار زمین مرتعی می باشد که از نظر پوشش گیاهی 10/3% آن دارای وضعیت خوب 41/4% آن دارای وضعیت متوسط و 48/3% آن دارای وضعیت ضعیف می باشد که در مراتع فقیر اکثراً گیاهان شور پسند و خاردار مانند خارشتر علف شور ، تاغ ... می روید که به علت خشک و خاردار بودن ، بیشتر مورد تعلیف شتر قرار می گیرد و طبق تجارب موسسات علمی بین المللی و کشوری یکی از معدود دامهائی که می تواند در این اقلیم و اکوسیستم تطابق یافته و تولید مثل و بازده اقتصادی داشته باشد و با توجه به عادات چرای خود باعث حفظ و احیاء مراتع آن اکوسیستم گردد شتر است. چگونگی تغذیه معیار پیشرفت و نشاندهنده شاخص زندگی مردم یک کشور است. در این میان تامین میزان پروتئین حیوانی مورد نیاز از اهمیت به سزائی برخوردار است. داشتن منابع پروتئین دامی متنوع و حفظ گونه ها و نژادهای دامی کشور به عنوان ذخائر ژنتیکی دامی می بایست مورد توجه قرار گیرد. حفظ ذخائر ژنتیکی دامی به دلائل زیر از اهمیت به سزائی برخوردار است.(Gibson, J. et al. ۲۰۰۵)

- جلوگیری از فرسایش ژنتیکی جمعیتهای دامی ارزشمند
- حفظ تنوع ژنتیکی برای پاسخگوئی به چالشها و نیازهای حال و آینده
- پوشش دادن و تامین نیازهای جدید بازار محصولات دامی
- حفظ ارزشهای فرهنگی و تاریخی



Archive of SID

www.SID.ir

- حفظ نژادها برای نسلهای آینده

## تاریخچه حفاظت از ذخایر ژنتیکی دامی

حفاظت از ذخایر ژنتیکی دامی بحث جدیدی نیست و دارای حدود 60 سال سابقه می باشد با این حال و علیرغم پیشرفتهای حاصل در سالهای اخیر پیشرفت عملی آن بسیار آهسته می باشد .

در کشور های غربی سازمانهایی برای حفاظت از نژاد های کمیاب و در معرض خطر بوجود آمده است نظیراتحادیه حفظ نژادهای کمیاب در انگلستان[۱]، انجمن حفاظت از نژادهای دام اهلی در آمریکا[2]، و حفاظت از تنوع کشاورزی در اروپا[۳] که برنامه های سازمانی مؤثری را دارند ولی این سازمانها و برنامه ها در کشورهای در حال توسعه یافت نمی شود.(Ho, S.K. et al.۱۹۹۷)

نکته قابل ذکر در زمینه ذخایر ژنتیک دامی اینست که **از نظر جهانی حفاظت صرفاً شامل نژادهای در معرض خطر نمی باشد بلکه به طور کلی تر هدف، نژاد های دامی است که در حال حاضر از نقطه نظر اقتصادی مقرون به صرفه نمی باشند و کمتر مورد بهره برداری قرار می گیرند. ولی ممکن است در آینده نزدیک بهره برداری از آنها بیشتر مورد توجه قرار گیرد..**(Barker,J.S.F. ۱۹۹۹)

---

۱.Rare Breed Survival Trust

۲.TheAmericanLivestockBreedsConservancy

۳.Safeguard for Agricultural Varieties



Archive of SID

www.SID.ir

در مورد این نژاد ها فعالیتهای ضروری عبارتند از :

1 –**نگهداری**: که به اشکال مختلف از قبیل نگهداری دام زنده، تولید و نگهداری اسپرم، تخمک، جنین منجمد و سلولهای بدنی قابل انجام می باشد.(Zhou, X.M., et al. ۲۰۰۵)

2 –**بهنژادی**

البته شاید توجه به دو مورد ذکر شده کار مشکلی به نظر آید ولی یک مدیریت موفق در مورد ذخایر ژنتیکی دامی باید قادر به ترکیب این دو با یکدیگر باشد.

از مهمترین ابزارهای موفقیت در این امر وجود اطلاعات کامل در مورد نژادها می باشد اطلاعاتی نظیر تعداد نژادها ، پراکندگی ، ساختار جمعیتی ، وضعیت جمعیت از نظر تعداد ( در حال افزایش ، کاهش ، یا ثابت ) عملکرد و خصوصیات سازگاری . ولی برای اغلب نژادها هیچ اطلاعات پایه ای در مورد تعداد و سمت و سوی جمعیتی آن وجود ندارد.(Zhang, L.J., ۲۰۰۸)

## تعیین نژادهای در الویت

تعیین اینکه چه نژادی در الویت برنامه های نگهداری و بهبود قرار گیرد از سؤالات اصلی می باشد، فائو معیار هایی را برای آن به شرح زیر ارائه نموده است.

1. نژاد باید یک یا بیشتر از ویژگیهای خیلی مطلوب مربوط به صفات تولیدی و یا سازگاری را دارا باشد.
2. نژاد در معرض خطرانقراض باشد و یا اینکه به طور مؤثری از آن بهره برداری نمی شود.
3. نژاد این توانایی را داشته باشد که در صورت بهنژادی بر جمعیتهای بزرگ دامی دیگر اثر گذار باشد.

البته این موارد مستلزم وجود اطلاعات کافی راجع به نژاد مورد نظر می باشد.



Archive of SID

www.SID.ir

در حال حاضر اهمیت سیستمهای تولید پایدار روز به روز افزایش پیدا می کند و بر اساس آن معیار هـای مـورد نظر در ارتباط با دام نیز در حال تغییر است و مواردی مانند آسـایش دام (Animal welfare) و آلـودگی محـیط زیست از اهمیت بیشتر برخوردار می شوند بنابراین ممکـن اسـت در آینـده معیارهـای انتخـاب نـژاد کـاملاً بـا معیارهای امروز متفاوت باشد. بنابراین باید سعی شود از کاهش تنوع نژادها جلوگیری شـود (بـه عبـارت دیگـر باید نژاد های در معرض خطر را حفظ نمود).(Gibson, J. et al. ۲۰۰۵)

## تهدیدها و عوامل مهم در ارتباط با ذخایر ژنتیکی دامی

درکشورهای در حال توسعه عوامل تهدید کننده **ذخایر ژنتیکی دامی** در حال افزایش است و این امر نیاز به اقدامات فوری جهت جلوگیری از کاهش تنوع را افزایش میدهد(Gibson, J. et al. ۲۰۰۵)(جدول 1).

جدول 1- مهمترین تهدیدهای موجود و وضعیت آنها

| ریف | نوع تهدید | وضعیت |
|---|---|---|
| 1 | تغییر در سیستمهای تولیدی | در حال افزایش |
| 2 | تغییر در تقاضای بازار | در حال افزایش |
| 3 | مهاجرت روستاییان | در حال افزایش |
| 4 | رقابت برای استفاده از منابع طبیعی | در حال افزایش |
| 5 | عدم ثبات سیاسی و اقتصادی | در حال افزایش |
| 6 | عدم وجود سیاست گذاریهای مناسب برای دامهای مزرعه ای | در حال افزایش |
| 7 | فقدان سلامت سیاسی | در حال افزایش |
| 8 | ارزش کم نژادهای بومی | در حال افزایش |
| 9 | بیماریهای همه گیر محلی | ثابت |
| 10 | تغییرات اقلیمی | در حال افزایش |
| 11 | بیماریهای اپیدمیک | در حال افزایش |
| 12 | توافقات تجاری (مانند WTO ) | در حال افزایش |



Archive of SID

www.SID.ir

## روشهای حفاظت از ذخایر ژنتیکی

**الف** . نگهداری دام زنده در محل In Situ Conservation

ب . نگهداری دام زنده در خارج از مزرعهExSituConservation

ج . روشهای آزمایشگاهی InVitroConservation

## الف) نگهداری دام زنده در محل

روشهای نگهداری دام زنده در محل به عنوان روشهایی مناسب برای حفظ ذخایر ژنتیکی دامی شناخته شده اند زیرا این روشها مستقیما به معیشت دامداران مرتبط بوده وجزئی از زندگی آنها میباشد. اگر این روش با برنامه های بهبود نژادی مناسب همراه شود، نژاد خود را با تغییرشرایط بازار، تولید وشرایط اجتماعی وفق خواهد داد.به طور کلی میتوان گفت برنامه های حفظ نژاد در محل در واقع استراتژیهایی در جهت بهبود وضعیت درآمدی و معیشتی دامداران می باشند که خود جزئی از برنامه های بلند مدت توسعه کشورهاست. در واقع حفظ نژاد یک نتیجه ثانویه مربوط به برنامه های توسعه کشورها میباشد تا یک هدف اولیه ، بنابر این میتوان بجای عبارت حفاظت در محل از عبارت مدیریت جامعه [1] استفاده کرد که در آن تمرکز بر بهبود وضعیت زندگی افراد است.(Oishi, T. ۱۹۹۷)

## ب) نگهداری دام زنده در خارج از محل

نگهداری دام زنده درخارج از محل به معنی نگهداری و پرورش دام در هر محلی غیر از مزرعهمانند موسسات و مراکز دولتی میباشد. این روش بیشتر به هدف پشتیبانی وتامین نیازهای جاری دامداران و یا با اهداف تحقیقاتی انجام می‌شود.برنامه های حفاظتی زیادی از این نوع در کشورهای درحال توسعه اجرا میشود وعمدتا با هدف تولید اسپرم ودام نر میباشد ولی نمیتوان در مورد تاثیر آن بر وضعیت زندگی دامداران و حتی احتمال موفقیت آن اظهار نظر کرد.



Archive of SID

www.SID.ir

## ج. استفاده از روشهای آزمایشگاهی

استفاده از روشهای آزمایشگاهی که عمدتا شامل روشهای انجماد می باشد جهت ایجاد یک ذخیره مطمئن برای مقابله با بحرانهای تهدید کننده نژادهای دام وحفاظت از آنها لازم میباشد.انجماد میتواند شامل گامتها، جنین، سلولهای بدنی وسلولهای بنیادی باشد که البته تکنولوژی و هزینه های هر یک متفاوت میباشد. به عنوان مثال جمع آوری ونگهداری سلولهای بدنی نسبتا سادهمیباشد و قابلیت احیاء یک نژاد را دارد، ولی پرهزینه بوده ونیاز به وجود زیرساختهای تکنیکی بالا دارد. البته همیشه اینگونه نخواهد بود و در آینده با پیشرفت تکنولوژی استفاده از آن تسهیل خواهد شد. (Wu, H. et al. ۲۰۰۸)در مقابل جمع آوری ، انجماد ونگهداری اسپرم بسیار پرهزینه بوده ونیاز به زیرساختهای سطح بالاونیروهای ماهر دارد ولی استفاده از آن بسیار ساده و کم هزینه میباشد.اگر چه حفاظت از دامها به صورت زنده مزایای زیادی دارد ولی در اغلب کشورهای درحال توسعه به دلیل عدم توسعه اقتصادی، که بتوانندبه طور مناسبی از این فعالیتها پشتیبانی کنند دامهای بومی در معرض خطر اساسی هستند و توصیه میشودتا در کنار آن از سایر روشها مانند روشهای انجماد نیز استفاده شود. یک انتقاد در مورد این روش ها مربوط به هزینه های آن است که البته انتقاد درستی نمی باشد زیرا نتایج بلند مدت آن بسیار با ارزش است. به عنوان مثال اگر برای نژادهای اروپایی که منقرض گردیده اند چنین ذخیره ای وجود داشت احیاء آنها(خصوصیات مهم نژادی) امکان پذیر بود.مطالعات نشان داده است که استفاده ازیک روش به تنهایی ازشانس کمی برای موفقیت برخوردار است و در تدوین یک برنامه حفاظتی نیاز به انجام مطالعه کامل جهت تعیین یک استراتژی جامع وتعیین ترکیبی از روشهای مختلف حفاظت الزامی میباشد. (Gibson, J. et al. ۲۰۰۵)



Archive of SID

www.SID.ir

## شتر دوکوهانه (Two hump Camel) :

شتریکیازعجایبآفرینشاستودرمیانموجودات،اینحیوانبهعلتخلق و خووصفاتشازسایردامهامتمایزاست .درقرآنکریمهمازاینحیوانبهعنوانیکیازشاهکارهایخلقتیادشدهکهبایددرآفرینشوخلقتاینحیواندقتوتأملشود.

پرورش شتردر کشور ما سابقه دیرینه دارد و نیاکان ما از دیر باز ، از گوشت، پشم و شیر شتر استفاده می کردند. در مورد مبدا و منشاء و زمان دقیق اهلی شدن شتر یک کوهانه عقاید و نظریه های متفاوتی وجود دارد، بعضی موطن اصلی شتر یک کوهانه را عربستان دانسته و معتقدند که این حیوان از عربستان، به آسیای صغیر، آفریقا و سپس به سایر نقاط جهان رفته است و بعضی دیگر موطن اصلی شتر را ایران دانسته اند. اما در مورد مکان اهلی شدن شتر های دو کوهانه بیشتر پژوهشگران معتقدند که شتر دو کوهانه در منطقه خراسان بزرگ، مغولستان ،چین ،افغانستان و آسیای میانه اهلی شده است و گروهی معتقدند که واژه Bactrian که در زبان انگلیسی به شتر دو کوهانه اطلاق می شود از ریشه Bactar یا باختر است.در ایران سه نژاد شتر وجود دارد که عبارتند از : نژاد شتر های یک کوهانه ، دو کوهانه و آمیخته که این نژادها دارای تیره ها یا جمعیتهای متعددی اند که در ادامه تعدادی از آنها معرفی می شوند.

اکثریت شتران کشور را شتران یک کوهانه تشکیل می دهند که این شتران اکثرا در چهارده استان کشور پراکنده اند، که این استانها عبارتند از سیستان و بلوچستان، خراسان، یزد،کرمان، گلستان، سمنان، هرمزگان، بوشهر، فارس، خوزستان، اصفهان، آذربایجان شرقی، اردبیل و قم که از این میان بالاترین تعداد شتران در دو استان سیستان و بلوچستان و خراسان وجود دارد. شتران یک کوهانه ایران دارای تیره ها و جمعیتهای مختلفی اند که می توان به کلکوهی، بلوچی و ترکمن اشاره کرد.

- شتر ترکمن، شتری یک کوهانه با چثه ای قوی است که جزو شتران شیری می باشد بیشتر در منطقه ترکمن صحرا ، گرگان و گنبد و شمال استان خراسان پراکنده اند و جمعیت آن در حدود 3300 نفر می باشد. شتر



Archive of SID

www.SID.ir

ترکمنی از لحاظ سواری نیز مورد استفاده قرار می گیرد حد متوسط بار برای شترهای متوسط الجثه 140 کیلوگرم است که می تواند آن را روزانه تا مسافت 35- 45 کیلومترحمل کند. رنگ شتر تر کمن معمولاً از قهوه ای روشن تا قهوه ای تیره است. پشم آن تا حدودی مجعد است که این صفت آن را از سایر شترها متمایز می سازد. پشم شتر تر کمن را هر سال در بهار می چینند. در طی بررسی هائی که گوکلانی (1366) بر روی شتر ترکمن نموده است اظهار می دارد که اسدیته شیر این شتران (0/21 %) وزن مخصوص آن (1031) میزان چربی آن (4/16 %) میزان لاکتوز (4/24 %) ماده خشک(12/38%) خاکستر (0/77 %) و پروتئین (2/9 %) بوده است . میانگین طول بدن شتران ترکمن 145 سانتیمتر و میانگین ارتفاع بدن 175سانتیمتر ، و میانگین دور سینه 189سانتیمتر و میانگین عمق سینه 83 سانتیمتر و میانگین تولید سالیانه کرک در حدود دو کیلوگرم و میانگین لاشه کشتار شده 187 کیلو گرم و میانگین وزن دیلاقهای متولد شده 23 کیلو گرم است .

- شتران بلوچی، جزو نژاد گوشتی شیری هستند و در سطح استان سیستان و بلوچستان مخصوصاً اطراف زاهدان، خاش، ایرانشهر و چابهار پراکنده اند، این شتران کم پشم هستند و جهت بارکشی و سواری نیز از آنها استفاده می شود و بسیاری از کالاهای قاچاق توسط این حیوان بین مرزنشینان دو کشور ایران و پاکستان رد و بدل می گرددو با توجه به اینکه قیمت شتر در این منطقه پائین تر از قیمت آن در بسیاری از استانهای دیگر است به همین جهت بسیاری از تجار چوبدار اقدام به خرید این شتران نموده و جهت کشتار ، این شتران را به استانهای خراسان، اصفهان، یزد، تهران، قم و سمنان می برند .

- شتر بندری، جزو شتران سواری و بارکش است، که به نامهای رواحیه، جماز و پرنده نیز نامیده می شود این شتران کم پشم، لاغرو بسیار تندرو هستند و ساعتی 35-45 کیلو متر طی طریق می کنند.این تیپ شتران بیشتر در استانهای هرمزان، کرمان، بوشهرو جنوب استان هرمزگان پراکنده شده اند.شترهای بندری سبک وزن (نر بالغ حدود 600 و ماده بالغ حدود 400 کیلوگرم ) با بدن کشیده و پاهای بلند و استخوانهای آنها در عین قوی بودن



Archive of SID

www.SID.ir

چندان ضخیم نمی باشد. سر بطور نسبی کوچک پیشانی برجسته، گردن باریک، کوتاه و عضلانی بوده و در محل الصاق به شانه فرم متناسبی دارد.قسمت عقب بدن کوتاه، عضلانی و شیب دار است. رانها فشرده و عضلانی بوده و با مشاهده از عقب زیاد فاصله ندارند. پوست نازک و موهای کوتاه و فشرده دارند .

- شتر کلکوئی عمدتا در استان فارس زیست می کنند و در حدود دویست سال پیش با ایل کلکوئی از فارس به اطراف قم برده شد و هنوز در اطراف قم و تهران موجود اند از این شتران قبلا جهت بارکشی و سواره در ارتش استفاده می شد و هنگی بنام شتران جماز وجود داشت که در حقیقت بخش سواری نظام ارتش را تشکیل می داد و ایل کلکوئی وظیفه نگهداری این شتران را بر عهده داشت و پس از فروپاشی هنگ شتران جماز و گرایش افراد ایل کلکوئی به شهرنشینی تعداد شتران این ایل روز به روز کاهش گذاشت و اکنون گله های پراکنده از این شتران در کویر قم و مسیله تا دریاچه نمک پراکنده اند. وزن نر بالغ 800 کیلورم و ماده بالغ حدود 600 کیلوگرم است و ارتفاع نرها حدود 180 سانتیمتر است و حدود 1500 نفر از این نژاد بطور ناخالص وجود دارد .

البته احتمال وجود تیره های بیشتری به خصوص از نژاد تک کوهانه در کشور وجود دارد که نیازمند بررسی دقیق ژنوتیپی و فنوتیپی و رکودگیری و آنالیز بیومتری شترهای مناطق مختلف کشور و مقایسه آنها با یکدیگر می باشد.

شتر های دوکوهانه، مناطق گسترش محدودی دارند و فقط در استان آذر بایجان شرقی و اردبیل و گلستان و البرز وجود دارند. اطلاعات جمع آوری شده نشان می دهد که شتر های دو کوهانه از چهار سالگی برای کار مناسب بوده و تا سن 20 سالگی و گاهی 25 سالگی از آنها کار کشیده می شود. متوسط باری را که آنها می توانند حمل کنند 100 تا 150 کیلوگرم است که این موضوع مستقیماً با وضع جسمانی و مسافتی را که باید طی نمایند بستگی دارد. در مسافتهای کوتاه می توان مقدار بار را تا 250 و حتی 300 کیلوگرم افزایش داد . میزان



Archive of SID

www.SID.ir

شیر شتر های دو کوهانه در آذربایجان علاوه بر شیری که در اختیار دیلاق قرار می گیرد در یک دوره 16 تا18 ماه شیرواری 100 کیلوگرم و بندرت به 300 کیلوگرم می رسد.

جمعیت شتر دوکوهانه در ایران محدود می باشد و حدود 150 نفر از آن در مناطق مختلف کشور پرورش می یابند.با توجه به اینکه شتر دوکوهانه جزو نژادهای بومی کشور بوده و خاستگاه اولیه آن نیز ایران میباشد، حفظ و ثبت جهانی این نژاد به نام ایران اولین رسالت محققین کشور می باشد تا آیندگان فرصت استفاده از این منبع عظیم خداداد را برای اهداف مختلف از جمله دستیابی به غذای کافی، تولید محصولات متنوع جدید ، پایداری در کشاورزی و محیط زیست با داشتن تنوع زیستی لازم و کافی و غیره را داشته باشند. حفظ و پرورش این دام به عنوان یک منبع پروتئین دامی مطمئن و با کیفیت با توجه به خصوصیات خاص این گونه می تواند نگرانیهای ناشی از کمبود و تنوع منابع پروتئین دامی را بر طرف کند.

خصوصیات شتر دوکوهانه: شترهای دوکوهانه دارای استخوان‌های بزرگ و قوی، پاهای نسبتاً کوتاه، کوهان گرد، لب‌های بزرگ، پوشش پشمی ضخیم، کف پاهای بزرگ و مسطح می‌باشند. میانگین محصول پشم وکرک آن‌ها سالیانه پنج کیلوگرم و در حیوانات نر بالغ، بیش از هشت کیلوگرم و در نرهای اخته شده به ده کیلوگرم می‌رسد. رنگ شترهای دوکوهانه، اغلب قهوه‌ای تیره بوده و وزن زنده آن‌ها به 750 تا 850 کیلوگرم می‌رسد که درنتیجه وزن لاشه آنها 375 تا 425 کیلوگرم می‌باشد. دوره شیردهی آن‌ها 160 روز بوده و در یک دوره شیردهی 700 تا 800 لیتر شیر تولید می‌کنند که از این مقدار 300 لیتر برای مصرف انسان و بقیه به خوراک دیلاق‌ها می‌رسد. شیر آن‌ها از لحاظ ویتامین C خیلی غنی بوده و می‌توان از آن به راحتی فراورده‌های لبنی تهیه نمود که این امر در شترهای یک کوهانه نیاز به افزودن بعضی مواد از جمله کلرید کلسیم دارد. بلوغ آن‌ها در چهارسالگی بوده و جفتگیری آنها فصلی می‌باشند. دوره آبستنی آن‌ها 13 ماه طول می‌کشد. به ازای هر 16 تا 25 نفر شتر ماده دوکوهانه، یک نفر شتر نر دوکوهانه بسته به توان شتر نر و تغذیه آن جهت جفتگیری نیاز می‌باشد. میانگین وزن



Archive of SID

www.SID.ir

دیلاق‌های آنها در بدو تولد به 35 کیلوگرم می‌رسد.هر نفر شتر دوکوهانه روزانه در حدود 14 کیلوگرم ماده خشک مصرف می‌کند. شتر ماده دوکوهانه روزانه در فصل تابستان 35 تا 40 لیتر و در فصل زمستان 20 تا 25 لیتر و شتر نر دوکوهانه در فصل تابستان 40 تا 55 لیتر و در فصل زمستان 20 تا 35 لیتر آب می‌آشامد ( تصویر 1).

تصویر 1 – شتر دوکوهانه

شتر دوکوهانه باتوجه به ساختمان بدنی خاص خود به شرایط آب و هوای سرد خشک تطابق یافته‌است و قادر است در راه‌های کوهستانی و پربرف رفت و آمد نماید. شتر دوکوهانه می‌تواند در تابستان تا درجه حرارت 30 درجه سانتی گراد و در زمستان تا درجه حرارت 30- درجه سانتی گراد را به خوبی تحمل نماید. یکی از مهمترین مزایای پرورش شتر در مقایسه با پرورش گاو، گوسفند، بز و طیور این است که منابع غذائی مورد نیاز



Archive of SID

www.SID.ir

این دام با انسان مشترک نیست و خوراکشترهاییکهبهصورتآزادانهدرکویرپرورشمییابندبیشترگزها،طاقهاوخارهایگوناگون می باشد و به هیچوجه در زمره رقیبان انسان قرار نمیگیرند. با توجه به موارد ذکر شده و اینکه در مقایسه با دیگر دامها پژوهشهای محدودی در این گونه انجام گرفته است، لزوم حفاظت از این دام و تولید رده سلولی و انجام پژوهشهای بنیادی و ژنتیکی در این گونه در خطر انقراض است بسیار ضروری و با اهمیت می باشد.(مقدس، ا و پیشنمازززاده، ک.1376).

## پراکنش شترهای دوکوهانه در ایران

شتر دوکوهانه با توجه به خصوصیات فیزیولوژیکی شتر دوکوهانه این دام قادر است تا شرایط دمائی سرد را به خوبی تحمل کند و در آب و هوای سرد بهتر از آب و هوای گرم پرورش می یابد. با توجه به مطالعات صورت گرفته شتر دوکوهانه در استانهای خراسان شمالی، خراسان رضوی، گلستان، سمنان، تهران، البرز، قم و به طور کل در استانهای شمالی کشور قابلیت پرورش دارد ولی موطن اصلی این نژاد در کشور در استان اردبیل می باشد. در این طرح از شترهای موجود در استان اردبیل نمونه گیری می شود و با مطالعه و کسب اطلاعات از شجره دامهای موجود در استان اردبیل و نمونه گیری از شترهای دوکوهانه استانهای دیگر، امید است بالاترین تنوع ژنتیکی موجود در شترهای دوکوهانه کشور حفظ و ذخیره سازی گردد.

## تولید رده سلولی:

تولید رده سلولی از موجودات مختلف و خصوصا در حال انقراض یکی از کاربردی ترین و سریع ترین و در مقایسه با نگهداری حیوان و بعضی از روش های دیگر اقتصادی ترین روش بمنظور حفظ ذخایر ژنتیکی محسوب می شود و همچنین در داخل کشور یک بانک ارزان و سهل الوصول برای دستیابی به نمونههای مختلف برای محققان و پژوهشگران و دانشجویان ایجاد می گردد. تمامی مراکز و موسسات بیوتکنولوژی و



Archive of SID

www.SID.ir

فعال در عرصه تولید فراورده های بیولوژیک، اصلاح نژاد دام، دانشگاهها و مراکز تحقیقاتی مرتبط، از جمله استفاده کنندگان مستقیم نتایج این پروژه خواهند بود. متاسفانه با توجه به بی مهری به نگهداری از نژادهای بومی که به بیماریهای مختلف مقاومند، این اتفاق حتمی است که در آینده با وابستگی به نژادهای غیر بومی برای تامین غذا و... با خسارات جبران ناپذیری روبرو شویم و تنها راه جبران آن حفظ و نگهداری نمونه های قابل استفاده از ذخایر ژنتیکی کشور می باشد. در حال حاضر کشورهای پیشرفته جهان که سالهاست در امر اصلاح نژاد پیشتاز بوده اند برای جبران خطاهای خود به امر جمع آوری منابع ژنتیکی مفید و بکر کشور مان می پردازند. این در حالی است که ما خود را از این ثروتهای خدادادی محروم نموده و در آینده مجبور خواهیم بود که آنها را به عنوان کالاهایی گرانبها از بیگانگان طلب نمائیم.(Takashima, A., ۱۹۹۸)

کشت و نگهداری سلولهای جانوری در محیط آزمایشگاهی برای اولین بار در قرن نوزدهم انجام گرفت و پس از آن تکنیکهای مورد استفاده در کشت سلول بین سالهای 1940 تا 1950 به سرعت پیشرفت کرد، که دلیل عمده آن توسعه پژوهشها در ارتباط با نحوه عملکرد ویروسها و تولید واکسن برای درمان بیماری های ویروسی بود. (Kawarai, S., et al. ۲۰۰۶)

امروزه ایجاد بانک های ژن و سلولی و تولید رده های سلولی به دو منظور کلان خدمات رسانی و عرضه محصولات بیولوژیک به محققان و پژوهشگران و همچنین هدف مهم و استراتژیک شناسایی و حفظ ذخایر ژنتیکی در بسیاری از کشورهای پیشرفته و حتی در حال توسعه از ضروریات انکار ناپذیر شناخته شده است. لذا در اکثر این کشورها مراکز متعددی در راستای دو هدف اصلی مورد نظر شکل گرفته و فعالیت می نمایند مثلا در راستای تولید لاین سلولی و خدمات رسانی، بانکهای سلولی انسانی و جانوری (ATCC) در آمریکا، (DSMZ)در آلمان، (RIKEN)در ژاپن، (CB.Au) در استرالیا، چین و هندوستان و غیره دهها سال است که



Archive of SID

www.SID.ir

برای ارائه خدمات به پژوهشگران اقدام نموده و همزمان مراکز دیگری در این کشورها و تعداد کثیر دیگری بمنظور حفاظت از ذخایر ژنتیکی با ایجاد بانک ژن و اسپرم، جنین و سلولی و غیره اقدام نموده، از جمله مراکزی چون (CGRB) در کره جنوبی، (AWCC) در آلاسکا، (NBFGR) در هندوستان، (ALBC) در آمریکا، (AAGR) در افریقا، (CFAGRC) در کانادا، حتی در کشورهایی مانند ویتنام، ترکیه و قطر نیز ایجاد شده است. البته بدون شک موضوع ذخایر ژنتیکی کشورهای مختلف در رابطه با تنوع نژادی و زیستی موجود در کشورشان بوده و بعنوان سرمایه ملی خویش محسوب می نمایند. همچنین سازمانها و مراکزی بین المللی مانند FAO (FoodandAgricultureOrganization) و ILRI(InternationalLivestockResearchInstitute) نیز سالهای متمادی است که با ایجاد بانک اطلاعاتی و گروههای پژوهشی در جهت انجام و حمایت تحقیقات مرتبط با موضوع شناسایی تنوع ژنتیکی و حفظ ذخایر ژنتیکی دامها اقدام نموده اند.

سلولها از منابع مختلفی جداسازی و تکثیر می شوند. آنها می توانند از خون و یا بافتهای نرم جدا شده و تکثیر داده شوند. سلولهای تک هسته ای با هضم آنزیمی توسط تریپسین، کلاژناز یا پروناز که پیوندهای خارج سلولی را می شکنند در دسترس قرار می گیرند.(Yun, J.I., et al. ۲۰۰۸)

سلولهای پستانداران برای زنده ماندن و رشد به شرایط مناسب دمائی (37 درجه) و هوائی (5% CO2) در یک انکوباتور نیاز دارند. البته این شرایط بسته به نوع سلول بسیار متغیر میباشد. البته به غیر از دما و هوا فاکتورهای مختلف دیگری از قبیل میزان PH ، غلظت گلوکز و فاکتورهای رشد و مواد مغذی در رشد سلول تاثیر گذار میباشند.(Freshney, R.I. ed. ۲۰۱۰)



Archive of SID

www.SID.ir

تهیه کشت اولیه یا PrimaryCulture از سلول ممکن است از طریق مهاجرت سلول از قطعه ای از بافت یا از طریق جداسازی مکانیکی یا آنزیمی انجام پذیرد. در این روش ابتدا سلولها را به صورت شناور و یا چسبیده به کف ظرف درآورده و کشت می دهند و بعد از کشت برخی از آنها به بستر می چسبند. این خاصیت چسبندگی برای اغلب سلولها برای تکثیر و زنده ماندن لازم میباشد. در این طرح نیز از سلولهای فیبروبلاست پوست از گوش دام نمونه برداری می شود و این سلولها نیز برای رشد و تکثیر به کف ظرف می چسبند.

Archive of SID



www.SID.ir

# بررسی منابع

Archive of SID



www.SID.ir

## بررسی و مرور منابع:

حفاظت از ذخایر ژنتیکی با استفاده از روشهای فرا سرد یکی از کاربردی ترین روشها برای این منظور می باشد. در این روش استفاده از سلولهای سوماتیک مانند سلولهای فیبروبلاستی به جای استفاده از اسپرم، تخمک، سلولهای بنیادی و .... مزیتهای فراوانی دارد. (Shi, L.M. ۱۹۸۹)استفاده از این روش امکان دسترسی سریع، آسان و ارزان به یک منبع سلولی قابل تکثیر و بی پایان را فراهم می کند. تولید رده سلولی فیبروبلاستی برای حفاظت از ذخایر ژنتیکی یکی از روشهای کاربردی است که برای گونه های مختلفی در جهان به کار رفته است.این پروژه دومین پژوهش به منظور تولید بیش از 50 رده سلولی فیبروبلاستی از یک نژاد دامی برای حفاظت از آن می باشد و تاکنون پژوهشی در این سطح و تعداد نمونه برای تولید رده سلولی به منظور حفاظت از ذخایر ژنتیکی انجام نشده است و پروژه اول برای حفاظت از ذخایر ژنتیکی اسب کاسپین و این پروژه در ارتباط با شتر دوکوهانه در مرکز ملی ذخایر ژنتیکی وزیستی ایران انجام گرفته اند.در یک تحقیق Chunyu BAI و همکاران در سال 2011 از تعداد 32 راس بز خاکستری بومی کشور چین نمونه گیری کردند. در این پژوهش از بافت گوش بزها نمونه گیری به عمل آمد. هدف از این پروژه حفاظت از ذخایر ژنتیکی این نژاد و همچنین بررسی قابلیت انتقال ژن سلولهای فیبروبلاستی برای ایجاد حیوانات ترانس ژن بود. نتایج تحقیق مناسب بودن این روش برای حفاظت از ذخایر ژنتیکی را تائید کرده و همچنین قابلیت انتقال ژن این سلولها را بسیار بالا و مناسب نشان داد.

در یک پروژه Groeneveldدر سال 2008 پروتکلی را برای این تکنیک تدوین کرد. در این پروتکل کلیه مراحل از انتخاب نمونه، نحوه نمونه گیری، استریل کردن موضع نمونه گیری تا فریز کردن نمونه ها در یک مقاله شرح داده شده است. این تحقیق بر روی 6 جمعیت بز، گوسفند و خوک از نژادهای بومی کشور ویتنام انجام گرفته است. در این تحقیق نمونه گیری از تعداد 25 دام نر و 25 دام ماده برای حفاظت از ذخایر ژنتیکی



Archive of SID

www.SID.ir

یک نژاد تعیین شده است و بر اساس محاسبات این تعداد نمونه گیری با هزینه ای بالغ بر 1000 یورو قابل انجام می باشد و در خاتمه راندمان بالا و اقتصادی بودن این روش نیز مورد بررسی و تائید قرار گرفته است.

در پژوهشی Li Lf و همکاران در سال 2009 اقدام به تولید رده سلولی از نژاد اسب مونگولی نمودند. بدین منظور از گوش دام نمونه برداری کرده و اقدام به کشت اولیه نمودند. سلولها از نوع چسبنده بودند و زمان Doubling time آن 33/9 ساعت بوده و 64 کروموزومی بودند. قابلیت بیان ژن و آلودگیهای این سلولها نیز مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این تحقیق ارزشمند بودن تهیه رده سلولی برای حفاظت از ذخایر ژنتیکی و مطالعات ژنومی را تائید می کند. این محققین در پژوهشی دیگر اقدام به تولید رده سلولی از یک نژاد گوسفند بومی کشور چین به نام Texel نمودند. در این تحقیق از گوش گوسفند نمونه گیری به عمل آمده و یک رده سلولی به نام TSF۱۹ به ثبت رسید. منحنی رشد، آنالیز کروموزومی، قابلیت انتقال ژن و آلودگی های میکروبی و باکتریائی برای این رده سلولی مورد بررسی قرار گرفت. قابلیت انتقال ژن با استفاده از پلاسمید برای این رده سلولی حدود 21% تخمین زده شد.

در پژوهشی دیگر Oliveira و همکاران در سال 2005 علاوه بر تولید رده سلولی از سه گونه گوسفند، گاو و بز ، اثر لیپوفکتامین بر قابلیت انتقال ژن به این سلولها را مورد بررسی قرار دادند. نتایج تحقیق نشان داد که قابلیت انتقال ژن با استفاده از لیپوفکتامین حدود 50% می باشد و سلولهای گوسفند بازدهی بالاتری دارند. بررسی ها نشان داد که ماهیت کروموزومی و فنوتیپی سلولها قبل و بعد از انتقال ثابت بوده است و سلولهای فیبروبلاستی برای ایجاد حیوانات ترانس ژن و مطالعات انتقال هسته مناسب هستند.

یکی از کاربردهای رده های سلولی استفاده در تحقیقات ایجاد دامهای ترانس ژن و قبل از آن قابلیت انتقال و بیان ژن در این سلولها می باشد. پیشرفت و انتخاب یک روش مناسب انتقال ژن در حیوانات، یک گام مهم به



Archive of SID

www.SID.ir

سوی انتقال ژن و بررسی تولید و عملکرد حیوانات تراریخته میباشد. امروزه گزارشات متعددی از روشهای انتقال ژن در دامهای اهلی ارائه شده است که شامل : میکرواینجکشن، کلسیم فسفات، انتقال بوسیله وکتورهای ویروسی، روشهای مبتنی بر لیپوزومها و استفاده از ترانسپوزون ها می باشد. البته هر کدام از این روشها مزیتها و محدودیتهائی دارد، برای مثال وکتورهای ویروسی به طور گسترده ای مورد استفاده قرار می گیرند و به ابزار جدید و امیدوار کننده ای برای ایجاد دامهای تراریخته و دستکاری ژنوم پستانداران تبدیل شده اند وبازدهی بالائی دارند ولی دستکاری ژنتیکی آنها مشکل بوده و نیازمند تجهیزات و امکانات خاصی میباشد و ملاحظات ایمنی نیز در ارتباط با آنها مطرح میباشد. در مقابل روشهای لیپوزومی و یا استفاده از پلاسمیدها به سادگی قابل انجام بوده ولی راندمان بالائی ندارند.(Chen, Y., et al. ۲۰۰٦و Cord C.Uphoff .۲۰۰۷)

ترانسپوزون ها به عنوان یک ابزار ژنتیکی جدید برای انتقال ژن معرفی شده و در سلولهای فیبروبلاست بز نیز مورد بررسی قرار گرفته است. استفاده از ترانسپوزونها به عنوان گیرنده ژن مورد نظر و انتقال به سلول از طریق آنها میباشد که بازدهی بالاتری در مقایسه با روشهای پلاسمیدی دارد. این شیوه به عنوان یک روش جذاب و کارآمد مطرح شده است و محدودیتهای روشهای دیگر را ندارد.(Bai, D et al. ۲۰۱۲)

با توجه به افزایش روزافزون تحقیقات پایه و کاربردی در زمینه انتقال ژن و تولید حیوانات تراریخته، برای تولید محصول و درمان بیماریها، سلولهای فیبروبلاستی بسیار مناسب هستند و می توان با تولید رده سلولی علاوه بر حفاظت از ذخایر ژنتیکی کشور، با بررسی قابلیتهای و محدودیتهای هر کدام از روشهای انتقال ژن و انتخاب و ارائه تکنیک مناسب، نسبت به تولید دامهای تراریخت و تولید محصولات بیوتکنولوژی اقدام نمود. ایجاد این بانک و کلکسیون رده سلولی یک منبع تمام نشدنی DNA و سلول را برای انجام تحقیقات سلولی و ژنتیکی در اختیار محققین و مراکز تحقیقاتی قرار می دهد



Archive of SID

www.SID.ir

# مواد و روشها

Archive of SID



www.SID.ir

## مواد و روشها:

در این بخش نحوه انتخاب شتر های دوکوهانه برای دستیابی به حداکثر تنوع ژنتیکی و اطمینان از خلوص نژادی شترهای دوکوهانه شرح داده می شود. پس از آن روش کار از ابتدا از مرحله نمونه گیری تا انجام مراحل آزمایشگاهی و تست های کنترلی و فریز رده سلولی توضیح داده می شود. روشها و تکنیک های آزمایشگاهی مورد استفاده بر مبنای استانداردهای بین المللی بانک های سلولی و پژوهشهائی که در مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران انجام گرفته انتخاب شده اند.

## 1- مراحل نمونه گیری و تولید رده سلولی:

### 1-1- انتخاب شترهای دوکوهانه خالص:

با توجه به تلاقی های بسیار زیاد گله های دام و عدم برنامه های مشخص علمی برای تفکیک نژادی، یافتن نژاد خالص این دام از مهمترین مشکلات بود و با هماهنگی و مشارکت موسسه تحقیقات علوم دامی کشور و مدیریت ایستگاه پرورش و نگهداری شتر دوکوهانه، این محدودیت به شکل احسن مرتفع گردید و شترهای دوکوهانه خالص انتخاب و نمونه گیری شدند.

در این طرح هدف، دستیابی به تولید حداقل 50 رده سلولی شتر دوکوهانه به منظور حفاظت از ذخایر ژنتیکی کشور بوده است. بدین منظور مناطق پراکنش شتر دوکوهانه مورد مطالعه قرار گرفت. در کشور، دو بخش دولتی و خصوصی در زمینه پرورش و نگهداری شتر دوکوهانه فعالیت می کنند. بخش دولتی با دو ایستگاه تحقیقاتی در استان اردبیل حدودا تعداد 60-50 نفر شتر دوکوهانه را نگهداری می کند. بخش خصوصی نیز شامل شتر دارانی می شود که به صورت عشایری و یا ساکن در روستاها در کنار نگهداری از دامهای دیگر شتر دوکوهانه را نیز پرورش می دهند. اکثر شتر داران با توجه به مشکلات تامین خوراک و نگهداری شتر دوکوهانه تمایلی به حفظ این دام نداشته و چنانچه از بخش خصوصی حمایت نشود اقدام به فروش شترهای خویش می نمایند.



Archive of SID

www.SID.ir

برای اپتیمایز کردن شرایط آزمایش و به علت دسترسی راحتتر به نمونه های شتر دوکوهانه، استان البرز بعنوان اولین منطقه برای نمونه برداری انتخاب گردید و با توجه به جمعیت و گله های محدود شتر دوکوهانه ای که در این استان پرورش می یابند، تعداد محدودی شتر دوکوهانه برای نمونه گیری انتخاب شدند.

با توجه به اینکه بیش از 80% از شترهای دوکوهانه کشور در استان اردبیل پرورش می یابندو از خلوص نژادی بالائی نیز برخوردارند، شترهای این استان برای نمونه گیری در بخش اصلی طرح انتخاب شدند. حدودا تعداد 130-150 نفر شتر دوکوهانه در استان اردبیل پرورش می یابند که حدودا نیمی از آنها در موسسات تحقیقات کشاورزی استان اردبیل و نیم دیگر توسط بخش خصوصی پرورش داده می‌شوند. در استان اردبیل دو ایستگاه تحقیقاتی وابسته به وزارت جهاد کشاورزی در زمینه پژوهش، تکثیر و پرورش شتر دوکوهانه فعالیت می کنند. مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی واقع در جهاد آباد مشکین شهر و ایستگاه پرورش و اصلاح نژاد جعفر آباد درپارس آباد (مغان) در زمینه پرورش و نگهداری شتر دوکوهانه فعال هستند. در ایستگاه مشکین شهر و پارس آباد به ترتیب حدودا 40 و 20 نفر شتر دوکوهانه نگهداری می شود(تصویر 2و3). ایستگاه تحقیقات شتر دو کوهانه واقع در شهرستان مشکین شهر به عنوان اولین مرکز تکثیر شتر دو کوهانه کشور محسوب می شود که در سال 1374 با هفت نفر شتر نر و ماده راه‌اندازی شده و هم اکنون جمعیت این حیوان در این مرکز به حدود40 نفر افزایش یافته است.



Archive of SID

www.SID.ir

تصویر 2 – ایستگاه تحقیقاتی شتر دوکوهانه مشکین شهر

تصویر 3- ایستگاه تحقیقاتی شتر دوکوهانه جعفر آباد مغان



Archive of SID
www.SID.ir

مرکز اصلاح نژاد جعفرآباد در پارس آباد مغان عمدتا در زمینه پرورش گوسفند مغانی فعالیت می کند که در چند سال اخیر با توجه به اهمیت شتر دوکوهانه اقدام به پرورش و نگهداری شتر دوکوهانه کرده است. در این مرکز حدودا تعداد 20 راس شتر دوکوهانه نگهداری می شود.

شتر دوکوهانه در استان اردبیل توسط عشایر و روستائیان پرورش داده می شود. در حقیقت عامل اصلی حفظ و نگهداری شتر دوکوهانه در کشور و استان اردبیل پرورش این دام توسط مردم و به صورت گله های 20-10 نفری می باشد. هر چند در سالهای اخیر به علت هزینه های سنگین خوراک و همچنین عدم استفاده از شتر دوکوهانه در جابه جائی و حمل و نقل عشایر و روستائیان، این دام کارائی خود را از دست داده و اغلب دامداران اقدام به کشتار و یا فروش شترهای خویش کرده اند. مجموع عوامل فوق باعث کاهش چشمگیر تعداد شتر های دوکوهانه شده است و متاسفانه وزارت جهاد کشاورزی نظارت و کنترلی بر شتر داران ندارد و با توجه به اینکه خدماتی به آنها ارائه نمی دهد شتر داران نیز خود را ملزم به نگهداری و پرورش این دام در خطر انقراض نمی دانند.

در این پژوهش برای اینکه نمونه ها از تنوع ژنتیکی مناسبی برخوردار باشند گله های مردمی استان اردبیل نیز برای نمونه گیری در نظر گرفته شد. بدین منظور تعدادی از نمونه های مورد نیاز از عشایر و روستاهای مناطق اصلاندوز، مشکین شهر، گرمی و پارس آباد مغان جمع آوری شد.

پس از انتخاب شتر دوکوهانه و قبل از انجام نمونه گیری، اسم و یا شماره گوش، سن، جنس، رنگ، مشخصات پدر و مادر، تاریخ و محل نمونه گیری از شتردوکوهانه مورد نظر و مشخصات بیومتریک آن در فرم های ثبت مشخصات درج می گردد. ضمنا یک تصویر از هر شتر دوکوهانه برای قرار گیری در شناسنامه حیوانی و سایت اینترنتی مرکز ذخایر ژنتیکی در نظر گرفته شد.



Archive of SID

www.SID.ir

## 2-1- روش نمونه گیری:

با توجه به اینکه نمونه گیری با پانچ و برداشتن یک تکه از بافت گوش شترهای دوکوهانه انجام می گیرد، ابتدا شتر می بایست به خوبی مهار شود تا نتواند در حین نمونه گیری سر خود را تکان دهد. سپس نمونه گیری با رعایت نکات ایمنی و بهداشتی بر طبق مراحل زیر انجام میگیرد.

1) ابتدا دام مناسب که دارای شجره قابل اطمینانی باشد، انتخاب گردید.
   در صورتیکه شجره شتر دوکوهانه مشخص نباشد، باید از نظر فنوتیپی و خصوصیات ژنتیکی مورد بررسی دقیق قرار گیرد تا از اصالت آن اطمینان حاصل شود.
2) دام به کمک طناب مقید شد.
3) مو موضع نمونه برداری (گوش دام)تراشیده شد.
4) موضع نمونه برداری با استفاده از اسپری لیدوکائین بی حس گردید.
5) موضع با استفاده از الکل 70% استریل گردید.
6) مقداری از پوست گوش خارجی با استفاده از پانچر نمونه برداری برداشته شد.(شکل 4)
7) نمونه به فالکون حاوی محیط کشتDMEMو دارای–Penicillin(۱X) Streptomycinانتقال داده شد.
8) فالکون حاوی نمونه در ظرف یخ قرار داده شد.
9) سپس موضع نمونه برداری شده، پانسمان و ضدعفونی گردید.
10) در خاتمه نمونه به آزمایشگاه بانک سلولهای انسانی و جانوری، مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران انتقال یافت.



Archive of SID

www.SID.ir

تصویر 4 – پانچر نمونه برداری از بافت گوش

## 2- تولید و کشت رده سلولی فیبروبلاستی:

پس از ورود نمونه بافت به آزمایشگاه مراحل زیر طی شد:

2-1- نمونه ها در آزمایشگاه و زیر هود از فالکون خارج شده و به مدت چند ثانیه در اتانل 70% غوطه ور شدند.

2-2- سپس نمونه بافت طی دو مرحله با بافر PBS، شستشو داده شده و بخشهای اضافی، مانند پوست خارجی و یا مو از نمونه جدا شد.



Archive of SID

www.SID.ir

2-3- نمونه به پتری دیش ۱۰۰mm حاوی محیط کشت DMEM و دارای آنتی بیوتیک انتقال داده شد و با استفاده از تیغه اسکالپل، بافت به قطعات کوچک ۱mm×۱mm تقسیم شد.

2-4- هر 5 تا 6 قطعه بافت ریز شده به یک پتری دیش ۳۵mm استریل یکبار مصرف منتقل شده و یک لامل شیشه ای ۲۲mm×۲۲mmاستریل بر روی قطعات قرار گرفت. 1.5-2ml محیط کشت DMEM دارای 20 درصد InactivatedFBS و همچنین Penicillin-Streptomycin (۱X) و L-Glutamine (۲mM) به آرامی و بدون ایجاد حباب به پتری دیش اضافه شد و پس از اتمام کار پتری دیش ها به انکوباتور $CO_2$ دار 37°C منتقل شدند.

2-5- روز 5 از شروع کشت اولیه مشاهده میکروسکوپی و گزارش از وضعیت سلولها صورت گرفت و 0.۵ml محیط کشت DMEM حاوی آنتی بیوتیک و 20 درصدFBS و L-Gln(۲mM) به پتری دیش ها اضافه شد. این عمل در روزهای 8 و 12 از شروع کشت اولیه نیز تکرار شد. (می توان ابتدا 0.۵ml از محیط کشت داخل پتری دیش برداشت کرده سپس به آن محیط کشت جدید اضافه کرد تا پتری بیش از اندازه پر نشود.)

2-6- حدود روز 15 از شروع کشت اولیه با توجه به روند رشد سلول ها، پاساژ شماره 1 در محیط کشت DMEMحاوی 15 درصد FBS ، 1در صد L-Gln و فاقد آنتی بیوتیک انجام شد.

2-7- حدود روز 21 از شروع کشت اولیه پاساژ شماره 2 در محیط کشتDMEMحاوی 10 درصد FBS و 1 در صد L-Gln انجام گرفت**. طی مراحل کار سلول ها با مشاهده میکروسکوپی و بررسی ظواهر کشت سلولی از نظر آلودگی های باکتریایی و قارچی مورد بررسی قرار گرفتند.**



Archive of SID

www.SID.ir

۲-۸- قبل از انتقال به تانک ازت، نمونه ها برای اطمینان از عدم آلودگی به مایکوپلاسما با انجام روش های کشت مستقیم، رنگ آمیزی DNA و PCR مورد بررسی قرار گرفتند و با دو نوع محیط کشت میکروبی در دو دمای 24 و 37 درجه سانتیگراد تا 14 روز پایش شدند تا از فقدان آلودگی به قارچ و باکتری اطمینان کامل پیدا شود.

۲-۹- برای اطمینان از عدم آلودگی و اختلاط سلول های گونه های مختلف با یکدیگر آزمایش تعیین و تایید گونه ها به روشPCRانجام شد.

۲-۱۰- در نهایتبا رعایت کلیه نکات مربوط به بانک کردن سلولها و ثبت اطلاعات لازم، ویالهای حاوی سلولهای به دست آمده به عنوان ذخیره اولیه بانک به تانک ازت فاز بخار منتقل شدند. برای تمامی نمونه ها شناسنامه و اطلاعات لازم و عکس از رده سلولی تولیدشده ، عکس و مشخصات گونه و نژاد حیوان نمونه برداری شدهتهیه شد. در فواصل زمانی دو هفته، شش ماه و یک سال پس از فریز ، قدرت احیا سلولها با آزمایش سنجش viability مورد بررسی قرار گرفت.(Cabri)

**۳- روش کشت و پاساژ سلولها :**

۳-۱- هود بیولوژیک کلاس II با الکل 70% ، اسپری میکروزید و اسپری Mycoplasmaoff ضدعفونی شده و آماده کار شد.

۳-۲- کلیه محلول ها و محیط های کشت مورد نیاز از یخچال فریزر خارج شده و توسط بن ماری به دمای ۳۷□C رسانده شدند.

۳-۳- سطح ظروف حاوی کلیه محلول ها و محیط های کشت و وسایل قبل از قرار دادن زیر هود بیولوژیک با الکل 70% ضد عفونی شدند.



Archive of SID

www.SID.ir

۳-٤- فلاسک حاوی رده سلولی مورد نظر از داخل انکوباتور خارج شده پس از ضدعفونی کردن سطح زیرین فلاسک با الکل 70%، به زیر هود بیولوژیک منتقل شد.

۳-٥- زیر هود بیولوژیک کلاس II و تحت شرایط بهداشتی در فلاسک باز شده و توسط پی پت محیط کشت قدیمی موجود در فلاسک از سطح رویی آنها خارج شد.

۳-٦- در صورت استفاده از فلاسک $25\ cm^2$، توسط پی پت 5 ml محلول PBS(۱X) درون فلاسک ریخته شده و پس از آغشته شدن تمامی سطح فلاسک با این محلول، توسط همان پی پت محلول خارج گردید.

نکته: در صورت استفاده از فلاسک $75\ cm^2$، سلول ها می بایست با 10 ml محلول PBS(۱X) شستشو داده شوند.

نکته: سرم موجود در محیط کشت حاوی فاکتورهای مهار کننده تریپسین است. بنابراین لازمست بقایای محیط کشت با PBS شستشو داده شده و خارج شود.

نکته : در صورت عدم حذف بقایای سرم از فلاسک عمل شستشو باید یک مرتبه دیگر تکرار شود.

3-7- ۲ml محلول Trypsin- EDTA (1X) به فلاسک $۲٥cm^2$ اضافه شده و فلاسک ها به مدت 3 دقیقه در انکوباتور $CO_2$ انکوبه شدند.

نکته: در صورت استفاده از فلاسک $۷٥cm^2$، 5 ml از محلول به سطح سلول ها اضافه میشود.

نکته: در صورت منع استفاده از تریپسین، از ماده جایگزینی به نام Accutase استفاده می گردد. این ماده اثرات مخرب تریپسین را ندارد.

نکته: در صورتی که رده سلولی حساس به تریپسین باشد، برای جدا کردن سلولها از کف فلاسک از روش مکانیکی استفاده میشود. برای این منظور بسته پلمپ حاوی cellscraper پس از ضدعفونی با



Archive of SID

www.SID.ir

الکل 70%در زیر هود باز شده و با گرفتن نوک دسته آن، وارد فلاسک می شود. با کشیدن جارویی cellscraper از بالا به پایین فلاسک، سلولها از کف ظرف جدا می شوند.

3-8- پس از بررسی جدا شدن سلول ها در زیر میکروسکوپ اینورت، به کمک پی پت، سوسپانسیون سلولی برای هموژن کردن چندین بار پی پتاژ گردید.

3-9- فلاسک ها از انکوباتور خارج شده و با زدن چند ضربه آرام به کف فلاسک، به کنده شدن سلول ها از کف فلاسک کمک شده، سپس فلاسک ها زیر میکروسکوپ Invert مشاهده شدند.

نکته: سلول های تریپسینه شده و کنده شده از کف فلاسک به شکل کروی در می آیند.

نکته: در صورت کنده نشدن سلول ها از کف فلاسک می بایست مجددا آنها 2 دقیقه دیگر در انکوباتور انکوبه شوند.

به منظور غیر فعال کردن Trypsin- EDTA (1X) حدود 4 ml محیط کشت حاوی 10 درصد سرم به فلاسک $۲۵cm^۲$ اضافه میگردد.

نکته: در صورت استفاده از فلاسک $۷۵cm^۲$ حدود 10 محیط کشت حاوی 10درصد سرم به فلاسک اضافه میگردد.

3-10- سلول ها به آرامی چند بار در مخلوط تریپسین و محیط کشت پیپتاژ شدند.

3-11- محتویات درون فلاسک به یک لوله فالکون 15 ml استریل منتقل شد.

3-12- سلول ها به مدت 7 دقیقه در سانتریفوژ با دور ۱۸۰۰rpm در شرایط RT سانتریفوژ شدند.

3-13- لوله فالکون پس از ضدعفونی کردن به زیر هود منتقل شده و سپس مایع رویی به کمک پی پت اوت شد.

3-14- با توجه به رسوب سلولی، حجم معینی از محیط کشت حاوی 10درصد سرم به رسوب سلولی اضافه شد. به عنوان مثال اگر رسوب سلولی دارای مقدارکمی سلول بود حدود 2 mlمحیط کشت به رسوب اضافه میگردد. در صورت زیاد بودن حجم رسوب مقدار بیشتری محیط کشت به آن اضافه می شود.



Archive of SID

www.SID.ir

3-15- با چند بار پیپتاژ کردن محیط کشت افزوده شده به لوله فالکون، سوسپانسیون هموژنی تهیه گردید.

3-16- طبق دستور العمل شمارش سلولی و تعیین viabilityرده های سلولی،سلول ها شمارش شده و تعداد سلول های موجود در سوسپانسیون سلولی محاسبه شد.

3-17- با توجه به غلظت سلول های محاسبه شده، مقدار سوسپانسیون سلولی مورد نظر برای هر فلاسک $25\ cm^2$ محاسبه گردید.

**مثال:** برای داشتن فلاسک $25\ cm^2$ حاوی $5\times10^5$ Cell/ml به روش زیر عمل می شود.

3-18- غلظت سلول در هر میلی لیتر = $2\times10^6$ Cell/ml

حجم سوسپانسیون سلولی = 2ml

1.1. غلظت کل سلولها: $4\times10^6$ Cell/ml

با استفاده از یک تناسب ساده مقدار مورد نیاز از سوسپانسیون سلولی برای کشت در فلاسک $25cm^2$ به دست می آید.

$$\frac{4\times10^6\ Cell/ml}{5\times10^5\ Cell/ml} = \frac{2\ ml}{X\ ml}$$

0/25 ml

مقدار مورد نیاز از سوسپانسیون سلولی برای هر فلاسک

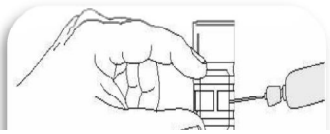
3-19- به هر یک از فلاسک های $25cm^2$ که از آنها برای پاساژ سلول های استفاده شد، 5ml محیط کشت حاوی 10درصد سرم اضافه گردید.

نکته: در صورت استفاده از فلاسک $75cm^2$ به هر یک از آنها 15ml محیط کشت حاوی 10درصد سرم اضافه میگردد.

3-20- مقدار سوسپانسیون سلولی محاسبه شده به هر یک از فلاسک ها اضافه گردید.

فلاسک ها به منظور بررسی یکنواخت پخش شدن سلول ها در فلاسک، به صورت میکروسکوپی مشاهده شده و فلاسک ها به انکوباتور 37°C دارای $CO_2$ 5% و 95% رطوبت منتقل گردیدند.

**4- دستورالعمل شمارش سلولها :**





Archive of SID

www.SID.ir

4-1- ابتدا محلول تریپان بلو 0.٤% آماده شد.

4-2- لام نئوبار و لامل سنگی با آب شسته شده و با گاز غیر استریل خشک شدند.

4-3- لامل بر روی لام نئوبار قرار داده شد.

4-4- داخل یک میکروتیوپ 0/5 ml، سوسپانسیون سلولی تهیه شده ابتدا با رقت $\frac{1}{2}$ با محلول تریپان 0.4% رقیق شده، برای این کار ۲۰µlit از محلول رنگی تریپان بلو 0.4% با20µlit از سوسپانسیون سلولی درون میکروتیوب 0.5 ml، مخلوط گردید.

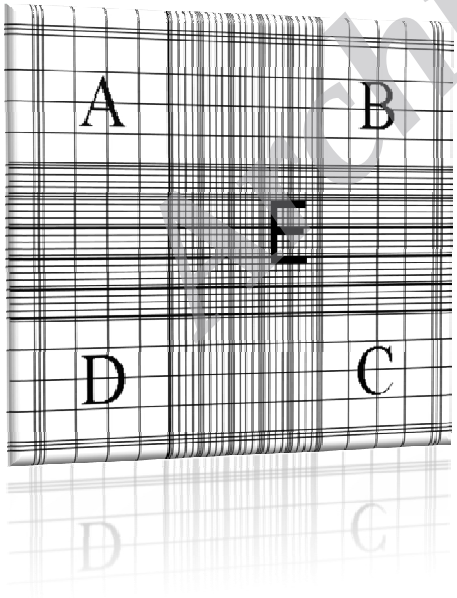
4-5- مخلوط ایجاد شده برای اینکه یکنواخت شود به آرامی چندین بار پیپتاژ شد.

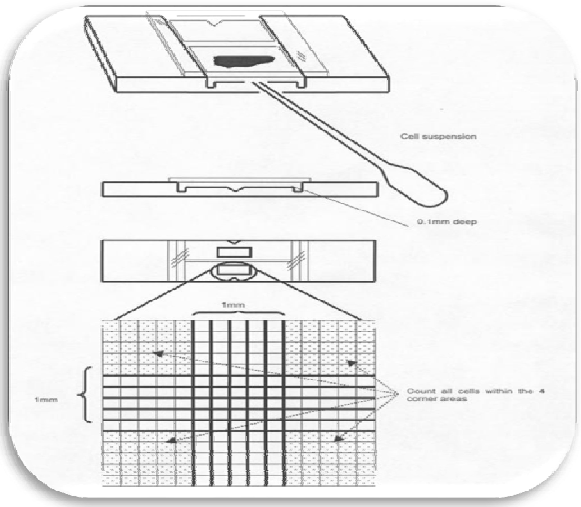
4-6- 12 µlit از مخلوط فوق برداشته شده و نوک سمپلر در محل تلاقی لامل سنگی و لام نئوبار قرار داده شد.

4-7- به آرامی و به دقت به صورتی که حباب هوا تشکیل نشود، مخلوط رنگی وارد محفظه شمارش لام نئوبار شد.

4-8- لام نئوبار دارای 2 جایگاه در بالا و پایین برای شمارش سلول می باشد.

4-9- هر جایگاه به 9 مربع 1×1میلی متری تقسیم شده است.






Archive of SID
www.SID.ir

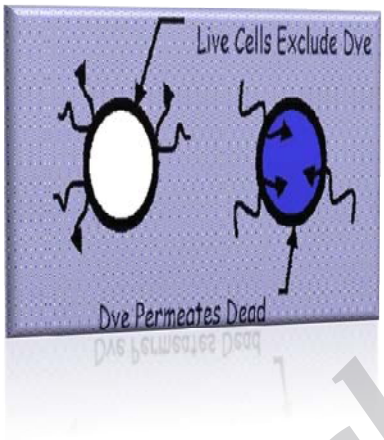
مربع هایی را که با حروف&E,A,B,C,D نامگذاری شده اند محل شمارش سلول ها هستند.4 مربع(A-D) مربع دارای 16 خانهبوده و مربع E که در مرکز لام قراردارد دارای 25 خانه است.

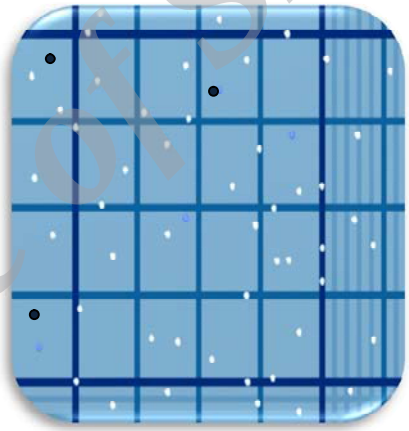
4-10- حاشیه های آن با خطوطه 3 تایی مشخص گردیده است.

4-11- برای شمارش سلول ها ، لام نئوبار زیر میکروسکوپ قرار داده شده و با بزرگنمایی ۱۰X مشاهده شد.

4-12- مطابق شکل زیر، سلول های زنده به صورت گرد، شفاف و با قابلیت عبور نور دیده شدند.سلولهای مرده به رنگ آبی بودند.

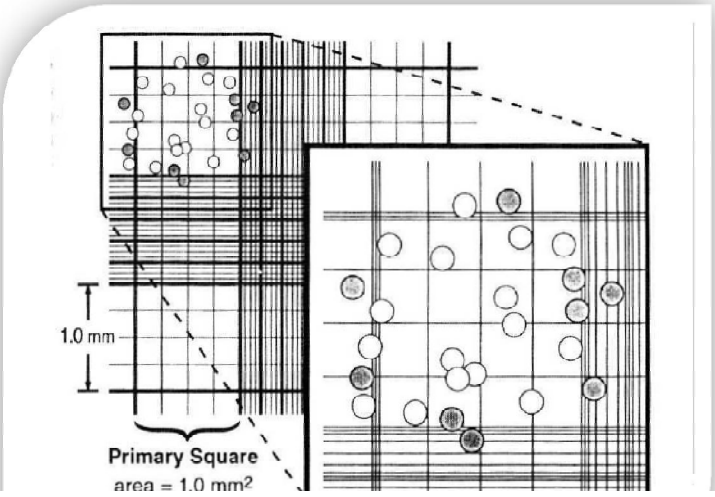
4-13- تمامی سلولهای موجود (زنده + مرده) در این 5 مربع شمارش شدند.



4-14- م

طابق شکل سلولهای واقع شده درلبه های سمت بالا و راست شمرده شده و سلول های قرار گرفته بر روی لبه های چپ و پایین شمارش نشدند.




Archive of SID

www.SID.ir

4-15- برای به دست آوردن غلظت کل سلول ها در هر میلی لیترسوسپانسیون سلولی از فرمول زیر استفاده گردید:

$$\text{عکس ضریب رقت} \times 10^4 \times \frac{\text{تعداد کل سلولهای زنده و مرده شمارش شده در 5 مربع}}{5}$$

4-16- برای حصول دقت بیشتر در شمارش میتوان چاهک بالایی لام را نیز از سوسپانسیون سلولی رنگ شده پر نمود و مربع های آن نیز شمارش شوند. بدیهی است در این حالت تعداد کل سلول ها بر 10 تقسیم شد.

4-17- در صورتیکه که تعداد سلولهای شمارش شده در 5 مربع از 200 سلول بیشتر باشد به علت ایجاد خطا در شمارش،سوسپانسیون سلولی توسط تریپان بلو رقیق تر شد. (رقت 1/4، 1/5 ویا 1/10 تهیه شد).

4-18- توصیه می شود شمارش سلول ها در کمتر از 3 دقیقه پس از مخلوط کردن سوسپانسیون سلولی با تریپان بلو انجام گیرد. پس از گذشت این زمان غشای سلولهای زنده نیز به تریپان بلو نفوذ پذیر می شود و باعث ایجاد خطا در هنگام آزمون خواهد بود.

پس از پایان کار لام نئوبار و لامل با اتانول 70% شستشو شد و با گاز غیر استریل خشک شد و در محفظه قرار داده شد و سپس هود بیولوژیک کلاس II با الکل 70% ، اسپری میکروزید و اسپری Mycoplasmaoff به طور کامل ضد عفونی شد.

## 5- روش بررسی آلودگینمونه های سلولی به مایکوپلاسما:

### 5-1- روش تهیه محلولها و معرفهای مورد نیاز:



Archive of SID

www.SID.ir

**5-1-1. تهیه استوکمحلولرنگیهوخستباحجمنهایی10ml:**

**5-1-1-1.** ۰.۵mg پودر(H۳۳۲۵۸) Bisbenzimideتوزینشده وبهبشرمناسبحاوی مگنت مناسب منتقل شد.

**5-1-1-2.** ۱۰mlبافرPBSبه بشراضافه شده وبررویهیتراستیرربادورمناسببهمدت۳۰min قرار داده شد.

**5-1-1-3.** محلولآمادهشدهبینتعدادیمیکروتیوب1.5mlاستریلتوزیع و بهفریزر۲۰-C منتقل شد.

**5-1-2. تهیهHoechst Working Solution(رقت1:100) باحجمنهایی 10ml:**

**5-1-2-1.** 100µlitازاستوکمحلولرنگیهوخستبهبشرمناسبحاوی مگنت مناسب منتقل میگردد.

**5-1-2-2.** ۹.۹mlبافرPBSبهبشراضافه شده وبررویهیتراستیرربادورمناسببهمدت۱۵min قرار داده شد.

**5-1-3. تهیهمحلولفیکساتیوغلیظ((V/V)اسیداستیک1: متانول3) باحجمنهایی10ml:**

**5-1-3-1.** داخلیکظرف مناسب،7.5mlمتانول با ۲.۵mlاسید استیک گلاسیال مخلوط شد.

**5-1-4. تهیه محلولفیکساتیو (رقت1:23 ) با حجم نهایی23ml:**

**5-1-4-1.** داخلیکظرف مناسب،۱mlمحلولفیکساتیوغلیظبه۲۲mlبافرPBSاضافهشد.

**5-1-5. تهیه محلول$Na_2HPO_4$(0.2M) (باحجمنهایی5ml:**

**5-1-5-1.** داخلیکظرف مناسب،0.142grازپودر$Na_2HPO_4$در5mlآبمقطردیونیزهحلشد.

**5-1-6. تهیه محلولCitric Acid (0.1M)(باحجمنهایی5ml:**

**5-1-6-1.** داخلیکظرف مناسب،۰.۱grپودراسیدسیتریک در۵mlآبمقطردیونیزهحلشد.

**5-1-7. تهیهMounting Medium با حجم نهایی10ml:**

**5-1-7-1.** داخل یک ظرف حاوی مگنت مناسب ، 2.۲۲mlمحلولاسیدسیتریک(0.1M)،2.۷۸mlمحلول(۰.۲M)$Na_2HPO_4$و۵mlگلیسرولریخته شد.

**5-1-7-2.** بشربهمدت15minبررویهیتراستیرربادورمناسب قرار داده شد.

**5-1-7-3.** pHمحلولباافزودنچندقطرهمحلولHCl(1N)برروی5.5تنظیمشد.

**5-1-7-4.** محلول آماده شدهبینچندمیکروتیوب1.5mlاستریل توزیعوبهفریزر20º C-منتقل گردید.

**5-2- روش انجام تست:**



Archive of SID

www.SID.ir

**5-2-1-1.** 2 تا 3 روز قبل از آزمایش یک رده سلولی غیر آلوده به مایکوپلاسما (به عنوان کنترل منفی) و یک رده سلولی آلوده به مایکوپلاسما (به عنوان کنترل مثبت) کشت داده شدند.

**5-2-2.** روز آزمایش زیر هود لامینار کلاس II و در شرایط آسپتیک و با استفاده از پنس استریل ، یک لامل شیشه ای استریل درهر یک از پتری دیش های 35mm که برای کنترل منفی و مثبت و نمونه ها در نظر گرفته شده است قرار داده شد.

**5-2-2-1.** ۲ml محیط کشت DMEM حاوی 10 درصد FBS و(2Mm)L-Glnبه هریک از پتری دیش های ۳۵mm آماده شده در مرحله قبل، اضافه گردید.

**5-2-2-2.** 0.۵ml از سوسپانسیون یکنواخت سلولی آماده شده از کنترل مثبت، منفی و هر یک از نمونه ها به پتری دیش های مربوطه اضافه شد و پتری دیش ها ازنظر تراکم و پراکندگی یکنواخت سلولی مورد بررسی میکروسکوپی قرار گرفتند. پتری دیش هابه مدت یک روز در انکوباتور $CO_2$ ، 37°C دار انکوبه شدند.

**5-2-3.** یک روز پس از انکوباسیون، پتری دیش ها از انکوباتورخارج شده و پس از بررسی وضعیت سلولها از لحاظ میکروسکوپی، محیط کشت موجود در آنها تخلیه گردید.بلافاصله پس از تخلیه محیط به همه پتری دیش ها 2ml از محلول فیکساتیو تازه با رقت 1:23 اضافه گردید.

**5-2-3-1.** پتری دیش ها به مدت ۵min در شرایطRT انکوبه شدند.محلول فیکساتیو تخلیه و به همه پتری دیش ها 2ml محلول فیکساتیو تازه غلیظ اضافهگردید.

**5-2-4.** پتری دیش ها به مدت ۱۰min در شرایط RT انکوبه شدند.محلول فیکساتیو تخلیه شده و اجازه داده شد تا لاملها در مجاورت هوا خشک شوند.

**5-2-5.** ۲ml از محلول کار هوخست تازه (HoechstWorkingSolution) بارقت ۱:۱۰۰ به هر یک از پتری دیش ها اضافه گردید.

**5-2-6.** پتری دیش ها به مدت ۳۰min درتاریکی و شرایط RT انکوبه شدند.پس از طی زمان مورد نیاز برای رنگ آمیزی، محلول رنگی تخلیه شده و به منظور حذف بقایای رنگ هوخست، پتری دیش ها 3 بار با ۲mlآبمقطر شستشو داده شدند.



Archive of SID

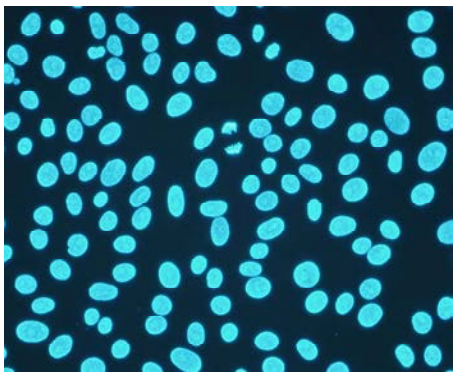
www.SID.ir

**5-2-7.** پس از آخرین شستشو، آب مقطر موجود در پتری دیش ها تخلیه شده و اجازه داده شد تا لاملها در مجاورت هوا کاملاً خشک شوند.به تعداد لاملها، لام برداشته شده و مشخصات هر نمونه جداگانه بر روی لام مربوطه حک گردید.

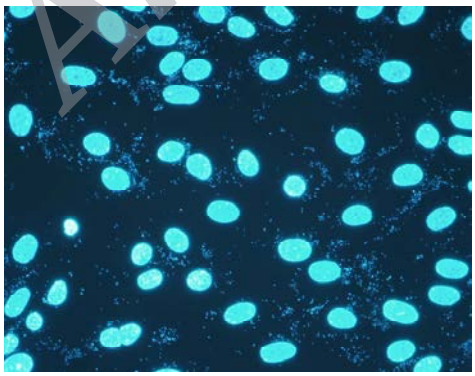
**5-2-8.** یک قطره ازmediumMounting بر روی هر لام قرار داده و لاملها از سطحی که سلولها بر روی آن فیکس شده اند، بر روی لام ثابت شدند.بررسی میکروسکوپی لامها با استفاده از میکروسکوپ فلورسنت با بزرگنمایی ۶۰۰-۴۰۰ و فیلتر شماره 1 انجام گرفت.

## 5-3- تفسیر آزمایش:

درلام سلولهای آلوده به مایکوپلاسما، سلولها در کل لام بصورت یکنواخت پراکنده بودند و هسته آنها به رنگ سبز- آبی دیده می شد و ذرات مایکوپلاسما بصورت نقاط ریز شفاف با قطر 0.1-1.0µm در اطراف سلولها مشاهده شدند.



تصویر 5 - سلول غیرآلوده به مایکوپلاسما



تصویر 6- سلول آلوده به مایکوپلاسما



Archive of SID

www.SID.ir

**4-5- گزارش و محدوده طبیعی برای آزمایش مورد نظر:**

مشاهده هسته سلولها به رنگ سبز – آبی

عدم مشاهده ذرات ریز شفاف اطراف سلولها

## 6- روشانجامMultiplex PCRبرایتشخیصگونههایجانوری

در این روش ناحیه مشخص و حفظ شده ای از ژنوم میتوکندری به روش PCR تکثیر شده و بر اساس طول این ناحیه که در گونه های مختلف متفاوت می باشد نوع گونه تعیین می گردد. ناحیه حفظ شده ای که این پرایمرها در این آزمایش تکثیر می نمایند CytochromeC Oxidase subunit I (COI) در ژنوم میتوکندری می باشد. جفت پانزدهم پرایمرها، ناحیه مشترک ۱۸SrRNA را در این چهارده گونه مختلف تکثیر می نماید که Internalcontrol نامیده می شود. توالی پرایمرهای طراحی شده برای شناسایی گونه شتر که به شرکت Sigma سفارش داده شد، به صورت زیر می باشد.(Jason K. Cooper., et al.۲۰۰۷)

Forward Primer: ٥´-TCC CCT GCC ATA CTG TGA GCC CTT G-٣´

Reverse Primer: ٥´-TGG AGG ACA TCC GTG CAG TCA CTC T-٣´

### 6-1- تهیه رقت از DNA

به این صورت که نمونهDNA های گونه های جانداران مختلف و نمونه مجهولباید غلظتی به میزان حداقل 100 نانوگرم در هر میکرولیتر و یا جذب نوری معادل 2 داشته باشد. در صورت غلیظ بودن نمونه ها می توان به نسبت 2:1 و یا به نسبت های دیگر رقیق شده تا OD نهایی در این محدوده قرار گیرد.

### 6-2- تهیه محلول های مور نیاز:



Archive of SID

www.SID.ir

ساخت نمونه Mix (SampleMix): باداشتنDNA با غلظت حداقل 100 نانوگرم در میکرولیتر از هریک از نمونه ها، 2 میکرولیتر از هر نمونه به یک میکروتیوب منتقل شد و بخوبی با سمپلر مخلوط گردید.

**روش تهیه پرایمرهای استوک و پرایمر های working:** به هر یک از ویال های لیوفیلیزه دارای پرایمر بر حسب میزان آبی که روی هر ویال توسط شرکت مربوطه نوشته شده است، آب مقطر تزریقی اضافه شد و بخوبی با سمپلر مخلوط گردید. در این مرحله غلظت هر ویال 100 µM بود. این ویالها بعنوان Stocksolution در 20- درجه سانتی گراد نگهداری می شدند. برای تهیه Workingsolution مقدار 5 میکرولیتر از استوک پرایمر برداشته شدو به یک ویال تمیز دیگر منتقل گردید. حجم نهائی این ویال توسط آب مقطر تزریقی به حجم100 µl رسانده شد. بنابراین غلظت هریک از پرایمرهای Forward دراین ویال جدید 5 µM شد.

1-2-6. **روش تهیه Primer F(mix) و Primer R (mix):** بر اساس غلظت های داده شده در زیر برای پرایمر های مربوط به هر جانور و بر اساس ارقام داده شده برای غلظت نهایی هریک از پرایمرهای Forward ، مقدار بدست آمده از فرمول $C_1V_1=C_2V_2$ درون یک ویال تمیز و مقادیر بدست آمده برای پرایمرهای Reverseدرون یک ویال تمیز دیگر ریخته شد.

$C_1$:غلظت پرایمردر محلول working

$V_1$: حجمی از پرایمر که از محلول میکس workingبرداشته و به تیوب واکنش افزوده شد که مطابق پیش فرض ۲µl در نظر گرفته شد.

$C_2$: غلظت پرایمر در مخلوط نهایی واکنش



Archive of SID

www.SID.ir

$V_2$: حجم نهایی واکنش PCR که 50µl بود.

در نهایت با افزودن انواع پرایمرهای F حجم نهایی با آب مقطر تزریقی به ۱۰۰µl رسانده شد. همین روند برای پرایمرهای R نیز انجام گرفت. در نهایت دو MixF وR الیکه شده و در فریزر 20- درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

**مثال:** برای پرایمری که غلظت نهایی آن باید ٤۰۰nM باشد، به روش زیر عمل می شود:

مطابق فرمول $C_1V_1=C_2V_2$

$C_1$: غلظت پرایمر working در محلول Primer (mix): مجهول

$V_1$: حجم لازم از پرایمر working: 2µl

$V_2$: حجم نهایی محلول واکنش PCR: 50µl

$C_2$: غلظت نهایی پرایمر در محلول واکنشی PCR: ٤۰۰nM و یا 0.4µM

$C1\times2=0.4\times50$، که در اینصورت غلظت پرایمر working در محلول Primer (mix)،۱۰µM می باشد.

و سپس،

$C_1$: غلظت پرایمر Stock:۱۰۰µM

$V_1$: حجم لازم از پرایمر Stock: مجهول

$V_2$: حجم محلول Primer (mix): ۱۰۰ µl

$C_2$: غلظت پرایمر working در محلول Primer (mix): ۱۰µM



Archive of SID

www.SID.ir

$\times V1 = 100\ \mu l \times 10\mu M / 100\mu M$،

که در اینصورت حجم لازم پرایمر Stock، 10 µl می باشد.(جدول 2)

جدول2 : غلظت نهائی هر یک از پرایمرها در محلول working با توجه به میزان پرایمر استفاده شده از محلول stock در حالت monoplexPCR.

| ردیف | گونه حیوانی | غلظت Stock. S | غلظت نهائیپرایمر در واکنش PCR | مقدار آب در working. S | مقدار پرایمر برداشت شده از Stock. S | حجم نهائی working. S | طول قطعه حاصل از PCR |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | pig | 100 µM | 200 nM | 18 µl | 2 µl | 20 µl | 460 |
| 2 | human | 100 µM | 100 nM | 19 µl | 1 µl | 20 µl | 391 |
| 3 | cat | 100 µM | 200 nM | 18 µl | 2 µl | 20 µl | 341 |
| 4 | Ch. Hamster | 100 µM | 200 nM | 18 µl | 2 µl | 20 µl | 315 |
| 5 | Rhesus monkey | 100 µM | 400 nM | 16 µl | 4 µl | 20 µl | 287 |



Archive of SID

www.SID.ir

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 267 | 20 µl | 2 µl | 18 µl | 200 nM | 100 µM | sheep | **6** |
| 243 | 20 µl | 2 µl | 18 µl | 200 nM | 100 µM | horse | **7** |
| 222 | 20 µl | 4 µl | 16 µl | 400 nM | 100 µM | Grreen Monkey | **8** |
| 196 | 20 µl | 1 µl | 19 µl | 100 nM | 100 µM | rat | **9** |
| 172 | 20 µl | 2 µl | 18 µl | 200 nM | 100 µM | dog | **10** |
| 150 | 20 µl | 1.4 µl | 18.6 µl | 140 nM | 100 µM | mouse | **11** |
| 136 | 20 µl | 2 µl | 18 µl | 200 nM | 100 µM | rabbit | **12** |
| 117 | 20 µl | 2 µl | 18 µl | 200 nM | 100 µM | goat | **13** |
| 102 | 20 µl | 2 µl | 18 µl | 200 nM | 100 µM | cow | **14** |
| 70 | I 20 | 0.4 µl | 19.6 µl | 40 nM | 100 µM | IC (Internal Control) | **15** |

## 3-6- نحوه ساختن محلول واکنشی PCR

| | نام ماده | نمونه Mix | نمونه مجهول |
|---|---|---|---|
| 1 | dNTP ۱۰ mM | ۱ µl | ۱ µl |
| 2 | MgCl۲ ۵۰ mM | ۲µl | ۲µl |
| 3 | Primer Forward mix | ۲µl | ۲µl |
| 4 | Primer Reverse mix | ۲ µl | ۲ µl |
| 5 | ۱۰x Buffer | ۵µl | ۵µl |
| 6 | H۲Od.d. | ۲۷.۷µl | ۳۳.۷µl |



Archive of SID

www.SID.ir

| | | | |
|---|---|---|---|
| 7 | نمونه مجهول | - | 8 µl |
| 8 | Taq DNA polymerase | ۰.۳µl | ۰.۳µl |
| 9 | نمونهmultiplex mix | ۸µl | - |
| | جمع کل | ۵۰µl | ۵۰µl |

**4-6- برنامه ترموسایکلر برای انجام PCRmultiplex افتراق گونه ها**

1) واسرشتی اولیه: 95 درجه سانتی گراد ..... 5 دقیقه
2) 94 درجه سانتی گراد .....30 ثانیه
3) 57.9 درجه سانتی گراد ..... 15 ثانیه
4) 72 درجه سانتی گراد .....30 ثانیه
5) طویل شدن نهایی 72 درجه سانتی گراد..... 5 دقیقه

مراحل1 و 5 ، یک سیکل و مراحل2 تا 4 نیز30 سیکل تکرار شدند.

**5-6- مشاهده بر روی ژل**

بعد از اتمام کار دستگاه، نمونه ها از دستگاه بیرون آورده شد و در یخچال نگهداری می شد و یا برای مشاهده روی ژل، رنگ آمیزی شده و نتایج ثبت شد.

**6-6- تفسیر آزمایش:**

بر اساس قطعات مشاهده شده درهر چاهک و تطابق آن با قطعات موجود درچاهک مربوط به نمونه استاندارد حضور DNA مربوط به آن گونه جانوری نشان داده شد.

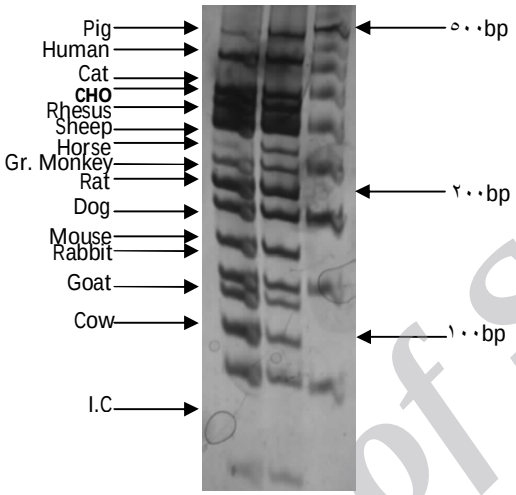
**7-6- گزارش و محدوده طبیعی برای آزمایش مورد نظر:**



Archive of SID

www.SID.ir

در صورت مشاهده دو یا چند باند، مشخص می‌شود که نمونهآلوده به گونه (های) جانوری دیگری هم بوده است. در تصویر 7 نتیجه دو ران بر روی ژل که در آن ژنوم کلیه گونه ها وجود داشت در کنار مارکر اندازه برای تایید نشان داده شده است.




تصویر 7- این شکل نتیجهMultiplex PCR دو ران جداگانه رابه منظور بررسی تکرار پذیر بودن تست نشان می دهد. که تمامی باندها در هر دو ران وجود دارند.

**7- روش فریز رده های سلولی فیبروبلاستی:**

7-1- ابتدا هود بیولوژیک کلاس II با الکل 70% ، اسپری میکروزید و اسپری Mycoplasmaoff ضدعفونی شده و آماده کار شد.

7-2- کلیه محلول ها و محیط های کشت مورد نیاز از یخچال فریزر خارج شده و توسط بن ماری به دمای ۳۷□C رسانده شد.

7-3- سطح ظروف حاوی کلیه محلول ها و محیط های کشت و وسایل قبل از قرار دادن زیر هود بیولوژیک با الکل 70% ضد عفونی شدند.



Archive of SID

www.SID.ir

7-4- فلاسک حاوی رده سلولی موردنظر از داخل انکوباتور خارج شده پس از ضدعفونی کردن سطح زیرین فلاسک با الکل 70%، به زیر هود بیولوژیک منتقل شد.

نکته: قبل از انجام مراحل فریز از منفی بودن نتیجه تست مایکوپلاسما اطمینان حاصل می شود. برای این منظور درطی مراحل پاساژ قبل از فریز سلولها با ارسال نمونه از منفی بودن نتایج تست های سه گانه مایکوپلاسما (رنگ آمیزی هوخست،کشت مستقیم و PCR) اطمینان حاصل می شود.

نکته: قبل از انجام مراحل فریز از تایید نتیجه آزمون تشخیص گونه ها به روش مولکولی اطمینان حاصل می شود.

نکته: : قبل از انجام مراحل فریز از منفی بودن نتیجه آزمون بررسی آلودگی باکتریایی و قارچی رده سلولی اطمینان حاصل می شود.

نکته : در صورت مشکوک بودن نتیجه تست ها ،فلاسک کشت اوت می شود.

7-5- زیر هود بیولوژیک کلاس II و تحت شرایط آسپتیک در فلاسک باز شد. به کمک pipetteaid و توسط پی پت محیط کشت قدیمی موجود در فلاسک از سطح رویی آنها خارج شد.

در صورت استفاده از فلاسک $25\ cm^2$، به کمکpipetteaid و توسط پی پت 5 ml محلول PBS(1X) درون فلاسک ریخته شده و پس از آغشته شدن تمامی سطح فلاسک با این محلول، توسط همان پی پت محلول خارج می شود. 2 ml محلول (۱X) Trypsin- EDTA به فلاسک 25 $cm^2$اضافه شده و فلاسک ها به مدت 3 دقیقه در انکوباتور $CO_2$ انکوبه شدند.

- در صورتی که رده سلولی حساس به تریپسین باشد، برای جدا کردن سلولها از کف فلاسک از روش مکانیکی استفاده می شود. برای این منظور بسته پلمپ حاوی cellscraper پس از



Archive of SID

www.SID.ir

ضدعفونی با الکل 70%در زیر هود باز شده و با گرفتن نوک دسته آن، وارد فلاسک شده و با کشیدن جارویی cellscraper از بالا به پایین فلاسک، سلولها از کف ظرف جدا می شوند.

7-6- پس از بررسی جدا شدن سلول ها در زیر میکروسکوپ اینورت، به کمک پی پت، سوسپانسیون سلولی برای هموژن کردن چندین بار پی پتاژ شد.

فلاسک ها از انکوباتور خارج گردید و با زدن چند ضربه آرام به کف فلاسک، به کنده شدن سلول ها از کف فلاسک کمک شد و سپس فلاسک ها زیر میکروسکوپ Invert مشاهده شدند.

به منظور غیر فعال کردن Trypsin- EDTA (۱X) حدود 4 ml محیط کشت حاوی 10درصد سرم به فلاسک $25\ cm^2$ اضافه شد.

7-7- سلول ها به آرامی چند بار در مخلوط تریپسین و محیط کشت پیپتاژ شدند.

محتویات درون فلاسک به یک لوله فالکون 15 ml استریل منتقل شد.

سلول ها به مدت 10 دقیقه در سانتریفوژ با دور ۱۸۰۰rpm در دمای 4ºC سانتریفوژ شدند.

7-8- لوله فالکون پس از ضدعفونی کردن به زیر هود منتقل و سپس مایع رویی به کمک پی پت اوت شد. لوله فالکون در ظرف حاوی یخ که قبلا سطح خارجی آن با الکل 70% ضدعفونی شده، قرار داده شد. با توجه به رسوب سلولی، حجم معینی ازFBS به رسوب سلولی اضافه شد. به عنوان مثال اگر رسوب سلولی دارای مقدار کمی سلول باشد حدود 2 ml سرم به رسوب اضافه می شود. در صورت زیاد بودن حجم رسوب مقدار بیشتری سرم به آن اضافه می شود.

7-9- با چند بار پیپتاژ کردن سلول ها در سرم افزوده شده به لوله فالکون، سوسپانسیون هموژنی تهیه شد.

نکته: به دلیل درصد بالای پروتئین در سرم، پیپتاژ کردن سوسپانسیون سلولی با اهستگی انجام گرفت.



Archive of SID

www.SID.ir

با عنوان دستور العمل شمارش سلولی و تعیین viability رده های سلولی، درصد viability و تعداد سلول های موجود در سوسپانسیون سلولی محاسبه شدند.

7-10- با توجه به غلظت کل سلولها و غلظت سلولی مورد نظر در کرایو ویال، تعداد کرایو ویال مشخص شد.

نکته: غلظت سلول در کرایو ویال می تواند بین 5-1 میلیون سلول در هر میلی متر باشد. باتوجه به غلظت کل سلول ها و بسته به نوع کار غلظت سلول در هر کرایو ویال مشخص می شود.

**مثال:** برای تنظیم غلظت سلولها در هر کرایو ویال به مقدار $2\times10^6$Cell/ml به روش زیر عمل می شود.

- غلظت سلول در هر میلی لیتر= $5\times10^6$Cell/ml
- حجم سوسپانسیون سلولی= 4ml

غلظت کل سلولها: $2\times10^6$Cell/ml

با استفاده از یک تناسب ساده تعداد کرایو ویالی که غلظت آن $2\times10^6$Cell/ml باشد، به دست می آید.

$$\frac{20\times10^6\text{Cell/ml}}{2\times10^6\text{ Cell/ml}} = 10\text{ویال}$$

با توجه به تعداد کرایوویال محیط فریز حاوی 10درصد DMSO و90درصد FBS آماده شد.

7-11- پس از اینکه کل مقدار مورد نیاز از سرم به سوسپانسیون سلولی اضافه گردید، به وسیله پی پت سوسپانسون به آرامی پی پتاژ شد به صورتیکه که کاملا هموژن شد و کف هم ایجاد نشد.

DMSOمورد نیاز به آرامی و قطره قطره در حالیکه ویال در ظرف یخ تکان داده می شد، به فالکون اضافه گردید.



Archive of SID

www.SID.ir

نکته: سمی بودن DMSOبرای سلول در دماهای پایین کاهش می یابد به همین علت قویا توصیه می شود افزودن DMSO به سلول در حالتی باشد که ویال سلولی در ظرف حاوی یخ باشد.

در خاتمه برچسب فریز سلول حاوی اطلاعاتی نظیر: نام رده سلولی،غلظت سلول و(IBRCC---) کد مخصوص سلول برروی کرایو ویال ها چسبانده شد.

**نمونه برچسب:**

12-7- به وسیله یک دست درب کرایو ویال باز شده و به کمک پی پت، 1 میلی لیتر از مخلوط تهیه شده داخل کرایو ویال ریخته شد و درب کرایوویال محکم بسته شد.

| | |
|---|---|
| ***CaBa ۰۱***<br>**Conc:۱×۱۰^۶ Cell/ml**<br>**Date:۹۱/۱۱/۲** | ***IBRC C۱۰۰۴۸*** |

سپس کرایوویال ها در کرایوباکس چینده شد و به مدت یک ساعت در فریزر ۲۰°C- قرار داده شدند.

13-7- سپس کرایوباکس از فریزر ۲۰°C- خارج شد و بلافاصله به فریزر ۷۰°C- منتقل گردید و یک روز سلول ها در همین وضعیت نگه داشته شدند.

در نهایت کرایوویال ها از فریزر ۷۰°C- خارج شده و در تانک ازت در جایگاه مورد نظر قرار داده شدند.



Archive of SID

www.SID.ir

# نتایج و بحث

Archive of SID



www.SID.ir

## نتایج:

1 . مراحل نمونه گیری:

مطالعات گسترده ای در خصوص مناطق پراکنش شتر دوکوهانه در ایران انجام گرفت. بر اساس این تحقیقات استانم اردبیل به عنوان موطن اصلی شتر دوکوهانه مشخص گردید. اما مشخص شد که در استانهای دیگر کشور هم شتر دوکوهانه به تعداد معدودی پرورش داده می شود. با همکاری کارشناسان وزارت جهاد کشاورزی مشخص شد که تعداد محدودی شتر دوکوهانه در استان البرز پرورش داده می شوند و برای تنظیم و بهینه سازی مراحل نمونه گیری تا تولید رده سلولی شترهای این استان به علت همجواری با تهران و دسترسی بهتر برای نمونه گیری انتخاب شدند. با توجه به جمعیت و گله های محدود شتر دوکوهانه ای که در این استان پرورش می یابند و همچنین اپتیمایز کردن مراحل آزمایشگاهی، تعداد 6 نفر شتر دوکوهانه برای نمونه گیری انتخاب شدند. نمونه گیری با رعایت نکات ذکر شده در بخش مواد روشها انجام گرفت. نمونه های بافت پس پانچ از بافت گوش داخل فالکون حاوی محیط کشت به همراه آنتی بیوتیک قرار گرفته و در شرایط دمایی 4 درجه سانتیگراد به آزمایشگاه انتقال داده شدند.(تصویر 8)

در آزمایشگاه پس از شتشوی نمونه ها با محلول PBS و انتقال به پتری حاوی محیط کشت DMEM وآنتی بیوتیک، پتری ها به انکوباتور $CO_2$ با دمای 37 درجه منتقل شدند. روند رشد و تکثیر سلولها و کنترل آلودگی هر پتری به روش های ماکروسکوپی و میکروسکوپی مورد بررسی قرار گرفت. پس از حدود 14 روز از شروع کشت اولیه، پتری هایی که در آنها رشد و تکثیر سلولی از بافت به خوبی انجام گرفته و کف بستر را پوشانده بود، پاساژ داده شدند. مجددا پس از گذشت حدود 4 الی 5 روز و تکثیر سلولها به میزان مناسب و پر شدن کف بستر، سلولها پاساژداده شدند.



Archive of SID

www.SID.ir

تصویر 8 – مراحل پانچ و برداشت نمونه از بافت گوش

پس از دو مرحله پاساژ بدون استفاده از آنتی بیوتیک و عدم مشاهده آلودگی های میکروبی و باکتریایی، رده سلولی از نمونه ها تولید گردید. هیچکدام از شش نمونه فوق آلودگی نشان نداده و همگی به میزان مناسب تکثیر و فریز شده و با مشخصات ذیل ثبت شدند. با توجه به انجام یک دوره کامل فعالیتهای آزمایشگاهی و تولید رده سلولی،برنامه ریزی برای آغاز مرحله اصلی طرح و نمونه گیری های جدید انجام گرفت.

نظر به اینکه موطن اصلی شتر دوکوهانه در کشور استان اردبیل می باشد، این استان برای نمونه گیری در مرحله دوم طرح انتخاب گردید. در این زمینهبرای انجام نمونه گیری، مذاکراتی با موسسه تحقیقات جهاد کشاورزی و جهاد دانشگاهی استان اردبیل صورت گرفت و با همکاری جهاد دانشگاهی استان اردبیل نمونه



Archive of SID

www.SID.ir

گیریها انجام گرفت. برای داشتن بالاترین تنوع ژنتیکی بین نمونه ها، علاوه بر نمونه گیری از شتر های دوکوهانه دو ایستگاه تحقیقاتی استان اردبیل، از گله های مردمی این استان نیز نمونه گیری بعمل آمد. بدین منظور ابتدا از شترهای دوکوهانه ایستگاه های تحقیقاتی این استان و سپس از گله های مردمی نمونه گیری انجام گرفت.

| *Cell No.* | *Cell name* | *General character* | *Animal* | *Genus* | *Species* | *Gender* | *Age at sampling* | *Tissue derived* |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| IBRC C١٠٠٤٨ | CaBa٠١ | Camel skin fibroblast | Camel | *Camelus* | *bactrianus* | Female | ١ Years | Skin |
| IBRC C١٠٠٦٠ | CaBa٠٢ | Camel skin fibroblast | Camel | *Camelus* | *bactrianus* | Female | ١ Years | Skin |
| IBRC C١٠٠٦٢ | CaBa٠٤ | Camel skin fibroblast | Camel | *Camelus* | *bactrianus* | Male | ١ Years | Skin |
| IBRC C١٠٠٦٣ | CaBa٠٣ | Camel skin fibroblast | Camel | *Camelus* | *bactrianus* | Male | ١ Years | Skin |
| IBRC C١٠٠٦٤ | CaBa٠٥ | Camel skin fibroblast | Camel | *Camelus* | *bactrianus* | Female | ١ Years | Skin |
| IBRC C١٠٠٦٥ | CaBa٠٠٢ | Camel skin fibroblast | Camel | *Camelus* | *bactrianus* | Male | ١ Years | Skin |

جدول 3- مشخصات رده های سلولی اولیه شتر دوکوهانه

برای نمونه گیری از گله های مردمی با راهنمایی کارشناسان وزارت جهاد کشاورزی به کلیه مناطق پراکنش این دام در استان مراجعه و از شترها نمونه گیری به عمل آمد. عمده روستاییان و عشایری که به پرورش و نگهداری شتر دوکوهانه می پردازند در مناطق شمالی این استان نظیر اصلاندوز، جعفر آباد، پارس آباد و بیله سوار زندگی می کنند. شروع نمونه گیری از منطقه اصلاندوز و روستاهای اطراف آغاز شد که در این منطقه و در روستاهایی نظیر اصیلو و کچیاشلاقی از تعداد 9 نفر شتر دوکوهانه نمونه برداری به عمل آمد. سپس با همراهی یکی از کارشناسان جهاد کشاورزی برای معرفی دیگر شتر داران استان، تعداد 11 نفر شتر دوکوهانه موجود در دو منطقه قشلاقی اطراف شهرستان جعفرآباد نمونه گیری شدند و بدین ترتیب از کلیه شترهای دوکوهانه موجود در این



Archive of SID

www.SID.ir

منطقه، نمونه گیری بعمل آمد. در خاتمه از تعداد 12 نفر شتر دوکوهانه، تنها پرورش دهنده این دام در منطقه بیله سوار نمونه گیری به عمل آمد. با توجه به نمونه گیری از 32 نفر شتر دوکوهانه و تقریبا کل منطقه پراکنش آن در استان اردبیل،تقریباحدود 90% از شترهای دوکوهانه استان نمونه گیری بعمل آمد. در جدول تاریخ، تعداد، مشخصات و تعداد نمونه ها از مناطق مختلف ذکر شده است.(جدول 4)

| تاریخ نمونه گیری | محل نمونه گیری | تعداد نمونه | جنس شتر دوکوهانه | | تعداد رده های سلولی تولید شده |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | نر | ماده | |
| **1389/8/28** | استان البرز (گله شخصی) | 6 | 3 | 3 | 6 |
| **1391/10/14** | مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی جهاد آباد مشکین شهر | 10 | 5 | 5 | 1 |
| **1391/10/15** | ایستگاه پرورش و اصلاح نژاد جعفر آباد مغان | 11 | 5 | 6 | 10 |
| **1392/2/21** | استان اردبیل (گله های شخصی) | 32 | 11 | 21 | 30 |
| **1392/7/20** | مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی جهاد آباد مشکین شهر | 12 | 5 | 7 | 10 |
| **مجموع** | | 71 | 29 | 42 | 57 |

جدول 4 – مشخصات و دفعات و محل نمونه گیری و تعداد رده های سلولی تولید شده

نمونه گیری با رعایت کلیه موارد ذکر شده در بخش مواد و روشها انجام گرفت. مشخصات کلیه شترهایی که از آنها نمونه گرفته شد شامل سن، جنس، پدر و مادر و عکس برای درج در شناسنامه سلولی و دامی اخذ گردید.

### 2. تولید رده سلولی:

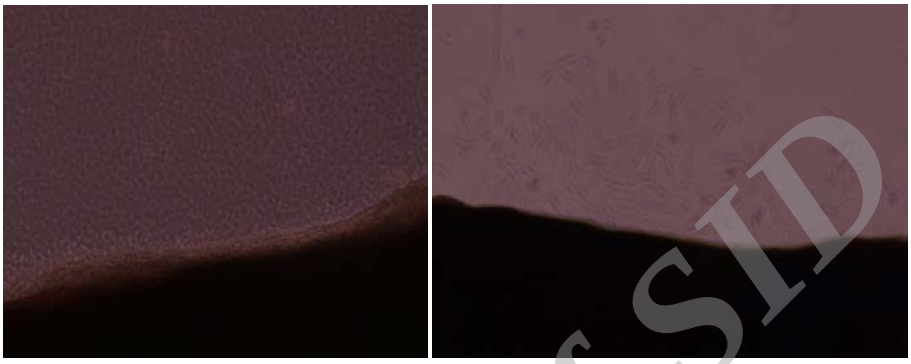
پس از کشت، پاساژ و تکثیر سلولها، نمونه های مناسب باید برای تولید رده سلولی در تانک ازت ذخیره شوند. نمونه هایی برای ذخیره سازی و تولید رده سلولی مناسب هستند که حداقل دوبار بدون آنتی بیوتیک پاساژ داده شده باشند و فاقد آلودگی های میکروبی، باکتریایی و ... بوده و همچنین به تعداد مناسب تکثیر شده باشند. هر



Archive of SID

www.SID.ir

نمونه به میزان حدودا 10 میلیون سلول تکثیر گردید، تا بتوان آن را در 10 ویال با غلظت یک میلیون سلول در تانک ازت فریز کرد (شکل9).(Shen, Y.X., and Zheng, J. ۱۹۸۳)(Park, M.C., et al. ۲۰۰۹)



شکل 9- تصویر سلولها در مراحل مختلف کشت و پاساژ

در کل مراحل طرح از تعداد 71نفر شتر دوکوهانه نمونه گیری بعمل آمد، سلول های 57نفر شتر دوکوهانه به میزان مناسب تکثیر شده و فاقد آلودگی بودند و در نتیجه از آنها 57 رده سلولی شتر دوکوهانه تولید گردید. هر رده سلولی در 10 ویال ذخیره شده و در هر ویال ml1 میلی لیتر که حاوی 1 میلیون سلول است با غلظت یک میلیون سلول در تانک ازت ذخیره شد. هر رده سلولی دارای اسم سلول و یک کد می باشد که اسامی رده های سلولی شتر دوکوهانه مطابق جدول 3 به صورت CaBa ۰۱ الی CaBa٦٥ می باشد، که این مشخصات در سایت مرکز ملی ذخایر ژنتیکی درج شده است. ضمنا لازم است در فواصل زمانی دو هفته، شش ماه و یک سال پس از فریز ، قدرت احیا سلولها با آزمایش سنجش viability مورد بررسی قرار گیرد.

در طی مراحل آزمایشگاهی تعداد 14 نمونه به علت بروز آلودگی و عدم تکثیر حذف شدند. تعداد 57 رده سلولی تولید گردید که این رده ها کلیه تست های کنترل کیفی و آلودگی را گذرانده و مورد تائید قرار گرفتند. برای کلیه رده های سلولی تولیدی شناسنامه سلولی و حیوانی تهیه گردید. تست های کنترلی آلودگی به



Archive of SID

www.SID.ir

مایکوپلاسما به روشهای کشت مستقیم و PCR، کشت میکروبی برای تست آلودگی های میکروبی و قارچی و تستهای تائید گونه جانوری برای کلیه رده های سلولی انجام گرفت. کلیه مشخصات شتر های دوکوهانه شامل: سن، رنگ، تاریخ تولد، پدر، مادر و همچنین مشخصات کلی این نژاد در شناسنامه حیوانی به همراه تصویر درج گردید.(جدول 5)

همچنین بررسی قابلیت پذیرش یا انتقال Transfection و بیان ژن در این سلولها با استفاده از وکتورهای ویروسی و آنالیز نتایج انتقال با کمک GFP انجام گرفت. این روش در زمینه انتقال ژن، اصلاح نژاد و تولید حیوانات ترانس ژن در آینده کاربرد دارد. میزان انتقال و بیان ژن در سلولهای شتر دوکوهانه حدود 85% تخمین زده شد که در مقایسه با رده های سلولی دیگر قابلیت انتقال، پذیرش و بیان بیشتری را نشان داد. (Park, F. et al. ۲۰۰۷)(Nakayama, A. et al.۲۰۰۷)

**3. مورفولوژی سلول:**

بعد از گذشت 9-7 روز از کشت اولیه بافت گوش ، سلولهای فیبروبلاستی و اپیتلیالی شروع به رشد و مهاجرت کردند. در مقایسه با سلولهای اسب کاسپین و گوسفند که دراین مرکز از آنها رده سلولی تولید گردید، سلولهای شتر دوکوهانه از سرعت رشد و تکثیر کمتری برخوردار بودند. بعد از اینکه تراکم سلولی به حدود 80% رسید سلولها پاساژ داده شدند. بعد از مرحله پاساژ سرعت تکثیر سلولهای فیبروبلاتی بیشتر از سلولهای اپیتلیالی بوده و جمعیت غالب سلولی به سلولهای فیبروبلاستی تغییر یافت و بعد از پاساژسوم فقط سلولهای فیبروبلاستی در کف فلاسک دیده می شد. سلولهای فیبروبلاستی دوکی شکل بودند. در محیط کشت برای کلیه رده های سلولی از سرم گاوی استفاده شد. تعداد کل سلولها و سلولهای زنده نیز با رنگ آمیزی با محلول تریپان بلو مورد بررسی قرار گرفت که قبل از فریز 98% و بعد از فریز و دفریز سلولها 95% سلولها زنده بودند.



Archive of SID

www.SID.ir

### 4. منحنی رشد:

سلولهای فیبروبلاست شتر دوکوهانه در یک محیط کشت DMEM همراه با 10% FBS و 1% L-Glutamine و تحت دمای 37 درجه سانتیگراد و دی اکسید کربن 5% کشت داده شدند. روند رشد سلولی هر روز مورد بررسی قرار گرفته و مشخص شد که رشد سلولهای شتر دوکوهانه کندتر از دیگر سلولهای فیبروبلاستی جانوران نظیر اسب و گوسفند می باشد. منحنی رشد برای این سلولها درج شده و شکل آن به صورت 'S' بود. زمان Doublingtime برای این سلولها حدود 26 ساعت برآورد گردید.

### 5. تست های کنترل کیفی:

تست کنترل آلودگی برای کلیه رده های سلولی انجام گرفت و تعداد11 رده سلولی به مایکوپلاسما آلوده بودند که حذف گردیدند. نتایج تست مایکوپلاسما برای 57 رده سلولی به سه روش، منفی گزارش گردید. این نتایج با سه روش رنگ امیزی هوخست، MultiplexPCR و کشت مستقیم مورد تائید قرار گرفت. روش PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی 6 سویه رایج مایکوپلاسما به نامهای *Mycoplasma orale, Mycoplasma hyorhinis, Mycoplasma arginini, Mycoplasma fermentans, Mycoplasma hominis, Mycoplasma bovis and Acholeplasma laidlawii* انجام گرفت و هیچ کدام از 57 رده سلولی باندی را مبنی بر وجود مایکوپلاسما در محیط نشان ندادند. برای انجام روش رنگ آمیزی DNA یا هوخست، ابتدا 3 روز قبل از آزمایش سلولهای غیر آلوده به مایکوپلاسما (به عنوان سلول نمایشگر) و یک رده سلولی آلوده به مایکوپلاسما (به عنوان کنترل مثبت) کشت داده شدند. در روز آزمایش زیر هود بیولوژیک کلاس II و در شرایط آسپتیک و با استفاده از پنس استریل، یک لامل شیشه ای استریل درهر یک از پتری دیش های ۳۵mm که برای کنترل منفی و مثبت و نمونه ها در نظر گرفته شده است، قرار داده شدند.سپس۲ml محیط کشت DMEM حاوی 10درصدFBS، L-Gln(۲Mm) و $cells/ml5\times10^3$ سوسپانسیون سلولی (سلول نمایشگر) آماده شده به هریک از پتری دیش های ۳۵mm آماده شده در مرحله قبل، اضافه گردید. پس از انکوبه کردن پتری دیش ها در ۳۷°Cو انکوباتور$CO_2$ دار، یک روز پس از کشت سلول نمایشگر، پتری دیش ها از انکوباتورخارج شده و محیط کشت قدیمی موجود در آنها تخلیه گردید.2.۵ml محیط کشت به



Archive of SID

www.SID.ir

پتری دیش کنترل منفی و۲ml محیط کشت DMEM به بقیه پتری دیش ها اضافه شد. ۰.۵ml از سوسپانسیون و یا سوپرناتانت سلولی آماده شده از کنترل مثبت و هر یک از نمونه ها به پتری دیش های مربوطه اضافه گردید. پس از اتمام کار پتری دیش ها به انکوباتور۳۷°C، ۲CO دار منتقل شدند. پنج روز پس از تلقیح نمونه ها و انکوباسیون آنها در انکوباتور ۲COدار ، پتری دیش ها از انکوباتور خارج شده و از لحاظ میکروسکوپی مورد بررسی قرار گرفتند. مایع رویی همه پتری دیش ها تخلیه شده و بلافاصله به آنها ۲ml محلول فیکساتیو تازه با رقت ۱:۲۳ اضافه شد. پتری دیش ها به مدت ۵min در شرایطRT انکوبه شدند و محلول فیکساتیو تخلیه و به همه پتری دیش ها ۲ml محلول فیکساتیو تازه غلیظ اضافه گردید. بعد از انکوبه کردن پتری دیش ها به مدت ۱۰min، محلول فیکساتیو تخلیه و لاملها در مجاورت هوای خشک قرار گرفتند.۲ml از محلول کار هوخست تازه (HoechstWorkingSolution) بارقت ۱:۱۰۰ به هر یک از پتری دیش ها اضافه شد. پتری دیش ها به مدت 30min درتاریکی و شرایط RT انکوبه شدند و پس از طی زمان مورد نیاز برای رنگ آمیزی، محلول رنگی تخلیه شده و به منظور حذف بقایای رنگ هوخست، پتری دیش ها 3 بار با ۲mlآب مقطر شستشو شدند. پس از آخرین شستشو، آب مقطر موجود در پتری دیش ها تخلیه و لاملها در مجاورت هوا کاملاً خشکشدند. به تعداد لاملها، لام برداشته و مشخصات هر نمونه جداگانه بر روی لام مربوطه حک گردید. یک قطره ازmediumMounting بر روی هر لام ریخته و لاملها از سطحی که سلولها بر روی آن فیکس شده اند، بر روی لام ثابت شدند. بررسی میکروسکوپی لامها با استفاده از میکروسکوپ فلورسنت با بزرگنمایی ۶۰۰-۴۰۰ و فیلتر شماره 1 انجام گرفت.

درلام سلولهای آلوده به مایکوپلاسما، سلولها در کل لام بصورت یکنواخت پراکنده بودند و هسته آنها به رنگ سبز- آبی دیده می شد و ذرات مایکوپلاسما بصورت نقاط ریز شفاف با قطر 0.1-1.۰µm در اطراف سلولها مشاهده می شدند.

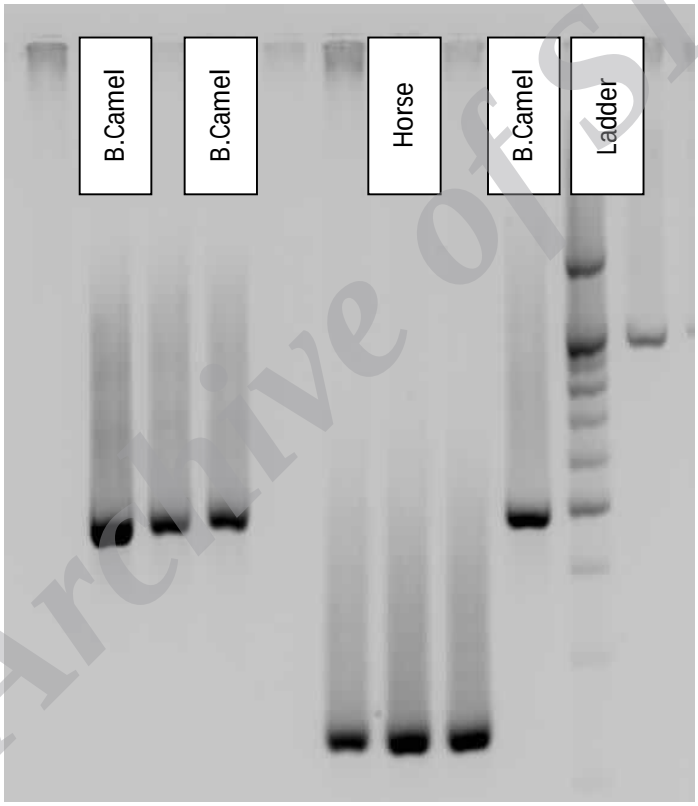
6. تعیین گونه جانوری:



Archive of SID

www.SID.ir

آنالیز تائید گونه جانوری با استفاده از پرایمرهای اختصاصی هر موجود در قطعه ای از سیتوکروم C اکسیداز DNA میتوکندریائی مورد بررسی قرار گرفت. در این آنالیز که به کمک واکنشهای PCR انجام گرفت، گونه شتر دوکوهانه با طول باند ۵۰۰bp، در بین گونه های شتر، گاو، گوسفند، گربه، سگ، خوک، میموم، میمون سبز افریقائی، همستر، جوجه و انسان مورد تائید قرار گرفت.




شکل 12– باند مربوط به نمونه ای از شتردوکوهانه و مقایسه با نمونه اسب

جدول 5 – لیست رده های سلولی تولید شده شتر دوکوهانه



Archive of SID
www.SID.ir

| *Cell No.* | *Cell name* | *General character* | *Animal* | *Genus* | *Speices* | *Gender* | *Age at sampling* |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **IBRC C١٠٠٤٨** | CaBa٠١ | Camel skin fibroblast | Camel | *Camelus* | *bactrianus* | Female | ١ Years |
| **IBRC C١٠٠٦٠** | CaBa٠٢ | Camel skin fibroblast | Camel | *Camelus* | *bactrianus* | Female | ١ Years |
| **IBRC C١٠٠٦٢** | CaBa٠٤ | Camel skin fibroblast | Camel | *Camelus* | *bactrianus* | Male | ١ Years |
| **IBRC C١٠٠٦٣** | CaBa٠٣ | Camel skin fibroblast | Camel | *Camelus* | *bactrianus* | Male | ١ Years |
| **IBRC C١٠٠٦٤** | CaBa٠٥ | Camel skin fibroblast | Camel | *Camelus* | *bactrianus* | Female | ١ Years |
| **IBRC C١٠٠٦٥** | CaBa٠٠٢ | Camel skin fibroblast | Camel | *Camelus* | *bactrianus* | Male | ١ Years |
| **IBRC C١٠٢٧٧** | CaBa٠٦ | Camel Skin Fibroblast | Camel (٩٣١٩٣) | *Camelus* | *bactrianus* | Male | ١ years |
| **IBRC C١٠٢٧٨** | CaBa٠٧ | Camel Skin Fibroblast | Camel (٩٣٢٠٠) | *Camelus* | *bactrianus* | Female | ٣ years |
| **IBRC C١٠٢٧٩** | CaBa٠٨ | Camel Skin Fibroblast | Camel (٩٣١٩٧٥) | *Camelus* | *bactrianus* | Male | ١ years |
| **IBRC C١٠٢٨٠** | CaBa٠٩ | Camel Skin Fibroblast | Camel (٩٣١٩٦) | *Camelus* | *bactrianus* | Female | ٢ years |
| **IBRC C١٠٢٨١** | CaBa١٠ | Camel Skin Fibroblast | Camel (٩٣١٩١) | *Camelus* | *bactrianus* | Female | ٣ years |
| **IBRC C١٠٢٨٢** | CaBa١١ | Camel Skin Fibroblast | Camel (١٣٠٩٠) | *Camelus* | *bactrianus* | Female | ٤ years |
| **IBRC C١٠٢٨٣** | CaBa١٢ | Camel Skin Fibroblast | Camel (٩٣١٩٤) | *Camelus* | *bactrianus* | Male | ٧ years |
| **IBRC C١٠٢٨٤** | CaBa١٣ | Camel Skin Fibroblast | Camel (٩٣١٩٨) | *Camelus* | *bactrianus* | Male | ١ years |
| **IBRC C١٠٢٨٨** | CaBa١٧ | Camel Skin Fibroblast | Camel (Mehri) | *Camelus* | *bactrianus* | Female | ١٣ years |



Archive of SID

www.SID.ir

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **IBRC C۱۰۲۹۷** | CaBa۲۳ | Camel Skin Fibroblast | Camel (۹۳۱۹۵) | *Camelus* | *bactrianus* | Male | ٤ years |
| **IBRC C۱۰۲۹۸** | CaBa۲٤ | Camel Skin Fibroblast | Camel (۹۳۱۹۷۰) | *Camelus* | *bactrianus* | Female | ۱ years |
| **IBRC C۱۰۳۱۷** | CaBa۲٥ | Camel Skin Fibroblast | Camel (۲۹٥۳۹) | *Camelus* | *bactrianus* | Female | ۳ years |
| **IBRC C۱۰۳۱۸** | CaBa۲٦ | Camel Skin Fibroblast | Camel (۲۹٥۳۸) | *Camelus* | *bactrianus* | Male | ۱ years |
| **IBRC C۱۰۳۱۹** | CaBa۲۷ | Camel Skin Fibroblast | Camel (۲۹٥۳۷) | *Camelus* | *bactrianus* | Female | ۱ years |
| **IBRC C۱۰۳۲۰** | CaBa۲۸ | Camel Skin Fibroblast | Camel (۲۹٥۲٥) | *Camelus* | *bactrianus* | Male | ۱ years |
| **IBRC C۱۰۳۲٦** | CaBa۲۹ | Camel Skin Fibroblast | Camel (۲۹٥۱۸) | *Camelus* | *bactrianus* | Male | ۸ years |
| **IBRC C۱۰۳۲۷** | CaBa۳۰ | Camel Skin Fibroblast | Camel (۲۹٥۱۷) | *Camelus* | *bactrianus* | Female | ۱٤ years |
| **IBRC C۱۰۳۲۸** | CaBa۳۱ | Camel Skin Fibroblast | Camel (۲۹٥۲۷) | *Camelus* | *bactrianus* | Female | ۹ years |
| **IBRC C۱۰۳۲۹** | CaBa۳۲ | Camel Skin Fibroblast | Camel (۲۹٥۹۳) | *Camelus* | *bactrianus* | Female | ۳ years |
| **IBRC C۱۰۳۳۰** | CaBa۳۳ | Camel Skin Fibroblast | Camel (۲٤۱۷) | *Camelus* | *bactrianus* | Male | ٥ years |
| **IBRC C۱۰۳۳۱** | CaBa۳٤ | Camel Skin Fibroblast | Camel (۲۹٥۸٤) | *Camelus* | *bactrianus* | Female | ٤ years |
| **IBRC C۱۰۳۳۲** | CaBa۳٥ | Camel Skin Fibroblast | Camel (۲۹٥۹۲) | *Camelus* | *bactrianus* | Male | ۲ years |
| **IBRC C۱۰۳۳۳** | CaBa۳٦ | Camel Skin Fibroblast | Camel (۲۹٥۸۱) | *Camelus* | *bactrianus* | Female | ٤ years |
| **IBRC C۱۰۳۳٤** | CaBa۳۷ | Camel Skin Fibroblast | Camel (۲٤٦۳) | *Camelus* | *bactrianus* | Female | ٦ years |
| **IBRC C۱۰۳۳٥** | CaBa۳۸ | Camel Skin Fibroblast | Camel (۲۹٥۰۲) | *Camelus* | *bactrianus* | Male | ٦ years |
| **IBRC** | CaBa۳۹ | Camel Skin | Camel (۲۹٥۰۹) | *Camelus* | *bactrianus* | Female | ۳ years |



Archive of SID

www.SID.ir

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| C۱۰۳۳۶ | | Fibroblast | | | | | |
| **IBRC C۱۰۳۳۷** | CaBa٤٠ | Camel Skin Fibroblast | Camel (٢٩٥٠٦) | *Camelus* | *bactrianus* | Male | ١ years |
| **IBRC C۱۰۳۳۸** | CaBa٤١ | Camel Skin Fibroblast | Camel (٢٦٨٩٠٣) | *Camelus* | *bactrianus* | Female | ٣ years |
| **IBRC C۱۰۳۳۹** | CaBa٤٢ | Camel Skin Fibroblast | Camel (٢٦٨٩٠١) | *Camelus* | *bactrianus* | Female | ٥ years |
| **IBRC C۱۰۳٤۰** | CaBa٤٣ | Camel Skin Fibroblast | Camel (٢٩٥٦٥) | *Camelus* | *bactrianus* | Male | ٣ years |
| **IBRC C۱۰۳٤۱** | CaBa٤٤ | Camel Skin Fibroblast | Camel (٢٩٥٦٢) | *Camelus* | *bactrianus* | Female | ٧ years |
| **IBRC C۱۰۳٤۲** | CaBa٤٥ | Camel Skin Fibroblast | Camel (٢٦٨٩٠٥) | *Camelus* | *bactrianus* | Female | ٣ years |
| **IBRC C۱۰۳٤۳** | CaBa٤٦ | Camel Skin Fibroblast | Camel (٢٩٥٦١) | *Camelus* | *bactrianus* | Female | ٥ years |
| **IBRC C۱۰۳٤٤** | CaBa٤٧ | Camel Skin Fibroblast | Camel (٢٩٥١٤) | *Camelus* | *bactrianus* | Male | ٤ years |
| **IBRC C۱۰۳٤۷** | CaBa٤٩ | Camel Skin Fibroblast | Camel (٢٠٥٩٣٨٩) | *Camelus* | *bactrianus* | Female | ٥ years |
| **IBRC C۱۰۳٤۸** | CaBa٥٠ | Camel Skin Fibroblast | Camel (٢٠٥٩٣٨٨) | *Camelus* | *bactrianus* | Female | ٦ years |
| **IBRC C۱۰۳٤۹** | CaBa٥١ | Camel Skin Fibroblast | Camel (١٣٠٣١) | *Camelus* | *bactrianus* | Female | ٧ years |
| **IBRC C۱۰۳٥۰** | CaBa٥٢ | Camel Skin Fibroblast | Camel (٢٩٥٢٨) | *Camelus* | *bactrianus* | Female | ٦ years |
| **IBRC C۱۰۳٥۱** | CaBa٥٣ | Camel Skin Fibroblast | Camel (٢٤٨١) | *Camelus* | *bactrianus* | Male | ٩ years |
| **IBRC C۱۰۳٥۲** | CaBa٥٤ | Camel Skin Fibroblast | Camel (٢٩٥٣٥) | *Camelus* | *bactrianus* | Female | ٢ years |
| **IBRC C۱۰۳٥۳** | CaBa٥٥ | Camel Skin Fibroblast | Camel (٢٩٥٢٦) | *Camelus* | *bactrianus* | Male | ١ years |
| **IBRC C۱۰۳۹** | CaBa٥٦ | Camel Skin Fibroblast | Ghashgha (٢) | *Camelus* | *bactrianus* | Female | ١٣ years |



Archive of SID

www.SID.ir

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ۹ | | | | | | | |
| **IBRC C۱۰۴۰۰** | CaBa۵۷ | Camel Skin Fibroblast | Katrin (۳) | *Camelus* | *bactrianus* | Female | ۱ year |
| **IBRC C۱۰۴۰۱** | CaBa۵۸ | Camel Skin Fibroblast | Ghare chai (٤) | *Camelus* | *bactrianus* | Female | ۱ year |
| **IBRC C۱۰۴۰۲** | CaBa۵۹ | Camel Skin Fibroblast | Moharam (۷) | *Camelus* | *bactrianus* | Male | ۲ years |
| **IBRC C۱۰۴۰۳** | CaBa٦۰ | Camel Skin Fibroblast | Oja boghor (۸) | *Camelus* | *bactrianus* | Male | ۲ years |
| **IBRC C۱۰۴۰٤** | CaBa٦۱ | Camel Skin Fibroblast | Ghare boghor (۱۰) | *Camelus* | *bactrianus* | Male | ۲ years |
| **IBRC C۱۰۴۰۵** | CaBa٦۲ | Camel Skin Fibroblast | Maryam (۱۱) | *Camelus* | *bactrianus* | Female | ٤ years |
| **IBRC C۱۰۴۰٦** | CaBa٦۳ | Camel Skin Fibroblast | Sari boghor (۱۲) | *Camelus* | *bactrianus* | Male | ۳ years |
| **IBRC C۱۰۴۱٦** | CaBa٦٤ | Camel Skin Fibroblast | Maya chai (۵) | *Camelus* | *bactrianus* | Female | ۱۳ years |
| **IBRC C۱۰۴۱۷** | CaBa٦۵ | Camel Skin Fibroblast | Elizabet (٦) | *Camelus* | *bactrianus* | Female | ۱ year |

Archive of SID



www.SID.ir

**بحث:**

در این پروژه کلیه نکات بهداشتی در طی مراحل نمونه گیری تا مراحل آزمایشگاهی و فریز رده های سلولی به خوبی رعایت گردید. به غیر از یکی از مراحل نمونه گیری در بقیه مراحل کمترین میزان آلودگی در نمونه های گرفته شده مشاهده شد. در اولین مرحله نمونه گیری از شترهای دوکوهانه ایستگاه تحقیقاتی جهاد آباد مشکین شهر از تعداد 10 نمونه بافت پوست، 7 نمونه به علت بروز آلودگی باکتریایی و 2 نمونه بعلت عدم تکثیر حذف گردیدند. یکی از مهمترین عوامل برای این تعداد آلودگی می تواند ناشی از آلودگی محل نمونه گیری و یا آلوده بودن دام و انتقال آن به فالکون های حاوی نمونه باشد.

پس از اتمام مراحل آزمایشگاهی طرح و تولید موفقیت آمیز بیش از 50 رده سلولی، یک ذخیره ارزشمند و پایا به منظور حفاظت و ثبت این گونه ارزشمند و در خطر انقراض کشور ایجاد گردیده است. همچنین با ثبت مشخصات رده های سلولی شتر دوکوهانه در بانک سلولی یک منبع ارزشمند برای انجام تحقیق و پژوهش در دسترس دانشمندان، محققین و دانشجویان کشور قرار گرفته است. علاوه بر این ثبت مشخصات رده های سلولی شتر دوکوهانه کمک شایانی به تثبیت و هویت دادن تنوع زیستی کشور می نماید. نتایج این پروژه تایید می کند که بافت گوش شتر دوکوهانه قابلیت مناسبی برای تکثیر و دستیابی به رده های سلولی فیبروبلاستی به منظور حفاظت از ذخایر ژنتیکی دامی دارد. همچنین تولید رده سلولی شتر دوکوهانه منجر به تهیه و ارائه کلکسیون تمام نشدنی و کافی از DNA این نژاد شتر دوکوهانه در معرض انقراض می شود. این منبع تمام نشدنی ماده خام آزمایشی سهل الوصول و ارزشمندی میباشد، که در دسترس کلیه پژوهشگران، محققین و دانشجویان قرار دارد.



Archive of SID

www.SID.ir

کلکسیون سلولی ایجاد شده با توجه به در دسترس بودن و همچنین دشوار بودن نمونه گیری از این دام وبا توجه به روند سریع انقراض جمعیتهای دامی در جهان بعنوان یک پشتوانه و در جهت حفاظت از ذخایر ژنتیکی نقش مهمی را ایفا می کند. همچنین زمینه مناسب، ارزان، آسان و قانونمندی را برای ارائه نمونه های سلولی به محققان و دانشجویان فراهم می کند.

نتایج تحقیق مشخص می کند که جمع آوری سلولهای سوماتیک در مقایسه با اسپرم، جنین و تخمک روشی آسان، ارزان، مطمئن و در دسترس برای محققان و مراکز تحقیقاتی، برای حفاظت از ذخایر ژنتیکی بومی کشور می باشد. هر چند مطالعات انجام گرفته در ارتباط با بررسی قابلیتها و کاربردهای هر کدام از موارد فوق، لزوم ذخیره سازی سلولهای زایا نظیر اسپرم و تخمک و همچنین جنین را در شرایط فرا سرد لازم می داند.

با استفاده از رده های سلولی تولیدی و انجام مطالعات تکمیلی می توان قابلیت انتقال و بیان ژن در این سلولها را مورد بررسی قرار داد. با توجه به گزارشات متعددی که در خصوص سلولهای فیبروبلاستی منتشر شده است، این رده سلولی می تواند منبع مناسبی برای انجام مطالعات تکمیلی برای ایجاد شتر های تراریخته و یا با خصوصیات فنوتیپی و ژنوتیپی خاص باشد.

تولید رده سلولی از جانوران اهلی برای اهداف مختلف صورت می گیرد. در پژوهشی Zhou و همکاران در سال 2009 اقدام به تولید یک رده سلولی از یک نژاد اسب پونی به نام Debao نمودند. برای این رده سلولی تست های کنترل کیفی و عدم آلودگی و تایید گونه جانوری و زمان تکثیر مورد بررسی و آنالیز قرار گرفت. بانک سلولهای شتر دوکوهانه که در مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران ایجاد شده است نیازمند تجهیزات و تکنولوژی پیچیده نیست ولی ذخیره ژنتیکی بسیار ارزشمندی است. از این تجهیزات و تکنیکها در مراکز پژوهشی مختلف در جهان برای تهیه و تولید ردهو بانک سلولی استفاده می شود. در مرحله اول باید امکانات



Archive of SID

www.SID.ir

نگهداری، کشت، پاساژ و فریز سلول فراهم شود. اما نکته مهمتر که در مرحله دوم قرار دارد انتخاب گونه و نژاد مناسب برای نمونه گیری است. رده سلولی از نژادهای در خطر انقراض از گونه های مختلف شامل گاو، اسب، گوسفند، بز، موش و ببر در کشورهای مختلف تولید گردیده است. لازم به ذکر است که در اکثر پروژه ها تعداد محدودی رده سلولی تولید شده در حالیکه در این پروژه بیش از 50 رده سلولی تولید گردیده است که منبع کاملی از نمونه های شتر دوکوهانه را در اختیار دانشجویان و محققین قرار می دهد..(Liu, C., et al. ۲۰۰۸.)(Ma, Y.H., et al. ۲۰۰٤.)(Ren, F.L., et al. ۲۰۰۲.)

مهمترین بخش پس از تامین امکانات لازم برای کشت، فریز سلول و انتخاب گونه مناسب، انتخاب و اجرای روشهای استاندارد شناخت سلول و تشخیص آلودگی های آن برای تولید رده سلولی فیبروبلاستی خالص و پاک و عاری از آلودگی به میکروارگانیسمها و رده های سلولی دیگر است. در نتیجه باید آلودگی های باکتریایی، قارچی و انگلی در کلیه مراحل کشت، پاساژ و فریز سلول مورد بررسی و کنترل قرار گیرند.در این تحقیق تست های کنترل کیفی سلول و تشخیص آلودگی برای کلیه رده های سلولی انجام گرفت و ازاین جهت این پروژه را در مقایسه با پژوهشهای دیگر متمایز می کند.

Archive of SID



www.SID.ir

**تشکر و قدردانی:**

از آقایان مهندس معبودی، مهندس بدلی وند و مهندس کرمی از کارشناسان وزارت جهاد کشاورزی استان اردبیل به سبب همراهی و همکاری بی دریغ در کلیه مراحل نمونه گیری از ایستگاه های تحقیقاتی و گله های مردمی استان اردبیل، تشکر و قدردانی می شود.

همچنین از ریاست محترم جهاد دانشگاهی استان اردبیل و کارشناسان این مرکز به سبب همراهی در نمونه گیری از شتر های دوکوهانه استان اردبیل، قدردانی می شود.

از کلیه همکاران در مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران خصوصا بانک سلولهای انسانی و جانوری برای انجام این پروژه تشکر و قدردانی می شود.

Archive of SID



www.SID.ir

# ضمیمه

Archive of SID



www.SID.ir

**ضمائم:**

در این بخش به ترتیب شناسنامه سلولی و شناسنامه حیوانی و تصویر تهیه شده برای هر رده سلولی و شترهای دوکوهانه نمونه گیری شده درج می گردد. در شناسنامه سلولی مشخصاتی نظیر مورفولوژی سلول، محیط کشت، شرایط کشت و تکثیر و فریز، نوع بافت و دام نمونه گیری شده و نتایج تست های کنترل کیفی درج شده است.همانطور که اشاره شد برای هر شتر دوکوهانه نمونه گیری شده یک شناسنامه حیوانی تهیه شده که در این شناسنامه مواردی چون تصویر دام، شماره و اسم شتر، اسم پدر و مادر، تاریخ و محل تولد و مشخصات فنوتیپی شتر دوکوهانه درج شده است.

Archive of SID



www.SID.ir

# شناسنامه سلولی

Archive of SID



www.SID.ir

## ۱. CaBa ۰۱ Cell Certificate

| | |
|---|---|
| **Cell line name:** | CaBa۰۱ |
| **Cell line type:** | Camel skin fibroblast |
| **Accession Cell No:** | IBRC C۱۰۰٤۸ |
| **Organism:** | *Camelus bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Summary:** | Established from skin explant culture of a normal ۱ year old female bactrian camel. This cell iscryopreserved atthe third passage. |
| **Morphology:** | Fibroblast-like |
| **Medium:**<br>**Subculture:** | DMEM + ۲mM L-Glutamine + ۱۰% Fetal Bovine Serum (FBS)<br>Split sub-confluent cultures (۷۰-۸۰%) ۱:۲, using ۰.۲٥% Trypsin; ۰.۰۲% EDTA |
| **Incubation:** | At ۳۷°C with ٥% $CO_۲$ |
| **Storage:** | ۹۰%FBS +۱۰% DMSO at about ۱-۲ × $۱۰^{٦}$ cells/vial |
| **Mycoplasma:** | Negative |
| **Bacteria/fungi:** | Negative |
| **Inter species identification:** | Confirmed as camel by PCR method |
| **Release condition:** | General |

Archive of SID



www.SID.ir

## ۲. CaBa ۰۲ Cell Certificate

| | |
|---|---|
| **Cell line name:** | CaBa۰۲ |
| **Cell line type:** | Camel skin fibroblast |
| **Accession Cell No:** | IBRC C۱۰۰۶۰ |
| **Organism:** | *Camelus bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Summary:** | Established from skin explant culture of a normal ۱ year old female bactrian camel. This cell is cryopreserved at the third passage. |
| **Morphology:** | Fibroblast-like |
| **Medium:**<br>**Subculture:** | DMEM + ۲mM L-Glutamine + ۱۰% Fetal Bovine Serum (FBS)<br>Split sub-confluent cultures (۷۰-۸۰%) ۱:۲, using ۰.۲۵% Trypsin; ۰.۰۲% EDTA |
| **Incubation:** | At ۳۷°C with ۵% $CO_2$ |
| **Storage:** | ۹۰%FBS +۱۰% DMSO at about ۱-۲ × $۱۰^۶$ cells/vial |
| **Mycoplasma:** | Negative |
| **Bacteria/fungi:** | Negative |
| **Inter species identification:** | Confirmed as camel by PCR method |
| **Release condition:** | General |

Archive of SID



www.SID.ir

## ۳. CaBa ۰٤ Cell Cell Certificate

| | |
|---|---|
| **Cell line name:** | CaBa۰٤ |
| **Cell line type:** | Camel skin fibroblast |
| **Accession Cell No:** | IBRC C۱۰۰٦۲ |
| **Organism:** | *Camelus bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Summary:** | Established from skin explant culture of a normal ۱ year oldmale bactrian camel. This cell is cryopreserved at thethirdpassage. |
| **Morphology:** | Fibroblast-like |
| **Medium:**<br>**Subculture:** | DMEM + ۲mM L-Glutamine + ۱۰% Fetal Bovine Serum (FBS)Split sub-confluent cultures (۷۰-۸۰%) ۱:۲, using ۰.۲٥% Trypsin; ۰.۰۲% EDTA |
| **Incubation:** | At ۳۷°C with ٥% $CO_۲$ |
| **Storage:** | ۹۰%FBS +۱۰% DMSO at about ۱-۲ × $۱۰^٦$ cells/vial |
| **Mycoplasma:** | Negative |
| **Bacteria/fungi:** | Negative |
| **Inter species identification:** | Confirmed as camel by PCR method |
| **Release condition:** | General |

Archive of SID



www.SID.ir

## ٤. CaBa ٠٣ Cell Certificate

| | |
|---|---|
| **Cell line name:** | CaBa٠٣ |
| **Cell line type:** | Camel skin fibroblast |
| **Accession Cell No:** | IBRC C١٠٠٦٣ |
| **Organism:** | *Camelus bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Summary:** | Established from skin explant culture of a normal ١year old male bactrian camel. This cell is cryopreserved at the third passage. |
| **Morphology:** | Fibroblast-like |
| **Medium:**<br>**Subculture:** | DMEM + ٢mM L-Glutamine + ١٠% Fetal Bovine Serum (FBS)<br>Split sub-confluent cultures (٧٠-٨٠%) ١:٢, using ٠.٢٥% Trypsin; ٠.٠٢% EDTA |
| **Incubation:** | At ٣٧°C with ٥% $CO_٢$ |
| **Storage:** | ٩٠%FBS +١٠% DMSO at about ١-٢ × $١٠^٦$ cells/vial |
| **Mycoplasma:** | Negative |
| **Bacteria/fungi:** | Negative |
| **Inter species identification:** | Confirmed as camel by PCR method |
| **Release condition:** | General |

Archive of SID



www.SID.ir

## ۵. CaBa ۰۵ Cell Certificate

| | |
|---|---|
| **Cell line name:** | CaBa۰۵ |
| **Cell line type:** | Camel skin fibroblast |
| **Accession Cell No:** | IBRC C۱۰۰٦٤ |
| **Organism:** | *Camelus bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Summary:** | Established from skin explant culture of a normal ۱ year old female bactrian camel. This cell is cryopreserved at the thirdpassage. |
| **Morphology:** | Fibroblast-like |
| **Medium:**<br>**Subculture:** | DMEM + ۲mM L-Glutamine + ۱۰% Fetal Bovine Serum (FBS)<br>Split sub-confluent cultures (۷۰-۸۰%) ۱:۲, using ۰.۲۵% Trypsin; ۰.۰۲% EDTA |
| **Incubation:** | At ۳۷°C with ۵% $CO_2$ |
| **Storage:** | ۹۰%FBS +۱۰% DMSO at about ۱-۲ × $۱۰^۶$ cells/vial |
| **Mycoplasma:** | Negative |
| **Bacteria/fungi:** | Negative |
| **Inter species identification:** | Confirmed as camel by PCR method |
| **Release condition:** | General |

Archive of SID



www.SID.ir

## ٦. CaBa ٠٠٢ Cell Certificate

| | |
|---|---|
| **Cell line name:** | CaBa٠٠٢ |
| **Cell line type:** | Camel skin fibroblast |
| **Accession Cell No:** | IBRC C١٠٠٦٥ |
| **Organism:** | *Camelus bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Summary:** | Established from skin explant culture of a normal ١ year oldmale bactrian camel. This cell is cryopreserved at the thirdpassage. |
| **Morphology:** | Fibroblast-like |
| **Medium:**<br>**Subculture:** | DMEM + ٢mM L-Glutamine + ١٠% Fetal Bovine Serum (FBS)Split sub-confluent cultures (٧٠-٨٠%) ١:٢, using ٠.٢٥% Trypsin; ٠.٠٢% EDTA |
| **Incubation:** | At ٣٧°C with ٥% $CO_٢$ |
| **Storage:** | ٩٠%FBS +١٠% DMSO at about ١-٢ × $١٠^٦$ cells/vial |
| **Mycoplasma:** | Negative |
| **Bacteria/fungi:** | Negative |
| **Inter species identification:** | Confirmed as camel by PCR method |
| **Release condition:** | General |

Archive of SID



www.SID.ir

## ۷. CaBa ۰۶ Cell Certificate

| | |
|---|---|
| **Cell line name:** | CaBa۰۶ |
| **Cell line type:** | Camel skin fibroblast |
| **Accession Cell No:** | IBRC C۱۰۲۷۷ |
| **Organism:** | *Camelus bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Summary:** | Established from Skin Explant culture of a ۱ year old Male Iranian Camellus Bactrianus named ۹۳۱۹۳(۱۶) from Ministry of Jehad Agriculture, Research center of Agriculture & Natural Resources of Ardebil Province, Jafar Abaad breeding station, Iran on ۰۳.Feb.۲۰۱۳. This cell is cryopreserved at the third passage. |
| **Morphology:** | Fibroblast-Epithelial- like |
| **Medium:** | DMEM + ۲mM L-Glutamine + ۱۰% Fetal Bovine Serum (FBS) |
| **Subculture:** | Split sub-confluent cultures (۷۰-۸۰%) ۱:۲, using ۰.۲۵% Trypsin; ۰.۰۲% EDTA |
| **Incubation:** | At ۳۷°C with ۵% $CO_2$ |
| **Storage:** | ۹۰%FBS +۱۰% DMSO at about ۱-۲ × $۱۰^۶$ cells/vial |
| **Mycoplasma:** | Negative |
| **Bacteria/fungi:** | Negative |
| **Inter species identification:** | Confirmed as camel by PCR method |
| **Release condition:** | General |

Archive of SID



www.SID.ir

## ۸. CaBa ۰۷ , cell certificate

| | |
|---|---|
| **Cell line name:** | CaBa۰۷ |
| **Cell line type:** | Camel skin fibroblast |
| **Accession Cell No:** | IBRC C۱۰۲۷۸ |
| **Organism:** | *Camelus bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Summary:** | Established from Skin Explant culture of a ۳ years old Female Iranian Camellus Bactrianus named ۹۳۲۰۰(۱٤) from Ministry of Jehad Agriculture, Research center of Agriculture & Natural Resources of Ardebil Province, Jafar Abaad breeding station, Iran on ۰۳.Feb.۲۰۱۳. This cell is cryopreserved at the third passage. |
| **Morphology:** | Fibroblast-Epithelial- like |
| **Medium:** | DMEM + ۲mM L-Glutamine + ۱۰% Fetal Bovine Serum (FBS) |
| **Subculture:** | Split sub-confluent cultures (۷۰-۸۰%) ۱:۲, using ۰.۲۵% Trypsin; ۰.۰۲% EDTA |
| **Incubation:** | At ۳۷°C with ۵% $CO_۲$ |
| **Storage:** | ۹۰%FBS +۱۰% DMSO at about ۱-۲ × $۱۰^{۶}$ cells/vial |
| **Mycoplasma:** | Negative |
| **Bacteria/fungi:** | Negative |
| **Inter species identification:** | Confirmed as camel by PCR method |
| **Release condition:** | General |

Archive of SID



www.SID.ir

## ۹. CaBa ۰۸ , cell certificate

| | |
|---|---|
| **Cell line name:** | CaBa۰۸ |
| **Cell line type:** | Camel skin fibroblast |
| **Accession Cell No:** | IBRC C۱۰۲۷۹ |
| **Organism:** | *Camelus bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Summary:** | Established from Skin Explant culture of a ۱ year old Male Iranian Camellus Bactrianus named ۹۳۱۹۷(۱۵) from Ministry of Jehad Agriculture, Research center of Agriculture & Natural Resources of Ardebil Province, Jafar Abaad breeding station, Iran on ۰۳.Feb.۲۰۱۳. This cell is cryopreserved at the third passage. |
| **Morphology:** | Epithelial- like |
| **Medium:** | DMEM + ۲mM L-Glutamine + ۱۰% Fetal Bovine Serum (FBS) |
| **Subculture:** | Split sub-confluent cultures (۷۰-۸۰%) ۱:۲, using ۰.۲۵% Trypsin; ۰.۰۲% EDTA |
| **Incubation:** | At ۳۷°C with ۵% $CO_2$ |
| **Storage:** | ۹۰%FBS +۱۰% DMSO at about ۱-۲ × $۱۰^۶$ cells/vial |
| **Mycoplasma:** | Negative |
| **Bacteria/fungi:** | Negative |
| **Inter species identification:** | Confirmed as camel by PCR method |
| **Release condition:** | General |

Archive of SID



www.SID.ir

## ۱۰. CaBa ۰۹ , Cell certificate

| | |
|---|---|
| **Cell line name:** | CaBa۰۹ |
| **Cell line type:** | Camel skin fibroblast |
| **Accession Cell No:** | IBRC C۱۰۲۸۰ |
| **Organism:** | *Camelus bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Summary:** | Established from Skin Explant culture of a ۲ years old Female Iranian Camellus Bactrianus named ۹۳۱۹٦(۱۹) from Ministry of Jehad Agriculture, Research center of Agriculture & Natural Resources of Ardebil Province, Jafar Abaad breeding station, Iran on ۰۳.Feb.۲۰۱۳. This cell is cryopreserved at the third passage. |
| **Morphology:** | Epithelial- like |
| **Medium:** | DMEM + ۲mM L-Glutamine + ۱۰% Fetal Bovine Serum (FBS) |
| **Subculture:** | Split sub-confluent cultures (۷۰-۸۰%) ۱:۲, using ۰.۲۵% Trypsin; ۰.۰۲% EDTA |
| **Incubation:** | At ۳۷°C with ۵% $CO_2$ |
| **Storage:** | ۹۰%FBS +۱۰% DMSO at about ۱-۲ × $۱۰^{٦}$ cells/vial |
| **Mycoplasma:** | Negative |
| **Bacteria/fungi:** | Negative |
| **Inter species identification:** | Confirmed as camel by PCR method |
| **Release condition:** | General |

Archive of SID



www.SID.ir

## ۱۱. CaBa ۱۰ Cell certificate

| | |
|---|---|
| **Cell line name:** | CaBa۱۰ |
| **Cell line type:** | Camel skin fibroblast |
| **Accession Cell No:** | IBRC C۱۰۲۸۱ |
| **Organism:** | *Camelus bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Summary:** | Established from Skin Explant culture of a ۳ years old Female Iranian Camellus Bactrianus named ۹۳۱۹۱(۱۳) from Ministry of Jehad Agriculture, Research center of Agriculture & Natural Resources of Ardebil Province, Jafar Abaad breeding station, Iran on ۰۳.Feb.۲۰۱۳. This cell is cryopreserved at the third passage. |
| **Morphology:** | Epithelial- like |
| **Medium:** | DMEM + ۲mM L-Glutamine + ۱۰% Fetal Bovine Serum (FBS) |
| **Subculture:** | Split sub-confluent cultures (۷۰-۸۰%) ۱:۲, using ۰.۲۵% Trypsin; ۰.۰۲% EDTA |
| **Incubation:** | At ۳۷°C with ۵% $CO_۲$ |
| **Storage:** | ۹۰%FBS +۱۰% DMSO at about ۱-۲ × $۱۰^۶$ cells/vial |
| **Mycoplasma:** | Negative |
| **Bacteria/fungi:** | Negative |
| **Inter species identification:** | Confirmed as camel by PCR method |
| **Release condition:** | General |

Archive of SID



www.SID.ir

## ۱۲. CaBa ۱۱ , cell certificate

| | |
|---|---|
| **Cell line name:** | CaBa۱۱ |
| **Cell line type:** | Camel skin fibroblast |
| **Accession Cell No:** | IBRC C۱۰۲۸۲ |
| **Organism:** | *Camelus bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Summary:** | Established from Skin Explant culture of a ٤ year old Female Iranian Camellus Bactrianus named ۱۳۰۹۰(۱۲) from Ministry of Jehad Agriculture, Research center of Agriculture & Natural Resources of Ardebil Province, Jafar Abaad breeding station, Iran on ۰۳.Feb.۲۰۱۳. This cell is cryopreserved at the third passage. |
| **Morphology:** | Epithelial- like |
| **Medium:** | DMEM + ۲mM L-Glutamine + ۱۰% Fetal Bovine Serum (FBS) |
| **Subculture:** | Split sub-confluent cultures (۷۰-۸۰%) ۱:۲, using ۰.۲۵% Trypsin; ۰.۰۲% EDTA |
| **Incubation:** | At ۳۷°C with ۵% $CO_۲$ |
| **Storage:** | ۹۰%FBS +۱۰% DMSO at about ۱-۲ × $۱۰^{۶}$ cells/vial |
| **Mycoplasma:** | Negative |
| **Bacteria/fungi:** | Negative |
| **Inter species identification:** | Confirmed as camel by PCR method |
| **Release condition:** | General |

Archive of SID



www.SID.ir

## ۱۳. CaBa ۱۲ , cell certificate

| | |
|---|---|
| **Cell line name:** | CaBa۱۲ |
| **Cell line type:** | Camel skin fibroblast |
| **Accession Cell No:** | IBRC C۱۰۲۸۳ |
| **Organism:** | *Camelus bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Summary:** | Established from Skin Explant culture of a ۷ years old Male Iranian Camellus Bactrianus named ۹۳۱۹٤(۱۷) from Ministry of Jehad Agriculture, Research center of Agriculture & Natural Resources of Ardebil Province, Jafar Abaad breeding station, Iran on ۰۳.Feb.۲۰۱۳. This cell is cryopreserved at the third passage. |
| **Morphology:** | Epithelial- like |
| **Medium:** | DMEM + ۲mM L-Glutamine + ۱۰% Fetal Bovine Serum (FBS) |
| **Subculture:** | Split sub-confluent cultures (۷۰-۸۰%) ۱:۲, using ۰.۲۵% Trypsin; ۰.۰۲% EDTA |
| **Incubation:** | At ۳۷°C with ۵% $CO_۲$ |
| **Storage:** | ۹۰%FBS +۱۰% DMSO at about ۱-۲ × $۱۰^۶$ cells/vial |
| **Mycoplasma:** | Negative |
| **Bacteria/fungi:** | Negative |
| **Inter species identification:** | Confirmed as camel by PCR method |
| **Release condition:** | General |

Archive of SID



www.SID.ir

## ۱٤. CaBa ۱۳ , cell certificate

| | |
|---|---|
| **Cell line name:** | CaBa۱۳ |
| **Cell line type:** | Camel skin fibroblast |
| **Accession Cell No:** | IBRC C۱۰۲۸٤ |
| **Organism:** | *Camelus bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Summary:** | Established from Skin Explant culture of a ۱ year old Male Iranian Camellus Bactrianus named ۹۳۱۹۸(۲۱) from Ministry of Jehad Agriculture, Research center of Agriculture & Natural Resources of Ardebil Province, Jafar Abaad breeding station, Iran on ۰۳.Feb.۲۰۱۳. This cell is cryopreserved at the third passage. |
| **Morphology:** | Fibroblast-Epithelial- like |
| **Medium:** | DMEM + ۲mM L-Glutamine + ۱۰% Fetal Bovine Serum (FBS) |
| **Subculture:** | Split sub-confluent cultures (۷۰-۸۰%) ۱:۲, using ۰.۲۵% Trypsin; ۰.۰۲% EDTA |
| **Incubation:** | At ۳۷°C with ۵% $CO_۲$ |
| **Storage:** | ۹۰%FBS +۱۰% DMSO at about ۱-۲ × $۱۰^۶$ cells/vial |
| **Mycoplasma:** | Negative |
| **Bacteria/fungi:** | Negative |
| **Inter species identification:** | Confirmed as camel by PCR method |
| **Release condition:** | General |

Archive of SID



www.SID.ir

## ۱۵. CaBa ۱۷ , Cell certificate

| | |
|---|---|
| **Cell line name:** | CaBa۱۷ |
| **Cell line type:** | Camel skin fibroblast |
| **Accession Cell No:** | IBRC C۱۰۲۸۸ |
| **Organism:** | *Camelus bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Summary:** | Established from Skin Explant culture of a ۱۳ years old Female Iranian Camellus Bactrianus named Mehri from Ministry of Jehad Agriculture, Research center of Agriculture & Natural Resources of Ardebil Province (Moghan), Jahad Abaad, Iran on ۰۲.Feb.۲۰۱۳. This cell is cryopreserved at the third passage. |
| **Morphology:** | Fibroblast-Epithelial- like |
| **Medium:** | DMEM + ۲mM L-Glutamine + ۱۰% Fetal Bovine Serum (FBS) |
| **Subculture:** | Split sub-confluent cultures (۷۰-۸۰%) ۱:۲, using ۰.۲۵% Trypsin; ۰.۰۲% EDTA |
| **Incubation:** | At ۳۷°C with ۵% $CO_۲$ |
| **Storage:** | ۹۰%FBS +۱۰% DMSO at about ۱-۲ × $۱۰^۶$ cells/vial |
| **Mycoplasma:** | Negative |
| **Bacteria/fungi:** | Negative |
| **Inter species identification:** | Confirmed as camel by PCR method |
| **Release condition:** | General |

Archive of SID



www.SID.ir

## ۱۶. CaBa ۲۳ cell certificate

| | |
|---|---|
| **Cell line name:** | CaBa۲۳ |
| **Cell line type:** | Camel skin fibroblast |
| **Accession Cell No:** | IBRC C۱۰۲۹۷ |
| **Organism:** | *Camelus bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Summary:** | Established from Skin Explant culture of a ٤ years old Male Iranian Camellus Bactrianus named ۹۳۱۹٥(۱۸) from Ministry of Jehad Agriculture, Research center of Agriculture & Natural Resources of Ardebil Province, Jafar Abaad breeding station, Iran on ۰۳.Feb.۲۰۱۳. This cell is cryopreserved at the third passage. |
| **Morphology:** | Fibroblast-Epithelial- like |
| **Medium:** | DMEM + ۲mM L-Glutamine + ۱۰% Fetal Bovine Serum (FBS) |
| **Subculture:** | Split sub-confluent cultures (۷۰-۸۰%) ۱:۲, using ۰.۲٥% Trypsin; ۰.۰۲% EDTA |
| **Incubation:** | At ۳۷°C with ٥% $CO_2$ |
| **Storage:** | ۹۰%FBS +۱۰% DMSO at about ۱-۲ × $۱۰^۶$ cells/vial |
| **Mycoplasma:** | Negative |
| **Bacteria/fungi:** | Negative |
| **Inter species identification:** | Confirmed as camel by PCR method |
| **Release condition:** | General |

Archive of SID



www.SID.ir

## ۱۷. CaBa ۲٤ , cell certificate

| | |
|---|---|
| **Cell line name:** | CaBa۲٤ |
| **Cell line type:** | Camel skin fibroblast |
| **Accession Cell No:** | IBRC C۱۰۲۹۸ |
| **Organism:** | *Camelus bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Summary:** | Established from Skin Explant culture of a ۱ year old Female Iranian Camellus Bactrianus named ۹۳۱۹۷(۲۰) from Ministry of Jehad Agriculture, Research center of Agriculture & Natural Resources of Ardebil Province, Jafar Abaad breeding station, Iran on ۰۳.Feb.۲۰۱۳. This cell is cryopreserved at the third passage. |
| **Morphology:** | Fibroblast-Epithelial- like |
| **Medium:** | DMEM + ۲mM L-Glutamine + ۱۰% Fetal Bovine Serum (FBS) |
| **Subculture:** | Split sub-confluent cultures (۷۰-۸۰%) ۱:۲, using ۰.۲۵% Trypsin; ۰.۰۲% EDTA |
| **Incubation:** | At ۳۷°C with ۵% $CO_2$ |
| **Storage:** | ۹۰%FBS +۱۰% DMSO at about ۱-۲ × $۱۰^۶$ cells/vial |
| **Mycoplasma:** | Negative |
| **Bacteria/fungi:** | Negative |
| **Inter species identification:** | Confirmed as camel by PCR method |
| **Release condition:** | General |

Archive of SID



www.SID.ir

## ۱۸. CaBa ۲۵ , cell certificate

| | |
|---|---|
| **Cell line name:** | CaBa۲۵ |
| **Cell line type:** | Camel skin fibroblast |
| **Accession Cell No:** | IBRC C۱۰۳۱۷ |
| **Organism:** | *Camelus bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Summary:** | Established from Skin Explant culture of a ۳ year old Female Iranian Camellus Bactrianus named ۲۶۵۳۹(۲۵) from People Flocks, Bile Savar, Ardebil Province, Iran. |
| **Morphology:** | Fibroblast-Epithelial- like |
| **Medium:** | DMEM + ۲mM L-Glutamine + ۱۰% Fetal Bovine Serum (FBS) |
| **Subculture:** | Split sub-confluent cultures (۷۰-۸۰%) ۱:۲, using ۰.۲۵% Trypsin; ۰.۰۲% EDTA |
| **Incubation:** | At ۳۷°C with ۵% $CO_2$ |
| **Storage:** | ۹۰%FBS +۱۰% DMSO at about ۱-۲ × $۱۰^۶$ cells/vial |
| **Mycoplasma:** | Negative |
| **Bacteria/fungi:** | Negative |
| **Inter species identification:** | Confirmed as camel by PCR method |
| **Release condition:** | General |

Archive of SID



www.SID.ir

## ۱۹. CaBa ۲۶ , cell Certificate

| | |
|---|---|
| **Cell line name:** | CaBa۲۶ |
| **Cell line type:** | Camel skin fibroblast |
| **Accession Cell No:** | IBRC C۱۰۳۱۸ |
| **Organism:** | *Camelus bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Summary:** | Established from Skin Explant culture of a ۱ years old Male Iranian Camellus Bactrianus named ۲۹۵۳۸(۲۸) from People Flocks, Bile Savar, Ardebil Province, Iran. |
| **Morphology:** | Fibroblast-Epithelial- like |
| **Medium:** | DMEM + ۲mM L-Glutamine + ۱۰% Fetal Bovine Serum (FBS) |
| **Subculture:** | Split sub-confluent cultures (۷۰-۸۰%) ۱:۲, using ۰.۲۵% Trypsin; ۰.۰۲% EDTA |
| **Incubation:** | At ۳۷°C with ۵% $CO_2$ |
| **Storage:** | ۹۰%FBS +۱۰% DMSO at about ۱-۲ × $۱۰^۶$ cells/vial |
| **Mycoplasma:** | Negative |
| **Bacteria/fungi:** | Negative |
| **Inter species identification:** | Confirmed as camel by PCR method |
| **Release condition:** | General |

Archive of SID



www.SID.ir

## ۲۰. CaBa ۲۷ , Cell Certificate

| | |
|---|---|
| **Cell line name:** | CaBa۲۷ |
| **Cell line type:** | Camel skin fibroblast |
| **Accession Cell No:** | IBRC C۱۰۳۱۹ |
| **Organism:** | *Camelus bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Summary:** | Established from Skin Explant culture of a ۱ year old Female Iranian Camellus Bactrianus named ۲۹۵۳۷(۲۹) from People Flocks, Bile Savar, Ardebil Province, Iran. |
| **Morphology:** | Fibroblast-Epithelial- like |
| **Medium:** | DMEM + ۲mM L-Glutamine + ۱۰% Fetal Bovine Serum (FBS) |
| **Subculture:** | Split sub-confluent cultures (۷۰-۸۰%) ۱:۲, using ۰.۲۵% Trypsin; ۰.۰۲% EDTA |
| **Incubation:** | At ۳۷°C with ۵% $CO_2$ |
| **Storage:** | ۹۰%FBS +۱۰% DMSO at about ۱-۲ × $۱۰^۶$ cells/vial |
| **Mycoplasma:** | Negative |
| **Bacteria/fungi:** | Negative |
| **Inter species identification:** | Confirmed as camel by PCR method |
| **Release condition:** | General |

Archive of SID



www.SID.ir

## ۲۱. CaBa ۲۸ , Cell Certificate

| | |
|---|---|
| **Cell line name:** | CaBa۲۸ |
| **Cell line type:** | Camel skin fibroblast |
| **Accession Cell No:** | IBRC C۱۰۳۲۰ |
| **Organism:** | *Camelus bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Summary:** | Established from Skin Explant culture of a ۱ years old Male Iranian Camellus Bactrianus named ۲۹۵۲۵(۳۲) from People Flocks, Bile Savar, Ardebil Province, Iran. |
| **Morphology:** | Fibroblast-Epithelial- like |
| **Medium:** | DMEM + ۲mM L-Glutamine + ۱۰% Fetal Bovine Serum (FBS) |
| **Subculture:** | Split sub-confluent cultures (۷۰-۸۰%) ۱:۲, using ۰.۲۵% Trypsin; ۰.۰۲% EDTA |
| **Incubation:** | At ۳۷°C with ۵% $CO_2$ |
| **Storage:** | ۹۰%FBS +۱۰% DMSO at about ۱-۲ × $۱۰^۶$ cells/vial |
| **Mycoplasma:** | Negative |
| **Bacteria/fungi:** | Negative |
| **Inter species identification:** | Confirmed as camel by PCR method |
| **Release condition:** | General |

Archive of SID



www.SID.ir

## ۲۲. CaBa ۲۹ , Cell Certificate

| | |
|---|---|
| **Cell line name:** | CaBa۲۹ |
| **Cell line type:** | Camel skin fibroblast |
| **Accession Cell No:** | IBRC C۱۰۳۲۶ |
| **Organism:** | *Camelus bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Summary:** | Established from Skin Explant culture of a ۸ years old Male Iranian Camellus Bactrianus named ۲۹۵۱۸(۱۷) from People Flocks, Jafar Abad, Ardebil Province, Iran. |
| **Morphology:** | Fibroblast-Epithelial- like |
| **Medium:** | DMEM + ۲mM L-Glutamine + ۱۰% Fetal Bovine Serum (FBS) |
| **Subculture:** | Split sub-confluent cultures (۷۰-۸۰%) ۱:۲, using ۰.۲۵% Trypsin; ۰.۰۲% EDTA |
| **Incubation:** | At ۳۷°C with ۵% $CO_2$ |
| **Storage:** | ۹۰%FBS +۱۰% DMSO at about ۱-۲ × $۱۰^۶$ cells/vial |
| **Mycoplasma:** | Negative |
| **Bacteria/fungi:** | Negative |
| **Inter species identification:** | Confirmed as camel by PCR method |
| **Release condition:** | General |

Archive of SID



www.SID.ir

## ۲۳. CaBa ۳۰ , Cell Certificate

| | |
|---|---|
| **Cell line name:** | CaBa۳۰ |
| **Cell line type:** | Camel skin fibroblast |
| **Accession Cell No:** | IBRC C۱۰۳۲۷ |
| **Organism:** | *Camelus bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Summary:** | Established from Skin Explant culture of a ۱٤ years old Female Iranian Camellus Bactrianus named ۲۹۵۱۷(۱۸) from People Flocks, Jafar Abad, Ardebil Province, Iran. |
| **Morphology:** | Fibroblast-Epithelial- like |
| **Medium:** | DMEM + ۲mM L-Glutamine + ۱۰% Fetal Bovine Serum (FBS) |
| **Subculture:** | Split sub-confluent cultures (۷۰-۸۰%) ۱:۲, using ۰.۲۵% Trypsin; ۰.۰۲% EDTA |
| **Incubation:** | At ۳۷°C with ۵% $CO_2$ |
| **Storage:** | ۹۰%FBS +۱۰% DMSO at about ۱-۲ × $۱۰^۶$ cells/vial |
| **Mycoplasma:** | Negative |
| **Bacteria/fungi:** | Negative |
| **Inter species identification:** | Confirmed as camel by PCR method |
| **Release condition:** | General |

Archive of SID



www.SID.ir

## ۲٤. CaBa ۳۱ , Cell Certificate

| | |
|---|---|
| **Cell line name:** | CaBa۳۱ |
| **Cell line type:** | Camel skin fibroblast |
| **Accession Cell No:** | IBRC C۱۰۳۲۸ |
| **Organism:** | *Camelus bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Summary:** | Established from Skin Explant culture of a ۹ years old Female Iranian Camellus Bactrianus named ۲۹۵۲۷(۲۳) from People Flocks, Bile Savar, Ardebil Province, Iran. |
| **Morphology:** | Fibroblast-Epithelial- like |
| **Medium:** | DMEM + ۲mM L-Glutamine + ۱۰% Fetal Bovine Serum (FBS) |
| **Subculture:** | Split sub-confluent cultures (۷۰-۸۰%) ۱:۲, using ۰.۲۵% Trypsin; ۰.۰۲% EDTA |
| **Incubation:** | At ۳۷°C with ۵% $CO_2$ |
| **Storage:** | ۹۰%FBS +۱۰% DMSO at about ۱-۲ × $۱۰^۶$ cells/vial |
| **Mycoplasma:** | Negative |
| **Bacteria/fungi:** | Negative |
| **Inter species identification:** | Confirmed as camel by PCR method |
| **Release condition:** | General |

Archive of SID



www.SID.ir

## ۲۵. CaBa ۳۸ , Cell Certificate

| | |
|---|---|
| **Cell line name:** | CaBa۳۸ |
| **Cell line type:** | Camel skin fibroblast |
| **Accession Cell No:** | IBRC C۱۰۳۳۵ |
| **Organism:** | *Camelus bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Summary:** | Established from Skin Explant culture of a ٦ years old Male Iranian Camellus Bactrianus named ۲٤۲۱(۸) People Flocks, Aslandoz,Ardebil Province, Iran. |
| **Morphology:** | Fibroblast-Epithelial- like |
| **Medium:** | DMEM + ۲mM L-Glutamine + ۱۰% Fetal Bovine Serum (FBS) |
| **Subculture:** | Split sub-confluent cultures (۷۰-۸۰%) ۱:۲, using ۰.۲۵% Trypsin; ۰.۰۲% EDTA |
| **Incubation:** | At ۳۷°C with ۵% $CO_2$ |
| **Storage:** | ۹۰%FBS +۱۰% DMSO at about ۱-۲ × $۱۰^{٦}$ cells/vial |
| **Mycoplasma:** | Negative |
| **Bacteria/fungi:** | Negative |
| **Inter species identification:** | Confirmed as camel by PCR method |
| **Release condition:** | General |

Archive of SID



www.SID.ir

## ۲۶. CaBa ۳۹ , Cell Certificate

| | |
|---|---|
| **Cell line name:** | CaBa۳۹ |
| **Cell line type:** | Camel skin fibroblast |
| **Accession Cell No:** | IBRC C۱۰۳۳۶ |
| **Organism:** | *Camelus bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Summary:** | Established from Skin Explant culture of a ۳ year old Female Iranian Camellus Bactrianus named ۲۹۵۰۹(۱۹) from People Flocks, Jafar Abad,Ardebil Province, Iran. |
| **Morphology:** | Fibroblast-Epithelial- like |
| **Medium:** | DMEM + ۲mM L-Glutamine + ۱۰% Fetal Bovine Serum (FBS) |
| **Subculture:** | Split sub-confluent cultures (۷۰-۸۰%) ۱:۲, using ۰.۲۵% Trypsin; ۰.۰۲% EDTA |
| **Incubation:** | At ۳۷°C with ۵% $CO_2$ |
| **Storage:** | ۹۰%FBS +۱۰% DMSO at about ۱-۲ × $۱۰^۶$ cells/vial |
| **Mycoplasma:** | Negative |
| **Bacteria/fungi:** | Negative |
| **Inter species identification:** | Confirmed as camel by PCR method |
| **Release condition:** | General |

Archive of SID



www.SID.ir

## ۲۷. CaBa ٤٩ , Cell Certificate

| | |
|---|---|
| **Cell line name:** | CaBa٤٩ |
| **Cell line type:** | Camel skin fibroblast |
| **Accession Cell No:** | IBRC C١٠٣٤٧ |
| **Organism:** | *Camelus bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Summary:** | Established from Skin Explant culture of a ٥ year old Female Iranian Camellus Bactrianus named ٢٠٥٩٣٨٩(٢١) from People Flocks, Bile Savar, Ardebil Province, Iran. |
| **Morphology:** | Fibroblast-Epithelial- like |
| **Medium:** | DMEM + ٢mM L-Glutamine + ١٠% Fetal Bovine Serum (FBS) |
| **Subculture:** | Split sub-confluent cultures (٧٠-٨٠%) ١:٢, using ٠.٢٥% Trypsin; ٠.٠٢% EDTA |
| **Incubation:** | At ٣٧°C with ٥% $CO_2$ |
| **Storage:** | ٩٠%FBS +١٠% DMSO at about ١-٢ × $١٠^{٦}$ cells/vial |
| **Mycoplasma:** | Negative |
| **Bacteria/fungi:** | Negative |
| **Inter species identification:** | Confirmed as camel by PCR method |
| **Release condition:** | General |

Archive of SID



www.SID.ir

## ۲۸. CaBa ۵۰ , Cell Certificate

| | |
|---|---|
| **Cell line name:** | CaBa۵۰ |
| **Cell line type:** | Camel skin fibroblast |
| **Accession Cell No:** | IBRC C۱۰۳٤۸ |
| **Organism:** | *Camelus bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Summary:** | Established from Skin Explant culture of a ٦ years old Female Iranian Camellus Bactrianus named ۲۰۵۹۳۸۸(۲۲) from People Flocks, Bile Savar, Ardebil Province, Iran. |
| **Morphology:** | Fibroblast-Epithelial- like |
| **Medium:** | DMEM + ۲mM L-Glutamine + ۱۰% Fetal Bovine Serum (FBS) |
| **Subculture:** | Split sub-confluent cultures (۷۰-۸۰%) ۱:۲, using ۰.۲۵% Trypsin; ۰.۰۲% EDTA |
| **Incubation:** | At ۳۷°C with ۵% $CO_2$ |
| **Storage:** | ۹۰%FBS +۱۰% DMSO at about ۱-۲ × $۱۰^{٦}$ cells/vial |
| **Mycoplasma:** | Negative |
| **Bacteria/fungi:** | Negative |
| **Inter species identification:** | Confirmed as camel by PCR method |
| **Release condition:** | General |



Archive of SID

www.SID.ir

## ۲۹. CaBa ۵۱ , Cell Certificate

| | |
|---|---|
| **Cell line name:** | CaBa۵۱ |
| **Cell line type:** | Camel skin fibroblast |
| **Accession Cell No:** | IBRC C۱۰۳٤۹ |
| **Organism:** | *Camelus bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Summary:** | Established from Skin Explant culture of a ۷ years old Female Iranian Camellus Bactrianus named ۱۳۰۳(۲٤) from People Flocks, Bile Savar, Ardebil Province, Iran. |
| **Morphology:** | Fibroblast-Epithelial- like |
| **Medium:** | DMEM + ۲mM L-Glutamine + ۱۰% Fetal Bovine Serum (FBS) |
| **Subculture:** | Split sub-confluent cultures (۷۰-۸۰%) ۱:۲, using ۰.۲۵% Trypsin; ۰.۰۲% EDTA |
| **Incubation:** | At ۳۷°C with ۵% $CO_2$ |
| **Storage:** | ۹۰%FBS +۱۰% DMSO at about ۱-۲ × $۱۰^۶$ cells/vial |
| **Mycoplasma:** | Negative |
| **Bacteria/fungi:** | Negative |
| **Inter species identification:** | Confirmed as camel by PCR method |
| **Release condition:** | General |

Archive of SID



www.SID.ir

## ۳۰. CaBa ۵۲ , Cell Certificate

| | |
|---|---|
| **Cell line name:** | CaBa۵۲ |
| **Cell line type:** | Camel skin fibroblast |
| **Accession Cell No:** | IBRC C۱۰۳۵۰ |
| **Organism:** | *Camelus bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Summary:** | Established from Skin Explant culture of a ٦ years old Female Iranian Camellus Bactrianus named ۲۹۵۲۸ (۲٦) from People Flocks, Bile Savar, Ardebil Province, Iran. |
| **Morphology:** | Fibroblast-Epithelial- like |
| **Medium:** | DMEM + ۲mM L-Glutamine + ۱۰% Fetal Bovine Serum (FBS) |
| **Subculture:** | Split sub-confluent cultures (۷۰-۸۰%) ۱:۲, using ۰.۲۵% Trypsin; ۰.۰۲% EDTA |
| **Incubation:** | At ۳۷°C with ۵% $CO_۲$ |
| **Storage:** | ۹۰%FBS +۱۰% DMSO at about ۱-۲ × $۱۰^٦$ cells/vial |
| **Mycoplasma:** | Negative |
| **Bacteria/fungi:** | Negative |
| **Inter species identification:** | Confirmed as camel by PCR method |
| **Release condition:** | General |

Archive of SID



www.SID.ir

## ۳۱. CaBa ۵۳ , Cell Certificate

| | |
|---|---|
| **Cell line name:** | CaBa۵۳ |
| **Cell line type:** | Camel skin fibroblast |
| **Accession Cell No:** | IBRC C۱۰۳۵۱ |
| **Organism:** | *Camelus bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Summary:** | Established from Skin Explant culture of a ۹ years old Male Iranian Camellus Bactrianus named ۲٤۸۱(۲۷) from People Flocks, Bile Savar, Ardebil Province, Iran. |
| **Morphology:** | Fibroblast-Epithelial- like |
| **Medium:** | DMEM + ۲mM L-Glutamine + ۱۰% Fetal Bovine Serum (FBS) |
| **Subculture:** | Split sub-confluent cultures (۷۰-۸۰%) ۱:۲, using ۰.۲۵% Trypsin; ۰.۰۲% EDTA |
| **Incubation:** | At ۳۷°C with ۵% $CO_2$ |
| **Storage:** | ۹۰%FBS +۱۰% DMSO at about ۱-۲ × $۱۰^۶$ cells/vial |
| **Mycoplasma:** | Negative |
| **Bacteria/fungi:** | Negative |
| **Inter species identification:** | Confirmed as camel by PCR method |
| **Release condition:** | General |

Archive of SID



www.SID.ir

## ۳۲. CaBa ٥٤ , Cell Certificate

| | |
|---|---|
| **Cell line name:** | CaBa٥٤ |
| **Cell line type:** | Camel skin fibroblast |
| **Accession Cell No:** | IBRC C١٠٣٥٢ |
| **Organism:** | *Camelus bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Summary:** | Established from Skin Explant culture of a ٢ years old Female Iranian Camellus Bactrianus named ٢٩٥٣٥(٣٠) from People Flocks, Bile Savar, Ardebil Province, Iran. |
| **Morphology:** | Fibroblast-Epithelial- like |
| **Medium:** | DMEM + ٢mM L-Glutamine + ١٠% Fetal Bovine Serum (FBS) |
| **Subculture:** | Split sub-confluent cultures (٧٠-٨٠%) ١:٢, using ٠.٢٥% Trypsin; ٠.٠٢% EDTA |
| **Incubation:** | At ٣٧°C with ٥% $CO_2$ |
| **Storage:** | ٩٠%FBS +١٠% DMSO at about ١-٢ × $١٠^{٦}$ cells/vial |
| **Mycoplasma:** | Negative |
| **Bacteria/fungi:** | Negative |
| **Inter species identification:** | Confirmed as camel by PCR method |
| **Release condition:** | General |

Archive of SID



www.SID.ir

## ۳۳. CaBa ۵۵ , Cell Certificate

| | |
|---|---|
| **Cell line name:** | CaBa۵۵ |
| **Cell line type:** | Camel skin fibroblast |
| **Accession Cell No:** | IBRC C۱۰۳۵۳ |
| **Organism:** | *Camelus bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Summary:** | Established from Skin Explant culture of a ۱ years old Male Iranian Camellus Bactrianus named ۲۹۵۲۶(۳۱) from People Flocks, Bile Savar, Ardebil Province, Iran. |
| **Morphology:** | Fibroblast-Epithelial- like |
| **Medium:** | DMEM + ۲mM L-Glutamine + ۱۰% Fetal Bovine Serum (FBS) |
| **Subculture:** | Split sub-confluent cultures (۷۰-۸۰%) ۱:۲, using ۰.۲۵% Trypsin; ۰.۰۲% EDTA |
| **Incubation:** | At ۳۷°C with ۵% $CO_2$ |
| **Storage:** | ۹۰%FBS +۱۰% DMSO at about ۱-۲ × $۱۰^۶$ cells/vial |
| **Mycoplasma:** | Negative |
| **Bacteria/fungi:** | Negative |
| **Inter species identification:** | Confirmed as camel by PCR method |
| **Release condition:** | General |

Archive of SID



www.SID.ir

## ۳٤. CaBa ۳۲ , Cell Certificate

| | |
|---|---|
| **Cell line name:** | CaBa۳۲ |
| **Cell line type:** | Camel skin fibroblast |
| **Accession Cell No:** | IBRC C۱۰۳۲۹ |
| **Organism:** | *Camelus bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Summary:** | Established from Skin Explant culture of a ۳ years old Female Iranian Camellus Bactrianus named A ۱۱۱(۱) from People Flocks, AsiloVillage, Aslandoz, Ardebil Province, Iran. |
| **Morphology:** | Fibroblast-Epithelial- like |
| **Medium:** | DMEM + ۲mM L-Glutamine + ۱۰% Fetal Bovine Serum (FBS) |
| **Subculture:** | Split sub-confluent cultures (۷۰-۸۰%) ۱:۲, using ۰.۲۵% Trypsin; ۰.۰۲% EDTA |
| **Incubation:** | At ۳۷°C with ۵% $CO_2$ |
| **Storage:** | ۹۰%FBS +۱۰% DMSO at about ۱-۲ × $۱۰^۶$ cells/vial |
| **Mycoplasma:** | Negative |
| **Bacteria/fungi:** | Negative |
| **Inter species identification:** | Confirmed as camel by PCR method |
| **Release condition:** | General |

Archive of SID



www.SID.ir

## ۳۵. CaBa ۳۳ , Cell Certificate

| | |
|---|---|
| **Cell line name:** | CaBa۳۳ |
| **Cell line type:** | Camel skin fibroblast |
| **Accession Cell No:** | IBRC C۱۰۳۳۰ |
| **Organism:** | *Camelus bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Summary:** | Established from Skin Explant culture of a ۵ years old Male Iranian Camellus Bactrianus named ۲٤۱۷(۲) from People Flocks, AsiloVillage, Aslandoz, Ardebil Province, Iran. |
| **Morphology:** | Fibroblast-Epithelial- like |
| **Medium:** | DMEM + ۲mM L-Glutamine + ۱۰% Fetal Bovine Serum (FBS) |
| **Subculture:** | Split sub-confluent cultures (۷۰-۸۰%) ۱:۲, using ۰.۲۵% Trypsin; ۰.۰۲% EDTA |
| **Incubation:** | At ۳۷°C with ۵% $CO_2$ |
| **Storage:** | ۹۰%FBS +۱۰% DMSO at about ۱-۲ × $۱۰^۶$ cells/vial |
| **Mycoplasma:** | Negative |
| **Bacteria/fungi:** | Negative |
| **Inter species identification:** | Confirmed as camel by PCR method |
| **Release condition:** | General |

Archive of SID



www.SID.ir

## ۳۶. CaBa ۳٤ , Cell Certificate

| | |
|---|---|
| **Cell line name:** | CaBa۳٤ |
| **Cell line type:** | Camel skin fibroblast |
| **Accession Cell No:** | IBRC C۱۰۳۳۱ |
| **Organism:** | *Camelus bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Summary:** | Established from Skin Explant culture of a ٤ years old Female Iranian Camellus Bactrianus named A ۱۱۳(۳) fPeople Flocks, AsiloVillage, Aslandoz, Ardebil Province, Iran. |
| **Morphology:** | Fibroblast-Epithelial- like |
| **Medium:** | DMEM + ۲mM L-Glutamine + ۱۰% Fetal Bovine Serum (FBS) |
| **Subculture:** | Split sub-confluent cultures (۷۰-۸۰%) ۱:۲, using ۰.۲۵% Trypsin; ۰.۰۲% EDTA |
| **Incubation:** | At ۳۷°C with ۵% $CO_2$ |
| **Storage:** | ۹۰%FBS +۱۰% DMSO at about ۱-۲ × $۱۰^۶$ cells/vial |
| **Mycoplasma:** | Negative |
| **Bacteria/fungi:** | Negative |
| **Inter species identification:** | Confirmed as camel by PCR method |
| **Release condition:** | General |

Archive of SID



www.SID.ir

## ۳۷. CaBa ۳۵ , Cell Certificate

| | |
|---|---|
| **Cell line name:** | CaBa۳۵ |
| **Cell line type:** | Camel skin fibroblast |
| **Accession Cell No:** | IBRC C۱۰۳۳۲ |
| **Organism:** | *Camelus bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Summary:** | Established from Skin Explant culture of a ۲ years old Male Iranian Camellus Bactrianus named ۲۹۵۹۲(٤) from People Flocks, AsiloVillage, Aslandoz, Ardebil Province, Iran. |
| **Morphology:** | Fibroblast-Epithelial- like |
| **Medium:** | DMEM + ۲mM L-Glutamine + ۱۰% Fetal Bovine Serum (FBS) |
| **Subculture:** | Split sub-confluent cultures (۷۰-۸۰%) ۱:۲, using ۰.۲۵% Trypsin; ۰.۰۲% EDTA |
| **Incubation:** | At ۳۷°C with ۵% $CO_2$ |
| **Storage:** | ۹۰%FBS +۱۰% DMSO at about ۱-۲ × $۱۰^۶$ cells/vial |
| **Mycoplasma:** | Negative |
| **Bacteria/fungi:** | Negative |
| **Inter species identification:** | Confirmed as camel by PCR method |
| **Release condition:** | General |

Archive of SID



www.SID.ir

## ۳۸. CaBa ۳٦ , Cell Certificate

| | |
|---|---|
| **Cell line name:** | CaBa۳٦ |
| **Cell line type:** | Camel skin fibroblast |
| **Accession Cell No:** | IBRC C۱۰۳۳۳ |
| **Organism:** | *Camelus bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Summary:** | Established from Skin Explant culture of a ٤ years old Female Iranian Camellus Bactrianus named A ۱۱٥(٥) from People Flocks, KachiaVillage, Aslandoz, Ardebil Province, Iran. |
| **Morphology:** | Fibroblast-Epithelial- like |
| **Medium:** | DMEM + ۲mM L-Glutamine + ۱۰% Fetal Bovine Serum (FBS) |
| **Subculture:** | Split sub-confluent cultures (۷۰-۸۰%) ۱:۲, using ۰.۲٥% Trypsin; ۰.۰۲% EDTA |
| **Incubation:** | At ۳۷°C with ٥% $CO_۲$ |
| **Storage:** | ۹۰%FBS +۱۰% DMSO at about ۱-۲ × $۱۰^٦$ cells/vial |
| **Mycoplasma:** | Negative |
| **Bacteria/fungi:** | Negative |
| **Inter species identification:** | Confirmed as camel by PCR method |
| **Release condition:** | General |

Archive of SID



www.SID.ir

## ۳۹. CaBa ۳۷ , Cell Certificate

| | |
|---|---|
| **Cell line name:** | CaBa۳۷ |
| **Cell line type:** | Camel skin fibroblast |
| **Accession Cell No:** | IBRC C۱۰۳۳٤ |
| **Organism:** | *Camelus bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Summary:** | Established from Skin Explant culture of a ٦ years old Female Iranian Camellus Bactrianus named ۲٤٦۳(٦) from People Flocks, KachiaVillage, Aslandoz, Ardebil Province, Iran. |
| **Morphology:** | Fibroblast-Epithelial- like |
| **Medium:** | DMEM + ۲mM L-Glutamine + ۱۰% Fetal Bovine Serum (FBS) |
| **Subculture:** | Split sub-confluent cultures (۷۰-۸۰%) ۱:۲, using ۰.۲٥% Trypsin; ۰.۰۲% EDTA |
| **Incubation:** | At ۳۷°C with ٥% $CO_2$ |
| **Storage:** | ۹۰%FBS +۱۰% DMSO at about ۱-۲ × $۱۰^٦$ cells/vial |
| **Mycoplasma:** | Negative |
| **Bacteria/fungi:** | Negative |
| **Inter species identification:** | Confirmed as camel by PCR method |
| **Release condition:** | General |

Archive of SID



www.SID.ir

## ٤٠. CaBa ٤٠, Cell Certificate

| | |
|---|---|
| **Cell line name:** | CaBa٤٠ |
| **Cell line type:** | Camel skin fibroblast |
| **Accession Cell No:** | IBRC C١٠٣٣٧ |
| **Organism:** | *Camelus bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Summary:** | Established from Skin Explant culture of a ١ years old Male Iranian Camellus Bactrianus named A ١١٩(٩) from People Flocks, Kachi village, Aslandoz, Ardebil Province, Iran. |
| **Morphology:** | Fibroblast-Epithelial- like |
| **Medium:** | DMEM + ٢mM L-Glutamine + ١٠% Fetal Bovine Serum (FBS) |
| **Subculture:** | Split sub-confluent cultures (٧٠-٨٠%) ١:٢, using ٠.٢٥% Trypsin; ٠.٠٢% EDTA |
| **Incubation:** | At ٣٧°C with ٥% $CO_2$ |
| **Storage:** | ٩٠%FBS +١٠% DMSO at about ١-٢ × $١٠^{٦}$ cells/vial |
| **Mycoplasma:** | Negative |
| **Bacteria/fungi:** | Negative |
| **Inter species identification:** | Confirmed as camel by PCR method |
| **Release condition:** | General |

Archive of SID



www.SID.ir

## ٤١. CaBa ٤١ , Cell Certificate

| | |
|---|---|
| **Cell line name:** | CaBa٤١ |
| **Cell line type:** | Camel skin fibroblast |
| **Accession Cell No:** | IBRC C١٠٣٣٨ |
| **Organism:** | *Camelus bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Summary:** | Established from Skin Explant culture of a ٣ years old Female Iranian Camellus Bactrianus named A ١٢٠(١٠) from People Flocks, Jafar Abad, Ardebil Province, Iran. |
| **Morphology:** | Fibroblast-Epithelial- like |
| **Medium:** | DMEM + ٢mM L-Glutamine + ١٠% Fetal Bovine Serum (FBS) |
| **Subculture:** | Split sub-confluent cultures (٧٠-٨٠%) ١:٢, using ٠.٢٥% Trypsin; ٠.٠٢% EDTA |
| **Incubation:** | At ٣٧°C with ٥% $CO_2$ |
| **Storage:** | ٩٠%FBS +١٠% DMSO at about ١-٢ × $10^6$ cells/vial |
| **Mycoplasma:** | Negative |
| **Bacteria/fungi:** | Negative |
| **Inter species identification:** | Confirmed as camel by PCR method |
| **Release condition:** | General |

Archive of SID



www.SID.ir

## ٤٢. CaBa ٤٢ , Cell Certificate

| | |
|---|---|
| **Cell line name:** | CaBa٤٢ |
| **Cell line type:** | Camel skin fibroblast |
| **Accession Cell No:** | IBRC C١٠٣٣٩ |
| **Organism:** | *Camelus bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Summary:** | Established from Skin Explant culture of a ٥ years old Female Iranian Camellus Bactrianus named ١٦٧٩٨١(١١) from People Flocks, Jafar Abad, Ardebil Province, Iran. |
| **Morphology:** | Fibroblast-Epithelial- like |
| **Medium:** | DMEM + ٢mM L-Glutamine + ١٠% Fetal Bovine Serum (FBS) |
| **Subculture:** | Split sub-confluent cultures (٧٠-٨٠%) ١:٢, using ٠.٢٥% Trypsin; ٠.٠٢% EDTA |
| **Incubation:** | At ٣٧°C with ٥% $CO_2$ |
| **Storage:** | ٩٠%FBS +١٠% DMSO at about ١-٢ × $١٠^{٦}$ cells/vial |
| **Mycoplasma:** | Negative |
| **Bacteria/fungi:** | Negative |
| **Inter species identification:** | Confirmed as camel by PCR method |
| **Release condition:** | General |

Archive of SID



www.SID.ir

## ٤٣. CaBa ٤٣ , Cell Certificate

| | |
|---|---|
| **Cell line name:** | CaBa٤٣ |
| **Cell line type:** | Camel skin fibroblast |
| **Accession Cell No:** | IBRC C١٠٣٤٠ |
| **Organism:** | *Camelus bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Summary:** | Established from Skin Explant culture of a ٥ years old Female Iranian Camellus Bactrianus named ٤٠٧٩٩١(١٥) from People Flocks, Jafar Abad, Ardebil Province, Iran. |
| **Morphology:** | Fibroblast-Epithelial- like |
| **Medium:** | DMEM + ٢mM L-Glutamine + ١٠% Fetal Bovine Serum (FBS) |
| **Subculture:** | Split sub-confluent cultures (٧٠-٨٠%) ١:٢, using ٠.٢٥% Trypsin; ٠.٠٢% EDTA |
| **Incubation:** | At ٣٧°C with ٥% $CO_2$ |
| **Storage:** | ٩٠%FBS +١٠% DMSO at about ١-٢ × $١٠^{٦}$ cells/vial |
| **Mycoplasma:** | Negative |
| **Bacteria/fungi:** | Negative |
| **Inter species identification:** | Confirmed as camel by PCR method |
| **Release condition:** | General |

Archive of SID



www.SID.ir

## ٤٤. CaBa ٤٤ , Cell Certificate

| | |
|---|---|
| **Cell line name:** | CaBa٤٤ |
| **Cell line type:** | Camel skin fibroblast |
| **Accession Cell No:** | IBRC C١٠٣٤١ |
| **Organism:** | *Camelus bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Summary:** | Established from Skin Explant culture of a ٧ years old Female Iranian Camellus Bactrianus named ٢٩٥٦٢(١٣) from People Flocks, Jafar Abad, Ardebil Province, Iran. |
| **Morphology:** | Fibroblast-Epithelial- like |
| **Medium:** | DMEM + ٢mM L-Glutamine + ١٠% Fetal Bovine Serum (FBS) |
| **Subculture:** | Split sub-confluent cultures (٧٠-٨٠%) ١:٢, using ٠.٢٥% Trypsin; ٠.٠٢% EDTA |
| **Incubation:** | At ٣٧°C with ٥% $CO_٢$ |
| **Storage:** | ٩٠%FBS +١٠% DMSO at about ١-٢ × $١٠^٦$ cells/vial |
| **Mycoplasma:** | Negative |
| **Bacteria/fungi:** | Negative |
| **Inter species identification:** | Confirmed as camel by PCR method |
| **Release condition:** | General |

Archive of SID



www.SID.ir

## ٤٥. CaBa ٤٥ , Cell Certificate

| | |
|---|---|
| **Cell line name:** | CaBa٤٥ |
| **Cell line type:** | Camel skin fibroblast |
| **Accession Cell No:** | IBRC C١٠٣٤٢ |
| **Organism:** | *Camelus bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Summary:** | Established from Skin Explant culture of a ٣ years old Female Iranian Camellus Bactrianus named ٢٦٨٩٠(١٤) from People Flocks, Jafar Abad, Ardebil Province, Iran. |
| **Morphology:** | Fibroblast-Epithelial- like |
| **Medium:** | DMEM + ٢mM L-Glutamine + ١٠% Fetal Bovine Serum (FBS) |
| **Subculture:** | Split sub-confluent cultures (٧٠-٨٠%) ١:٢, using ٠.٢٥% Trypsin; ٠.٠٢% EDTA |
| **Incubation:** | At ٣٧°C with ٥% $CO_2$ |
| **Storage:** | ٩٠%FBS +١٠% DMSO at about ١-٢ × $١٠^{٦}$ cells/vial |
| **Mycoplasma:** | Negative |
| **Bacteria/fungi:** | Negative |
| **Inter species identification:** | Confirmed as camel by PCR method |
| **Release condition:** | General |

Archive of SID



www.SID.ir

## ٤٦. CaBa ٤٦ , Cell Certificate

| | |
|---|---|
| **Cell line name:** | CaBa٤٦ |
| **Cell line type:** | Camel skin fibroblast |
| **Accession Cell No:** | IBRC C١٠٣٤٣ |
| **Organism:** | *Camelus bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Summary:** | Established from Skin Explant culture of a ٥ years old Female Iranian Camellus Bactrianus named ٤٠٧٩٩١(١٥) from People Flocks, Jafar Abad, Ardebil Province, Iran. |
| **Morphology:** | Fibroblast-Epithelial- like |
| **Medium:** | DMEM + ٢mM L-Glutamine + ١٠% Fetal Bovine Serum (FBS) |
| **Subculture:** | Split sub-confluent cultures (٧٠-٨٠%) ١:٢, using ٠.٢٥% Trypsin; ٠.٠٢% EDTA |
| **Incubation:** | At ٣٧°C with ٥% $CO_٢$ |
| **Storage:** | ٩٠%FBS +١٠% DMSO at about ١-٢ × $١٠^٦$ cells/vial |
| **Mycoplasma:** | Negative |
| **Bacteria/fungi:** | Negative |
| **Inter species identification:** | Confirmed as camel by PCR method |
| **Release condition:** | General |

Archive of SID



www.SID.ir

## ٤٧. CaBa ٤٧ , Cell Certificate

| | |
|---|---|
| **Cell line name:** | CaBa٤٧ |
| **Cell line type:** | Camel skin fibroblast |
| **Accession Cell No:** | IBRC C١٠٣٤٤ |
| **Organism:** | *Camelus bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Summary:** | Established from Skin Explant culture of a ٤ years oldMale Iranian Camellus Bactrianus named ٢٩٥١٤(١٦) from People Flocks, Jafar Abad, Ardebil Province, Iran. |
| **Morphology:** | Fibroblast-Epithelial- like |
| **Medium:** | DMEM + ٢mM L-Glutamine + ١٠% Fetal Bovine Serum (FBS) |
| **Subculture:** | Split sub-confluent cultures (٧٠-٨٠%) ١:٢, using ٠.٢٥% Trypsin; ٠.٠٢% EDTA |
| **Incubation:** | At ٣٧°C with ٥% $CO_2$ |
| **Storage:** | ٩٠%FBS +١٠% DMSO at about ١-٢ × $١٠^{٦}$ cells/vial |
| **Mycoplasma:** | Negative |
| **Bacteria/fungi:** | Negative |
| **Inter species identification:** | Confirmed as camel by PCR method |
| **Release condition:** | General |

Archive of SID



www.SID.ir

## ٤٨. CaBa ٥٦ , Cell Certificate

| | |
|---|---|
| **Cell line name:** | CaBa-٥٦ |
| **Cell line type:** | Camel skin fibroblast |
| **Accession Cell No:** | IBRC C١٠٣٩٩ |
| **Organism:** | *Camelus bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Summary:** | Established from Skin Explant culture of a ١٣ years old Female Iranian Camellus Bactrianus named ghashgha(٢) from Ministry of Jahad Agriculture, Research center of Agriculture & Natural Resources of Ardebil Province (Meshkin Shahr), Jahad Abaad, Iran. |
| **Morphology:** | Fibroblast-Epithelial- like |
| **Medium:** | DMEM + ٢mM L-Glutamine + ١٠% Fetal Bovine Serum (FBS) |
| **Subculture:** | Split sub-confluent cultures (٧٠-٨٠%) ١:٢, using ٠.٢٥% Trypsin; ٠.٠٢% EDTA |
| **Incubation:** | At ٣٧°C with ٥% $CO_2$ |
| **Storage:** | ٩٠%FBS +١٠% DMSO at about ١-٢ × $10^6$ cells/vial |
| **Mycoplasma:** | Negative |
| **Bacteria/fungi:** | Negative |
| **Inter species identification:** | Confirmed as camel by PCR method |
| **Release condition:** | General |

Archive of SID



www.SID.ir

## ٤٩. CaBa ٥٧ , Cell Certificate

| | |
|---|---|
| **Cell line name:** | CaBa-٥٧ |
| **Cell line type:** | Camel skin fibroblast |
| **Accession Cell No:** | IBRC C١٠٤٠٠ |
| **Organism:** | *Camelus bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Summary:** | Established from Skin Explant culture of a ١ year old Female Iranian Camellus Bactrianus named katrin (٣) from Ministry of Jahad Agriculture, Research center of Agriculture & Natural Resources of Ardebil Province (Meshkin Shahr), Jahad Abaad, Iran. |
| **Morphology:** | Fibroblast-Epithelial- like |
| **Medium:** | DMEM + ٢mM L-Glutamine + ١٠% Fetal Bovine Serum (FBS) |
| **Subculture:** | Split sub-confluent cultures (٧٠-٨٠%) ١:٢, using ٠.٢٥% Trypsin; ٠.٠٢% EDTA |
| **Incubation:** | At ٣٧°C with ٥% $CO_2$ |
| **Storage:** | ٩٠%FBS +١٠% DMSO at about ١-٢ × $١٠^{٦}$ cells/vial |
| **Mycoplasma:** | Negative |
| **Bacteria/fungi:** | Negative |
| **Inter species identification:** | Confirmed as camel by PCR method |
| **Release condition:** | General |

Archive of SID



www.SID.ir

## ۵۰. CaBa ۵۸ , Cell Certificate

| | |
|---|---|
| **Cell line name:** | CaBa-۵۸ |
| **Cell line type:** | Camel skin fibroblast |
| **Accession Cell No:** | IBRC C۱۰۴۰۱ |
| **Organism:** | *Camelus bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Summary:** | Established from Skin Explant culture of a ۱ year old Female Iranian Camellus Bactrianus named ghare chai (٤) from Ministry of Jahad Agriculture, Research center of Agriculture & Natural Resources of Ardebil Province (Meshkin Shahr), Jahad Abaad, Iran. |
| **Morphology:** | Fibroblast-Epithelial- like |
| **Medium:** | DMEM + ۲mM L-Glutamine + ۱۰% Fetal Bovine Serum (FBS) |
| **Subculture:** | Split sub-confluent cultures (۷۰-۸۰%) ۱:۲, using ۰.۲۵% Trypsin; ۰.۰۲% EDTA |
| **Incubation:** | At ۳۷°C with ۵% $CO_2$ |
| **Storage:** | ۹۰%FBS +۱۰% DMSO at about ۱-۲ × $۱۰^۶$ cells/vial |
| **Mycoplasma:** | Negative |
| **Bacteria/fungi:** | Negative |
| **Inter species identification:** | Confirmed as camel by PCR method |
| **Release condition:** | General |

Archive of SID



www.SID.ir

## ۵۱. CaBa ۵۹ , Cell Certificate

| | |
|---|---|
| **Cell line name:** | CaBa-۵۹ |
| **Cell line type:** | Camel skin fibroblast |
| **Accession Cell No:** | IBRC C۱۰۴۰۲ |
| **Organism:** | *Camelus bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Summary:** | Established from Skin Explant culture of a ۲ years old Male Iranian Camellus Bactrianus named Moharam (۷) from Ministry of Jahad Agriculture, Research center of Agriculture & Natural Resources of Ardebil Province (Meshkin Shahr), Jahad Abaad, Iran. |
| **Morphology:** | Fibroblast-Epithelial- like |
| **Medium:** | DMEM + ۲mM L-Glutamine + ۱۰% Fetal Bovine Serum (FBS) |
| **Subculture:** | Split sub-confluent cultures (۷۰-۸۰%) ۱:۲, using ۰.۲۵% Trypsin; ۰.۰۲% EDTA |
| **Incubation:** | At ۳۷°C with ۵% $CO_2$ |
| **Storage:** | ۹۰%FBS +۱۰% DMSO at about ۱-۲ × $۱۰^۶$ cells/vial |
| **Mycoplasma:** | Negative |
| **Bacteria/fungi:** | Negative |
| **Inter species identification:** | Confirmed as camel by PCR method |
| **Release condition:** | General |

Archive of SID



www.SID.ir

## ۵۲. CaBa ٦٠ , Cell Certificate

| | |
|---|---|
| **Cell line name:** | CaBa-٦٠ |
| **Cell line type:** | Camel skin fibroblast |
| **Accession Cell No:** | IBRC C١٠٤٠٣ |
| **Organism:** | *Camelus bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Summary:** | Established from Skin Explant culture of a ٢ years old Male Iranian Camellus Bactrianus named Oja boghor (٨) from Ministry of Jahad Agriculture, Research center of Agriculture & Natural Resources of Ardebil Province (Meshkin Shahr), Jahad Abaad, Iran. |
| **Morphology:** | Fibroblast-Epithelial- like |
| **Medium:** | DMEM + ٢mM L-Glutamine + ١٠% Fetal Bovine Serum (FBS) |
| **Subculture:** | Split sub-confluent cultures (٧٠-٨٠%) ١:٢, using ٠.٢٥% Trypsin; ٠.٠٢% EDTA |
| **Incubation:** | At ٣٧°C with ٥% $CO_2$ |
| **Storage:** | ٩٠%FBS +١٠% DMSO at about ١-٢ × $١٠^{٦}$ cells/vial |
| **Mycoplasma:** | Negative |
| **Bacteria/fungi:** | Negative |
| **Inter species identification:** | Confirmed as camel by PCR method |
| **Release condition:** | General |

Archive of SID



www.SID.ir

## ۵۳. CaBa ٦١ ,Cell Certificate

| | |
|---|---|
| **Cell line name:** | CaBa-٦١ |
| **Cell line type:** | Camel skin fibroblast |
| **Accession Cell No:** | IBRC C١٠٤٠٤ |
| **Organism:** | *Camelus bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Summary:** | Established from Skin Explant culture of a ٢ years old Male Iranian Camellus Bactrianus named Ghare boghor (١٠) from Ministry of Jahad Agriculture, Research center of Agriculture & Natural Resources of Ardebil Province (Meshkin Shahr), Jahad Abaad, Iran. |
| **Morphology:** | Fibroblast-Epithelial- like |
| **Medium:** | DMEM + ٢mM L-Glutamine + ١٠% Fetal Bovine Serum (FBS) |
| **Subculture:** | Split sub-confluent cultures (٧٠-٨٠%) ١:٢, using ٠.٢٥% Trypsin; ٠.٠٢% EDTA |
| **Incubation:** | At ٣٧°C with ٥% $CO_2$ |
| **Storage:** | ٩٠%FBS +١٠% DMSO at about ١-٢ × $١٠^{٦}$ cells/vial |
| **Mycoplasma:** | Negative |
| **Bacteria/fungi:** | Negative |
| **Inter species identification:** | Confirmed as camel by PCR method |
| **Release condition:** | General |



Archive of SID

www.SID.ir

## ٥٤. CaBa ٦٢ , Cell Certificate

| | |
|---|---|
| **Cell line name:** | CaBa-٦٢ |
| **Cell line type:** | Camel skin fibroblast |
| **Accession Cell No:** | IBRC C١٠٤٠٥ |
| **Organism:** | *Camelus bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Summary:** | Established from Skin Explant culture of a ٤ years old Female Iranian Camellus Bactrianus named Maryam (١١) from Ministry of Jahad Agriculture, Research center of Agriculture & Natural Resources of Ardebil Province (Meshkin Shahr), Jahad Abaad, Iran. |
| **Morphology:** | Fibroblast-Epithelial- like |
| **Medium:** | DMEM + ٢mM L-Glutamine + ١٠% Fetal Bovine Serum (FBS) |
| **Subculture:** | Split sub-confluent cultures (٧٠-٨٠%) ١:٢, using ٠.٢٥% Trypsin; ٠.٠٢% EDTA |
| **Incubation:** | At ٣٧°C with ٥% $CO_2$ |
| **Storage:** | ٩٠%FBS +١٠% DMSO at about ١-٢ × $١٠^{٦}$ cells/vial |
| **Mycoplasma:** | Negative |
| **Bacteria/fungi:** | Negative |
| **Inter species identification:** | Confirmed as camel by PCR method |
| **Release condition:** | General |



Archive of SID

www.SID.ir

## ۵۵. CaBa ۶۳ , Cell Certificate

| | |
|---|---|
| **Cell line name:** | CaBa-۶۳ |
| **Cell line type:** | Camel skin fibroblast |
| **Accession Cell No:** | IBRC C۱۰۴۰۶ |
| **Organism:** | *Camelus bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Summary:** | Established from Skin Explant culture of a ۳ years old Male Iranian Camellus Bactrianus named Sari boghor (۱۲) from Ministry of Jahad Agriculture, Research center of Agriculture & Natural Resources of Ardebil Province (Meshkin Shahr), Jahad Abaad, Iran. |
| **Morphology:** | Fibroblast-Epithelial- like |
| **Medium:** | DMEM + ۲mM L-Glutamine + ۱۰% Fetal Bovine Serum (FBS) |
| **Subculture:** | Split sub-confluent cultures (۷۰-۸۰%) ۱:۲, using ۰.۲۵% Trypsin; ۰.۰۲% EDTA |
| **Incubation:** | At ۳۷°C with ۵% $CO_2$ |
| **Storage:** | ۹۰%FBS +۱۰% DMSO at about ۱-۲ × $۱۰^۶$ cells/vial |
| **Mycoplasma:** | Negative |
| **Bacteria/fungi:** | Negative |
| **Inter species identification:** | Confirmed as camel by PCR method |
| **Release condition:** | General |

Archive of SID



www.SID.ir

## ٥٦. CaBa ٦٤ , Cell Certificate

| | |
|---|---|
| **Cell line name:** | CaBa-٦٤ |
| **Cell line type:** | Camel skin fibroblast |
| **Accession Cell No:** | IBRC C١٠٤١٦ |
| **Organism:** | *Camelus bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Summary:** | Established from Skin Explant culture of a ١٣ years old Female Iranian Camellus Bactrianus named maya chai (٥) from Ministry of Jahad Agriculture, Research center of Agriculture & Natural Resources of Ardebil Province (Meshkin Shahr), Jahad Abaad, Iran. |
| **Morphology:** | Fibroblast-Epithelial- like |
| **Medium:** | DMEM + ٢mM L-Glutamine + ١٠% Fetal Bovine Serum (FBS) |
| **Subculture:** | Split sub-confluent cultures (٧٠-٨٠%) ١:٢, using ٠.٢٥% Trypsin; ٠.٠٢% EDTA |
| **Incubation:** | At ٣٧°C with ٥% $CO_2$ |
| **Storage:** | ٩٠%FBS +١٠% DMSO at about ١-٢ × $١٠^{٦}$ cells/vial |
| **Mycoplasma:** | Negative |
| **Bacteria/fungi:** | Negative |
| **Inter species identification:** | Confirmed as camel by PCR method |
| **Release condition:** | General |

Archive of SID



www.SID.ir

## ۵۷. CaBa ٦٥ , Cell Certificate

| | |
|---|---|
| **Cell line name:** | CaBa-٦٥ |
| **Cell line type:** | Camel skin fibroblast |
| **Accession Cell No:** | IBRC C١٠٤١٧ |
| **Organism:** | *Camelus bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Summary:** | Established from Skin Explant culture of a ١ year old Female Iranian Camellus Bactrianus named Elizabet (٦) from Ministry of Jahad Agriculture, Research center of Agriculture & Natural Resources of Ardebil Province (Meshkin Shahr), Jahad Abaad, Iran. |
| **Morphology:** | Fibroblast-Epithelial- like |
| **Medium:** | DMEM + ٢mM L-Glutamine + ١٠% Fetal Bovine Serum (FBS) |
| **Subculture:** | Split sub-confluent cultures (٧٠-٨٠%) ١:٢, using ٠.٢٥% Trypsin; ٠.٠٢% EDTA |
| **Incubation:** | At ٣٧°C with ٥% $CO_2$ |
| **Storage:** | ٩٠%FBS +١٠% DMSO at about ١-٢ × $١٠^{٦}$ cells/vial |
| **Mycoplasma:** | Negative |
| **Bacteria/fungi:** | Negative |
| **Inter species identification:** | Confirmed as camel by PCR method |
| **Release condition:** | General |



Archive of SID

www.SID.ir

# شناسنامه حیوانی

Archive of SID



www.SID.ir

| | |
|---|---|
| **Accession no:** | IBRC C10048 |
| **Cell line name:** | CaBa 01 |
| **Genus:** | *Camelus* |
| **Species:** | *bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Name/Code:** | 40 |
| **Microchip number:** | --- |
| **Sex:** | Female |
| **Colour:** | Sandy Beige |
| **Sire:** | --- |
| **Dam:** | --- |
| **Year & Place of birth :** | 2010- Alborz Province, Iran. |
| **Date of sampling:** | ۱۱.May.۲۰۱۱ |
| **Location of sampling :** | People Flocks, Nazar Abad, Karajd,Alborz Province, Iran. |

Archive of SID



www.SID.ir

| | |
|---|---|
| **Accession no:** | IBRC C10060 |
| **Cell line name:** | CaBa 02 |
| **Genus:** | *Camelus* |
| **Species:** | *bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Name/Code:** | 50 |
| **Microchip number:** | --- |
| **Sex:** | Female |
| **Colour:** | Sandy Beige |
| **Sire:** | --- |
| **Dam:** | --- |
| **Year & Place of birth :** | 2010- Alborz Province, Iran. |
| **Date of sampling:** | ۱۱.May.۲۰۱۱ |
| **Location of sampling :** | People Flocks, Nazar Abad, Karajd, Alborz Province, Iran. |

Archive of SID



www.SID.ir

| | |
|---|---|
| **Accession no:** | IBRC C10062 |
| **Cell line name:** | CaBa 04 |
| **Genus:** | *Camelus* |
| **Species:** | *bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Name/Code:** | 52 |
| **Microchip number:** | --- |
| **Sex:** | Male |
| **Colour:** | Sandy Beige |
| **Sire:** | --- |
| **Dam:** | --- |
| **Year & Place of birth :** | 2010- Alborz Province, Iran. |
| **Date of sampling:** | ١١.May.٢٠١١ |
| **Location of sampling :** | People Flocks, Nazar Abad, Karajd, Alborz Province, Iran. |

Archive of SID



www.SID.ir

| | |
|---|---|
| **Accession no:** | IBRC C10063 |
| **Cell line name:** | CaBa 03 |
| **Genus:** | *Camelus* |
| **Species:** | *bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Name/Code:** | 53 |
| **Microchip number:** | --- |
| **Sex:** | Male |
| **Colour:** | Sandy Beige |
| **Sire:** | --- |
| **Dam:** | --- |
| **Year & Place of birth :** | 2010- Alborz Province, Iran. |
| **Date of sampling:** | ۱۱.May.۲۰۱۱ |
| **Location of sampling :** | People Flocks, Nazar Abad, Karajd, Alborz Province, Iran. |

Archive of SID



www.SID.ir

| | |
|---|---|
| **Accession no:** | IBRC C10064 |
| **Cell line name:** | CaBa 05 |
| **Genus:** | *Camelus* |
| **Species:** | *bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Name/Code:** | 54 |
| **Microchip number:** | --- |
| **Sex:** | Female |
| **Colour:** | Sandy Beige |
| **Sire:** | --- |
| **Dam:** | --- |
| **Year & Place of birth :** | 2010- Alborz Province, Iran. |
| **Date of sampling:** | ۱۱.May.۲۰۱۱ |
| **Location of sampling :** | People Flocks, Nazar Abad, Karajd, Alborz Province, Iran. |

Archive of SID



www.SID.ir

| | |
|---|---|
| **Accession no:** | IBRC C10065 |
| **Cell line name:** | CaBa 002 |
| **Genus:** | *Camelus* |
| **Species:** | *bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Name/Code:** | 55 |
| **Microchip number:** | --- |
| **Sex:** | Male |
| **Colour:** | Sandy Beige |
| **Sire:** | --- |
| **Dam:** | --- |
| **Year & Place of birth :** | 2010- Alborz Province, Iran. |
| **Date of sampling:** | ۱۱.May.۲۰۱۱ |
| **Location of sampling :** | People Flocks, Nazar Abad, Karajd, Alborz Province, Iran. |

Archive of SID



www.SID.ir

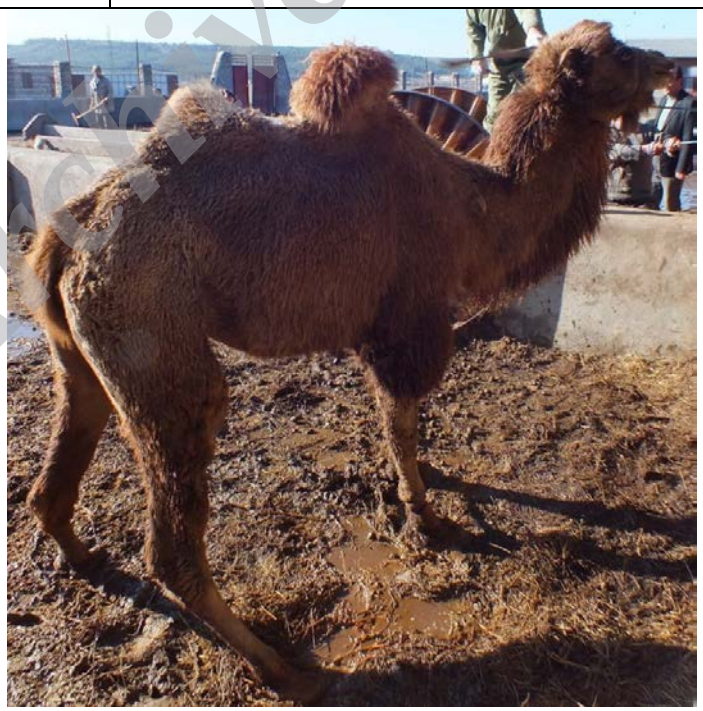
| | |
|---|---|
| **Accession no:** | IBRC C10277 |
| **Cell line name:** | CaBa 06 |
| **Genus:** | *Camelus* |
| **Species:** | *bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Name/Code:** | 93193(16) |
| **Microchip number:** | ---- |
| **Sex:** | Male |
| **Colour:** | Sandy Beige |
| **Sire:** | ---- |
| **Dam:** | ---- |
| **Year & Place of birth :** | 2011- Ardebil, Iran. |
| **Date of sampling:** | ۰۳.Feb.۲۰۱۳ |
| **Location of sampling :** | Ministry of Jahad Agriculture, Research center of Agriculture & Natural Resources of Ardebil Province, Jafar Abaad breeding station, Iran. |

Archive of SID



www.SID.ir

| | |
|---|---|
| **Accession no:** | IBRC C10278 |
| **Cell line name:** | CaBa 07 |
| **Genus:** | *Camelus* |
| **Species:** | *bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Name/Code:** | 93200(14) |
| **Microchip number:** | |
| **Sex:** | Female |
| **Colour:** | |
| **Sire:** | |
| **Dam:** | |
| **Year & Place of birth :** | 2010- Ardebil, Iran. |
| **Date of sampling:** | ۰۳.Feb.۲۰۱۳ |
| **Location of sampling :** | Ministry of Jahad Agriculture, Research center of Agriculture & Natural Resources of Ardebil Province, Jafar Abaad breeding station, Iran. |

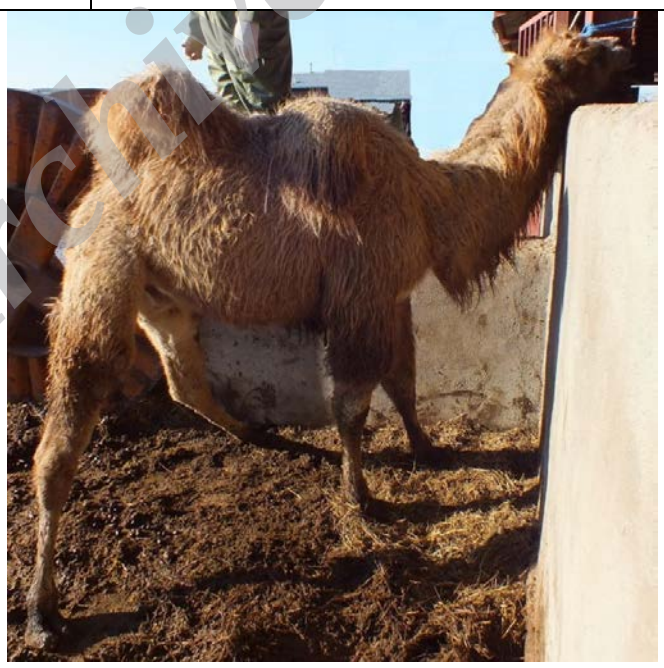


Archive of SID



www.SID.ir

| | |
|---|---|
| **Accession no:** | IBRC C10279 |
| **Cell line name:** | CaBa 08 |
| **Genus:** | *Camelus* |
| **Species:** | *bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Name/Code:** | 93197(15) |
| **Microchip number:** | --- |
| **Sex:** | Male |
| **Colour:** | Sandy Beige |
| **Sire:** | ٣٢٢٧٤(١١) |
| **Dam:** | --- |
| **Year & Place of birth :** | 2012- Ardebil, Iran. |
| **Date of sampling:** | ٠٣.Feb.٢٠١٣ |
| **Location of sampling :** | Ministry of Jahad Agriculture, Research center of Agriculture & Natural Resources of Ardebil Province, Jafar Abaad breeding station, Iran. |

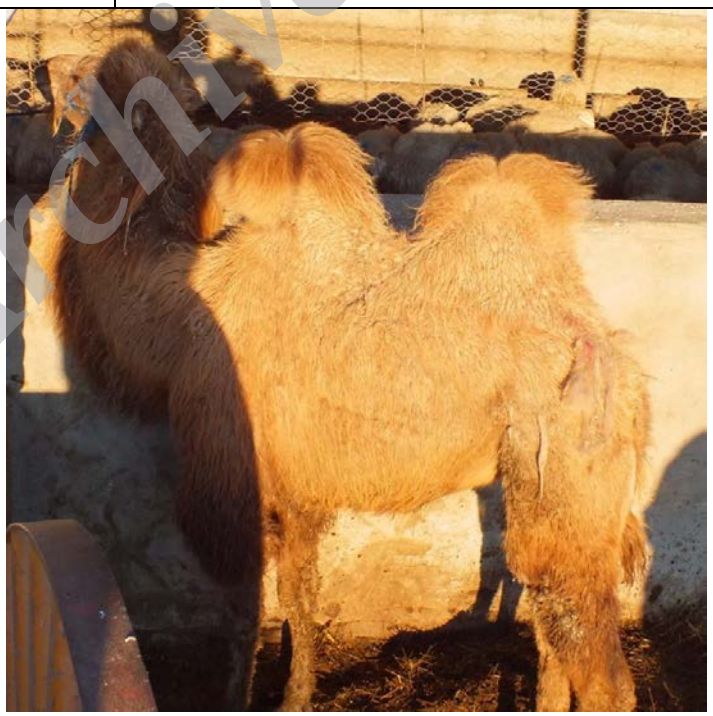


Archive of SID



www.SID.ir

| | |
|---|---|
| **Accession no:** | IBRC C10280 |
| **Cell line name:** | CaBa 09 |
| **Genus:** | *Camelus* |
| **Species:** | *bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Name/Code:** | 93196(19) |
| **Microchip number:** | --- |
| **Sex:** | Female |
| **Colour:** | Sandy Beige |
| **Sire:** | ۹۳۱۹٤(۱۷) |
| **Dam:** | --- |
| **Year & Place of birth :** | 2011- Ardebil, Iran. |
| **Date of sampling:** | ۰۳.Feb.۲۰۱۳ |
| **Location of sampling :** | Ministry of Jahad Agriculture, Research center of Agriculture & Natural Resources of Ardebil Province, Jafar Abaad breeding station, Iran. |



Archive of SID



www.SID.ir

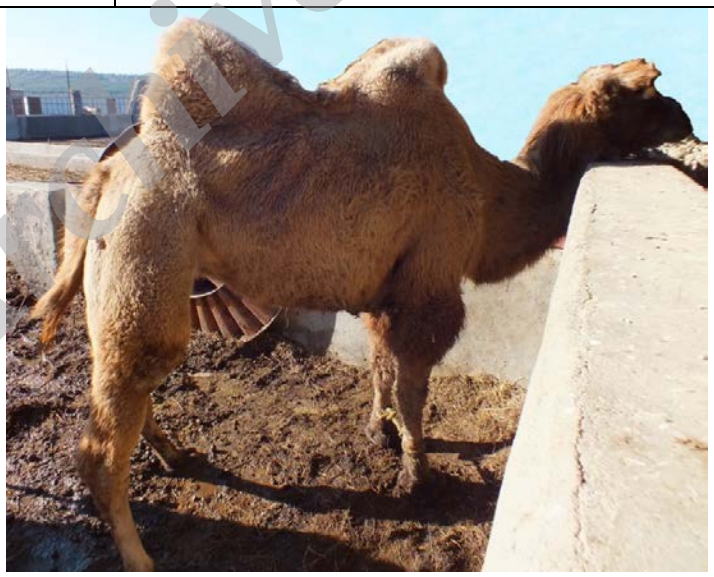
| | |
|---|---|
| **Accession no:** | IBRC C10281 |
| **Cell line name:** | CaBa 10 |
| **Genus:** | *Camelus* |
| **Species:** | *bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Name/Code:** | 93191(13) |
| **Microchip number:** | --- |
| **Sex:** | Female |
| **Colour:** | Sandy Beige |
| **Sire:** | --- |
| **Dam:** | --- |
| **Year & Place of birth :** | 2010- Ardebil, Iran. |
| **Date of sampling:** | ۰۳.Feb.۲۰۱۳ |
| **Location of sampling :** | Ministry of Jahad Agriculture, Research center of Agriculture & Natural Resources of Ardebil Province, Jafar Abaad breeding station, Iran. |

Archive of SID



www.SID.ir

| | |
|---|---|
| **Accession no:** | IBRC C10282 |
| **Cell line name:** | CaBa 11 |
| **Genus:** | *Camelus* |
| **Species:** | *bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Name/Code:** | 13090(12) |
| **Microchip number:** | --- |
| **Sex:** | Female |
| **Colour:** | Sandy Beige |
| **Sire:** | --- |
| **Dam:** | --- |
| **Year & Place of birth :** | 2009- Ardebil, Iran. |
| **Date of sampling:** | ۰۳.Feb.۲۰۱۳ |
| **Location of sampling :** | Ministry of Jahad Agriculture, Research center of Agriculture & Natural Resources of Ardebil Province, Jafar Abaad breeding station, Iran. |



Archive of SID



www.SID.ir

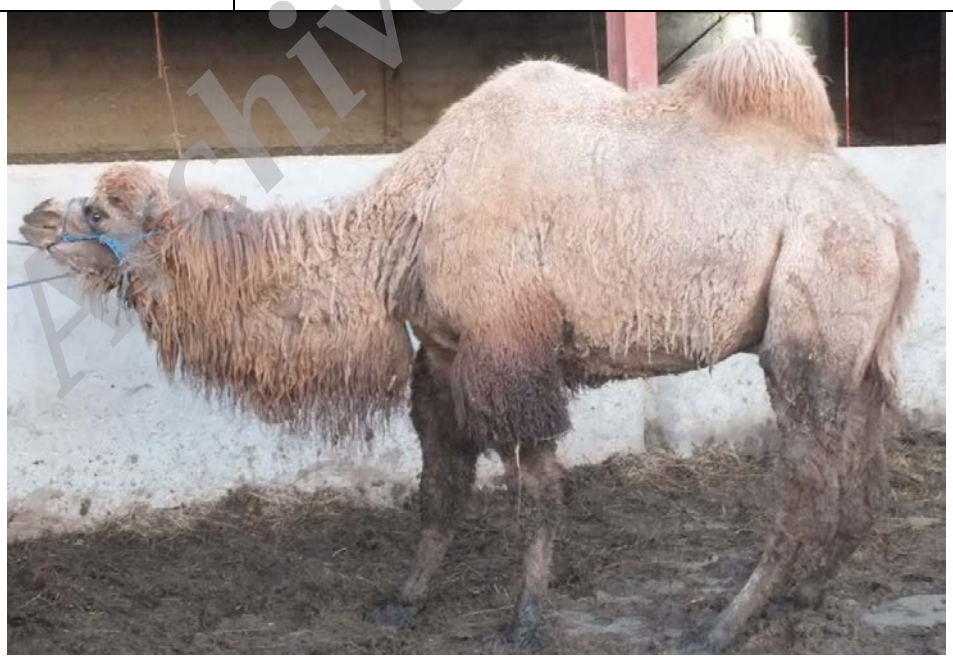
| | |
|---|---|
| **Accession no:** | IBRC C10283 |
| **Cell line name:** | CaBa 12 |
| **Genus:** | *Camelus* |
| **Species:** | *bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Name/Code:** | 93194(17) |
| **Microchip number:** | --- |
| **Sex:** | Male |
| **Colour:** | Sandy Beige |
| **Sire:** | ۹۳۱۹٤ or ۹۳۱۹۷ |
| **Dam:** | --- |
| **Year & Place of birth :** | 2006- Ardebil, Iran. |
| **Date of sampling:** | ۰۳.Feb.۲۰۱۳ |
| **Location of sampling :** | Ministry of Jahad Agriculture, Research center of Agriculture & Natural Resources of Ardebil Province, Jafar Abaad breeding station, Iran. |

Archive of SID



www.SID.ir

| | |
|---|---|
| **Accession no:** | IBRC C10284 |
| **Cell line name:** | CaBa 13 |
| **Genus:** | *Camelus* |
| **Species:** | *bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Name/Code:** | 93198(21) |
| **Microchip number:** | --- |
| **Sex:** | Male |
| **Colour:** | Sandy Beige |
| **Sire:** | --- |
| **Dam:** | --- |
| **Year & Place of birth :** | 2010- Ardebil, Iran. |
| **Date of sampling:** | ۰۳.Feb.۲۰۱۳ |
| **Location of sampling :** | Ministry of Jahad Agriculture, Research center of Agriculture & Natural Resources of Ardebil Province, Jafar Abaad breeding station, Iran. |



Archive of SID



www.SID.ir

| | |
|---|---|
| **Accession no:** | IBRC C10288 |
| **Cell line name:** | CaBa 17 |
| **Genus:** | *Camelus* |
| **Species:** | *bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Name/Code:** | Mehri |
| **Microchip number:** | --- |
| **Sex:** | Female |
| **Colour:** | Sandy Beige |
| **Sire:** | --- |
| **Dam:** | --- |
| **Year & Place of birth :** | 2000- Ardebil, Iran. |
| **Date of sampling:** | ۰۲.Feb.۲۰۱۳ |
| **Location of sampling :** | Ministry of Jahad Agriculture, Research center of Agriculture & Natural Resources of Ardebil Province (Moghan), Jahad Abaad, Iran. |

Archive of SID



www.SID.ir

| | |
|---|---|
| **Accession no:** | IBRC C10297 |
| **Cell line name:** | CaBa 23 |
| **Genus:** | *Camelus* |
| **Species:** | *bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Name/Code:** | 93195(18) |
| **Microchip number:** | --- |
| **Sex:** | Male |
| **Colour:** | Sandy Beige |
| **Sire:** | --- |
| **Dam:** | --- |
| **Year & Place of birth :** | 2009- Ardebil, Iran. |
| **Date of sampling:** | ۰۳.Feb.۲۰۱۳ |
| **Location of sampling :** | Ministry of Jahad Agriculture, Research center of Agriculture & Natural Resources of Ardebil Province, Jafar Abaad breeding station, Iran. |

Archive of SID



www.SID.ir

| | |
|---|---|
| **Accession no:** | IBRC C10298 |
| **Cell line name:** | CaBa 24 |
| **Genus:** | *Camelus* |
| **Species:** | *bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Name/Code:** | 93197(20) |
| **Microchip number:** | --- |
| **Sex:** | Female |
| **Colour:** | Sandy Beige |
| **Sire:** | ۹۳۱۹٤(۱۷) |
| **Dam:** | ۱۳۰۹۰(۱۲) |
| **Year & Place of birth :** | 2012- Ardebil, Iran. |
| **Date of sampling:** | ۰۳.Feb.۲۰۱۳ |
| **Location of sampling :** | Ministry of Jahad Agriculture, Research center of Agriculture & Natural Resources of Ardebil Province, Jafar Abaad breeding station, Iran. |

Archive of SID



www.SID.ir

| | |
|---|---|
| **Accession no:** | IBRC C10317 |
| **Cell line name:** | CaBa 25 |
| **Genus:** | *Camelus* |
| **Species:** | *bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Name/Code:** | 29539(25) |
| **Microchip number:** | --- |
| **Sex:** | Female |
| **Colour:** | Sandy Beige |
| **Sire:** | --- |
| **Dam:** | ۱۳۰۳۱(۲٤) IBRC C۱۰۳٤۹. |
| **Year & Place of birth :** | 2010- Ardebil, Iran. |
| **Date of sampling:** | ۱۲.May.۲۰۱۳ |
| **Location of sampling :** | People Flocks, Bile Savar,Ardebil Province, Iran. |
| **Animal characteristics:** | Body length: ۱٦۰ cm Heart circumference:۲۱۰cm Wither height:۱۷۰cm<br>Rump width:٤۰ cm Neck length:۱۰۰ cm Head length:٥٥ cm<br>Hump height:۳٥ cm Distance from hump to ground:۲۰٥ cm |

Archive of SID



www.SID.ir

| | |
|---|---|
| **Accession no:** | IBRC C10318 |
| **Cell line name:** | CaBa 26 |
| **Genus:** | *Camelus* |
| **Species:** | *bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Name/Code:** | 29538(28) |
| **Microchip number:** | --- |
| **Sex:** | Male |
| **Colour:** | Sandy Beige |
| **Sire:** | --- |
| **Dam:** | ۱۳۰۳۱(۲٤) IBRC C۱۰۳٤۹ |
| **Year & Place of birth :** | 2012- Ardebil, Iran. |
| **Date of sampling:** | ۱۲.May.۲۰۱۳ |
| **Location of sampling :** | People Flocks, Bile Savar,Ardebil Province, Iran. |
| **Animal characteristics:** | Body length: ۱۲۰ cm Heart circumference:۱۸۰cm Wither height:۱۷۰cm<br>Rump width:٤۰ cm Neck length:۹۰ cm Head length:٤٥ cm<br>Hump height:٤۰ cm Distance from hump to ground:۲۱۰ cm |

Archive of SID



www.SID.ir

| | |
|---|---|
| **Accession no:** | IBRC C10319 |
| **Cell line name:** | CaBa 27 |
| **Genus:** | *Camelus* |
| **Species:** | *bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Name/Code:** | 29537(29) |
| **Microchip number:** | --- |
| **Sex:** | Female |
| **Colour:** | Sandy Beige |
| **Sire:** | --- |
| **Dam:** | ۲۹۵۲۸(۲۶) IBRC C۱۰۳۵۰ |
| **Year & Place of birth :** | 2012- Ardebil, Iran. |
| **Date of sampling:** | ۱۲.May.۲۰۱۳ |
| **Location of sampling :** | People Flocks, Bile Savar,Ardebil Province, Iran. |
| **Animal characteristics:** | Body length: ۱۰۰ cm Heart circumference:۱۵۰cm Wither height:۱٤۰cm<br>Rump width:۳۵ cm Neck length:۷۰ cm Head length:۳۵ cm<br>Hump height:۳۰ cm Distance from hump to ground:۱۷۰ cm |

Archive of SID



www.SID.ir

Archive of SID



www.SID.ir

| | |
|---|---|
| **Accession no:** | IBRC C10320 |
| **Cell line name:** | CaBa 28 |
| **Genus:** | *Camelus* |
| **Species:** | *bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Name/Code:** | 29525(32) |
| **Microchip number:** | --- |
| **Sex:** | Male |
| **Colour:** | Sandy Beige |
| **Sire:** | ٢٤٨١(٢٧) IBRC C١٠٣٥١. |
| **Dam:** | ٢٠٥٩٣٨٨(٢٢) IBRC C١٠٣٤٨. |
| **Year & Place of birth :** | 2012- Ardebil, Iran. |
| **Date of sampling:** | ١٢.May.٢٠١٣ |
| **Location of sampling :** | People Flocks, Bile Savar,Ardebil Province, Iran. |
| **Animal characteristics:** | Body length: ٩٠ cm Heart circumference:١٢٠cm Wither height:١١٠cm<br>Rump width:٢٠ cm Neck length:٦٠ cm Head length:٣٣ cm<br>Hump height:٢٠ cm Distance from hump to ground:١٣٠ cm |

Archive of SID



www.SID.ir

| | |
|---|---|
| **Accession No:** | IBRC C10326 |
| **Cell line name:** | CaBa 29 |
| **Genus:** | *Camelus* |
| **Species:** | *bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Name/Code:** | 29518(17) |
| **Microchip number:** | --- |
| **Sex:** | Male |
| **Colour:** | Sandy Beige |
| **Sire:** | --- |
| **Dam:** | --- |
| **Year & Place of birth :** | 2005- Ardebil, Iran. |
| **Date of sampling:** | ۱۱.May.۲۰۱۳ |
| **Location of sampling :** | People Flocks, Jafar Abad,Ardebil Province, Iran. |
| **Animal characteristics:** | Body length: ۱٤٥ cm Heart circumference:۱۸٦cm Wither height:۱۸۰cm<br>Rump width:٤۸ cm Neck length:۱۰۳ cm Head length:٦۱ cm<br>Hump height:۳٥ cm Distance from hump to ground:۲۱٥ cm |

Archive of SID



www.SID.ir

| | |
|---|---|
| **Accession no:** | IBRC C10327 |
| **Cell line name:** | CaBa 30 |
| **Genus:** | *Camelus* |
| **Species:** | *bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Name/Code:** | 29517(18) |
| **Microchip number:** | --- |
| **Sex:** | Female |
| **Colour:** | Sandy Beige |
| **Sire:** | --- |
| **Dam:** | --- |
| **Year & Place of birth :** | 2000- Ardebil, Iran. |
| **Date of sampling:** | ١١.May.٢٠١٣ |
| **Location of sampling :** | People Flocks, Jafar Abad,Ardebil Province, Iran. |
| **Animal characteristics:** | Body length: ١٨٠ cm Heart circumference:٢٠٠cm Wither height:١٩٥cm<br>Rump width:٥٠ cm Neck length:١٣٠ cm Head length:٦٨ cm<br>Hump height:٤٥ cm Distance from hump to ground:٢٤٠ cm |

Archive of SID



www.SID.ir

| | |
|---|---|
| **Accession no:** | IBRC C10328 |
| **Cell line name:** | CaBa 31 |
| **Genus:** | *Camelus* |
| **Species:** | *bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Name/Code:** | 29527(23) |
| **Microchip number:** | --- |
| **Sex:** | Female |
| **Colour:** | Sandy Beige |
| **Sire:** | --- |
| **Dam:** | --- |
| **Year & Place of birth :** | 2004- Ardebil, Iran. |
| **Date of sampling:** | ۱۲.May.۲۰۱۳ |
| **Location of sampling :** | People Flocks, Bile Savar,Ardebil Province, Iran. |
| **Animal characteristics:** | Sister of ۲۰۰۹۳۸۸(۲۲) IBRC C۱۰۳٤۸.<br>Body length: ۱٤۰ cm Heart circumference:۲۰۰cm Wither height:۱۷۰cm<br>Rump width:۳۵ cm Neck length:۱۰۰ cm Head length:٦۱ cm<br>Hump height:٤۰ cm Distance from hump to ground:۲۱۰ cm |

Archive of SID



www.SID.ir

| | |
|---|---|
| **Accession no:** | IBRC C10329 |
| **Cell line name:** | CaBa 32 |
| **Genus:** | *Camelus* |
| **Species:** | *bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Name/Code:** | 29593(1) |
| **Microchip number:** | --- |
| **Sex:** | Female |
| **Colour:** | Sandy Beige |
| **Sire:** | --- |
| **Dam:** | --- |
| **Year & Place of birth :** | 2010- Ardebil, Iran. |
| **Date of sampling:** | ۱۱.May.۲۰۱۳ |
| **Location of sampling :** | People Flocks, Asilo Village, Aslandoz,Ardebil Province, Iran. |
| **Animal characteristics:** | Body length: ۱۰۰cm Heart circumference:۱۹۰cm Wither height:۱۶۵cm<br>Rump width:۳۰cm Neck length:۹۰cm Head length:۵۰cm<br>Hump height:۳۰cm Distance from hump to ground:۱۹۰cm |

Archive of SID



www.SID.ir

| | |
|---|---|
| **Accession no:** | IBRC C10330 |
| **Cell line name:** | CaBa 33 |
| **Genus:** | *Camelus* |
| **Species:** | *bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Name/Code:** | 2417(2) |
| **Microchip number:** | --- |
| **Sex:** | Male |
| **Colour:** | Sandy Beige |
| **Sire:** | --- |
| **Dam:** | --- |
| **Year & Place of birth :** | 2008- Ardebil, Iran. |
| **Date of sampling:** | ١١.May.٢٠١٣ |
| **Location of sampling :** | People Flocks, Asilo Village, Aslandoz,Ardebil Province, Iran. |
| **Animal characteristics:** | Body length: ١٣٥cm Heart circumference:٢٤٠cm Wither height:٢١٠cm<br>Rump width:٤٥cm Neck length:١٣٠cm Head length:٦٠cm<br>Hump height:٤٥cm Distance from hump to ground:٢٥٥cm |

Archive of SID



www.SID.ir

| | |
|---|---|
| **Accession no:** | IBRC C10331 |
| **Cell line name:** | CaBa 34 |
| **Genus:** | *Camelus* |
| **Species:** | *bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Name/Code:** | 29584(3) |
| **Microchip number:** | --- |
| **Sex:** | Female |
| **Colour:** | Sandy Beige |
| **Sire:** | --- |
| **Dam:** | --- |
| **Year & Place of birth :** | 2009- Ardebil, Iran. |
| **Date of sampling:** | ۱۱.May.۲۰۱۳ |
| **Location of sampling :** | People Flocks, Asilo Village, Aslandoz,Ardebil Province, Iran. |
| **Animal characteristics:** | Body length: ۱۰۰cm Heart circumference:۱۸۰cm Wither height:۱۶۰cm<br>Rump width:۳۰cm Neck length:۹۰cm Head length:۵۸cm<br>Hump height:۳۰cm Distance from hump to ground:۲۰۰cm |

Archive of SID

www.SID.ir

Archive of SID



www.SID.ir

| | |
|---|---|
| **Accession no:** | IBRC C10332 |
| **Cell line name:** | CaBa 35 |
| **Genus:** | *Camelus* |
| **Species:** | *bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Name/Code:** | 29592(4) |
| **Microchip number:** | --- |
| **Sex:** | Male |
| **Colour:** | Sandy Beige |
| **Sire:** | --- |
| **Dam:** | --- |
| **Year & Place of birth :** | 2011- Ardebil, Iran. |
| **Date of sampling:** | ١١.May.٢٠١٣ |
| **Location of sampling :** | People Flocks, Asilo Village, Aslandoz,Ardebil Province, Iran. |
| **Animal characteristics:** | Body length: ٨٠cm Heart circumference:١٦٠cm Wither height:١٥٠cm<br>Rump width:٣٠ cm Neck length:٨٠ cm Head length:٤٥ cm<br>Hump height:٣٠cm Distance from hump to ground:١٨٠cm |

Archive of SID



www.SID.ir

| | |
|---|---|
| **Accession no:** | IBRC C10333 |
| **Cell line name:** | CaBa 36 |
| **Genus:** | *Camelus* |
| **Species:** | *bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Name/Code:** | 29581(5) |
| **Microchip number:** | --- |
| **Sex:** | Female |
| **Colour:** | Sandy Beige |
| **Sire:** | --- |
| **Dam:** | --- |
| **Year & Place of birth :** | 2009- Ardebil, Iran. |
| **Date of sampling:** | ۱۱.May.۲۰۱۳ |
| **Location of sampling :** | People Flocks, Kachia Village, Aslandoz,Ardebil Province, Iran. |
| **Animal characteristics:** | Body length: ۱۶۰cm Heart circumference:۲۰۰cm Wither height:۱۸۰cm<br>Rump width:۳۵ cm Neck length:۱۲۰ cm Head length:۵۰ cm<br>Hump height:۳۵ cm Distance from hump to ground:۱۹۵ cm |

Archive of SID



www.SID.ir

Archive of SID



www.SID.ir

| | |
|---|---|
| **Accession no:** | IBRC C10334 |
| **Cell line name:** | CaBa 37 |
| **Genus:** | *Camelus* |
| **Species:** | *bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Name/Code:** | 2463(6) |
| **Microchip number:** | --- |
| **Sex:** | Female |
| **Colour:** | Sandy Beige |
| **Sire:** | --- |
| **Dam:** | --- |
| **Year & Place of birth :** | 2007- Ardebil, Iran. |
| **Date of sampling:** | ١١.May.٢٠١٣ |
| **Location of sampling :** | People Flocks, Kachia Village, Aslandoz,Ardebil Province, Iran. |
| **Animal characteristics:** | Body length: ١٠٠ cm Heart circumference:٢١٠cm Wither height:١٤٠cm<br>Rump width:٣٠ cm Neck length:٩٠ cm Head length:٥٥ cm<br>Hump height:٣٥ cm Distance from hump to ground:١٧٥ cm |

Archive of SID

www.SID.ir

Archive of SID



www.SID.ir

| | |
|---|---|
| **Accession no:** | IBRC C10335 |
| **Cell line name:** | CaBa 38 |
| **Genus:** | *Camelus* |
| **Species:** | *bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Name/Code:** | 29502(8) |
| **Microchip number:** | --- |
| **Sex:** | Male |
| **Colour:** | Sandy Beige |
| **Sire:** | --- |
| **Dam:** | --- |
| **Year & Place of birth :** | 2007- Ardebil, Iran. |
| **Date of sampling:** | ۱۱.May.۲۰۱۳ |
| **Location of sampling :** | People Flocks, Kachia Village, Aslandoz,Ardebil Province, Iran. |
| **Animal characteristics:** | Body length: ۱۸۰ cm Heart circumference:۲۲۰cm Wither height:۱۹۰cm<br>Rump width:۳۵ cm Neck length:۱۳۰ cm Head length:۵۵ cm<br>Hump height:۳۵ cm Distance from hump to ground:۲۲۵ cm |

Archive of SID



www.SID.ir

Archive of SID



www.SID.ir

| | |
|---|---|
| **Accession no:** | IBRC C10336 |
| **Cell line name:** | CaBa 39 |
| **Genus:** | *Camelus* |
| **Species:** | *bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Name/Code:** | 29509(19) |
| **Microchip number:** | --- |
| **Sex:** | Female |
| **Colour:** | Sandy Beige |
| **Sire:** | --- |
| **Dam:** | ۲۹۵۱۵(۲۰), IBRC C۱۰۳٤٦ |
| **Year & Place of birth :** | 2010- Ardebil, Iran. |
| **Date of sampling:** | ۱۱.May.۲۰۱۳ |
| **Location of sampling :** | People Flocks, Jafar Abad,Ardebil Province, Iran. |
| **Animal characteristics:** | Sister of ۲۹۵۱٤(۱٦) IBRC C۱۰۳٤٤.<br>Body length: ۱٤۰ cm Heart circumference:۱٦۰cm Wither height:۱۷۰cm<br>Rump width:۳۵ cm Neck length:۱۰۰ cm Head length:۵۵ cm<br>Hump height:۳۰ cm Distance from hump to ground:۲۰۰ cm |

Archive of SID



www.SID.ir

| | |
|---|---|
| **Accession no:** | IBRC C10337 |
| **Cell line name:** | CaBa 40 |
| **Genus:** | *Camelus* |
| **Species:** | *bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Name/Code:** | 29506(9) |
| **Microchip number:** | --- |
| **Sex:** | Male |
| **Colour:** | Sandy Beige |
| **Sire:** | --- |
| **Dam:** | --- |
| **Year & Place of birth :** | 2012- Ardebil, Iran. |
| **Date of sampling:** | ۱۱.May.۲۰۱۳ |
| **Location of sampling :** | People Flocks, Kachi village, Aslandoz,Ardebil Province, Iran. |
| **Animal characteristics:** | Body length: ۸۰ cm Heart circumference:۱۳۰cm Wither height:۱٤۰cm<br>Rump width:۲٥ cm Neck length:۷۰ cm Head length:٤٥ cm<br>Hump height:۳۰ cm Distance from hump to ground:۱۷۰ cm |

Archive of SID



www.SID.ir

| | |
|---|---|
| **Accession no:** | IBRC C10338 |
| **Cell line name:** | CaBa 41 |
| **Genus:** | *Camelus* |
| **Species:** | *bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Name/Code:** | 268903(10) |
| **Microchip number:** | --- |
| **Sex:** | Female |
| **Colour:** | Sandy Beige |
| **Sire:** | --- |
| **Dam:** | --- |
| **Year & Place of birth :** | 2010- Ardebil, Iran. |
| **Date of sampling:** | ۱۱.May.۲۰۱۳ |
| **Location of sampling :** | People Flocks, Jafar abad,Ardebil Province, Iran. |
| **Animal characteristics:** | Body length: ۱۰۰ cm Heart circumference:۱۸۰cm Wither height:۱۸۰cm<br>Rump width:٤٧ cm Neck length:۱۰۸ cm Head length:٦۰ cm<br>Hump height:۳۰ cm Distance from hump to ground:۲۲۰ cm |

Archive of SID



www.SID.ir

Archive of SID



www.SID.ir

| | |
|---|---|
| **Accession no:** | IBRC C10339 |
| **Cell line name:** | CaBa 42 |
| **Genus:** | *Camelus* |
| **Species:** | *bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Name/Code:** | 268901(11) |
| **Microchip number:** | --- |
| **Sex:** | Female |
| **Colour:** | Sandy Beige |
| **Sire:** | --- |
| **Dam:** | --- |
| **Year & Place of birth :** | 2008- Ardebil, Iran. |
| **Date of sampling:** | ١١.May.٢٠١٣ |
| **Location of sampling :** | People Flocks, Jafar abad,Ardebil Province, Iran. |
| **Animal characteristics:** | Body length: ١٦٥ cm Heart circumference:٢٠٠cm Wither height:١٩٥ cm<br>Rump width:٤٢ cm Neck length:٩٩ cm Head length:٥٠ cm<br>Hump height:٤٠ cm Distance from hump to ground:٢٣٥ cm |

Archive of SID



www.SID.ir

| | |
|---|---|
| **Accession no:** | IBRC C10340 |
| **Cell line name:** | CaBa 43 |
| **Genus:** | *Camelus* |
| **Species:** | *bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Name/Code:** | 29565(12) |
| **Microchip number:** | --- |
| **Sex:** | Male |
| **Colour:** | Sandy Beige |
| **Sire:** | --- |
| **Dam:** | ۲۹۵٦۲(۱۳) IBRC C۱۰۳٤۱. |
| **Year & Place of birth :** | 2010- Ardebil, Iran. |
| **Date of sampling:** | ۱۱.May.۲۰۱۳ |
| **Location of sampling :** | People Flocks, Jafar abad,Ardebil Province, Iran. |
| **Animal characteristics:** | Body length: ۱٤۰ cm Heart circumference:۱۷۰cm Wither height:۱٦۰cm<br>Rump width:٤۰ cm Neck length:۹٦ cm Head length:۵۳ cm<br>Hump height:٤۰ cm Distance from hump to ground:۲۰۰ cm |

Archive of SID



www.SID.ir

Archive of SID



www.SID.ir

| | |
|---|---|
| **Accession no:** | IBRC C10341 |
| **Cell line name:** | CaBa 44 |
| **Genus:** | *Camelus* |
| **Species:** | *bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Name/Code:** | 29562(13) |
| **Microchip number:** | --- |
| **Sex:** | Female |
| **Colour:** | Sandy Beige |
| **Sire:** | --- |
| **Dam:** | --- |
| **Year & Place of birth :** | 2006- Ardebil, Iran. |
| **Date of sampling:** | ۱۱.May.۲۰۱۳ |
| **Location of sampling :** | People Flocks, Jafar abad,Ardebil Province, Iran. |
| **Animal characteristics:** | Mother of ۲۹۵٦٥(۱۲), IBRC C۱۰۳٤۰.<br>Body length: ۱٦۰ cm Heart circumference:۱۸۰cm Wither height:۱۹۰ cm<br>Rump width:۳٥ cm Neck length:۹۰ cm Head length:٤٥ cm<br>Hump height:٤۰ cm Distance from hump to ground:۲۳۰ cm |

Archive of SID



www.SID.ir

| | |
|---|---|
| **Accession no:** | IBRC C10342 |
| **Cell line name:** | CaBa 45 |
| **Genus:** | *Camelus* |
| **Species:** | *bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Name/Code:** | 268905(14) |
| **Microchip number:** | --- |
| **Sex:** | Female |
| **Colour:** | Sandy Beige |
| **Sire:** | --- |
| **Dam:** | --- |
| **Year & Place of birth :** | 2010- Ardebil, Iran. |
| **Date of sampling:** | ۱۱.May.۲۰۱۳ |
| **Location of sampling :** | People Flocks, Jafar abad,Ardebil Province, Iran. |
| **Animal characteristics:** | Body length: ۱٦۰ cm Heart circumference:۱۹۰cm Wither height:۱۹۰cm<br>Rump width:٤٥ cm Neck length:۱۰٥ cm Head length:٥٥ cm<br>Hump height:۳٥ cm Distance from hump to ground:۲۲٥ cm |

Archive of SID



www.SID.ir

| | |
|---|---|
| **Accession no:** | IBRC C10343 |
| **Cell line name:** | CaBa 46 |
| **Genus:** | *Camelus* |
| **Species:** | *bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Name/Code:** | 29561(15) |
| **Microchip number:** | --- |
| **Sex:** | Female |
| **Colour:** | Sandy Beige |
| **Sire:** | --- |
| **Dam:** | --- |
| **Year & Place of birth :** | 2008- Ardebil, Iran. |
| **Date of sampling:** | ۱۱.May.۲۰۱۳ |
| **Location of sampling :** | People Flocks, Jafar abad,Ardebil Province, Iran. |
| **Animal characteristics:** | Body length: ۱۵۰ cm Heart circumference:۱۹۰cm Wither height:۱۸۰cm<br>Rump width:۳۵ cm Neck length:۱۰۰ cm Head length:۵۰ cm<br>Hump height:٤۰ cm Distance from hump to ground:۲۲۰ cm |

Archive of SID

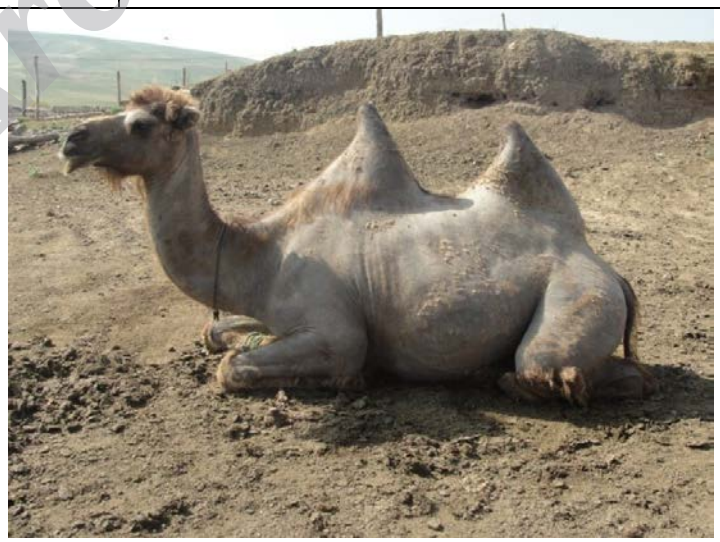
www.SID.ir

| | |
|---|---|
| **Accession no:** | IBRC C10344 |
| **Cell line name:** | CaBa 47 |
| **Genus:** | *Camelus* |
| **Species:** | *bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Name/Code:** | 29514(16) |
| **Microchip number:** | --- |
| **Sex:** | Male |
| **Colour:** | Sandy Beige |
| **Sire:** | --- |
| **Dam:** | --- |
| **Year & Place of birth :** | 2009- Ardebil, Iran. |
| **Date of sampling:** | ۱۱.May.۲۰۱۳ |
| **Location of sampling :** | People Flocks, Jafar Abad,Ardebil Province, Iran. |
| **Animal characteristics:** | Body length: ۱۴۰ cm Heart circumference:۱۶۰cm Wither height:۱۶۰cm<br>Rump width:۳۵ cm Neck length:۹۸ cm Head length:۵۹ cm<br>Hump height:۳۵ cm Distance from hump to ground:۱۶۵ cm |

Archive of SID

www.SID.ir

| | |
|---|---|
| **Accession no:** | IBRC C10347 |
| **Cell line name:** | CaBa 49 |
| **Genus:** | *Camelus* |
| **Species:** | *bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Name/Code:** | 2059389(21) |
| **Microchip number:** | --- |
| **Sex:** | Female |
| **Colour:** | Sandy Beige |
| **Sire:** | --- |
| **Dam:** | --- |
| **Year & Place of birth :** | 2008- Ardebil, Iran. |
| **Date of sampling:** | ۱۲.May.۲۰۱۳ |
| **Location of sampling :** | People Flocks, Bile Savar,Ardebil Province, Iran. |
| **Animal characteristics:** | Mother of ۲۹۵۲۶(۳۱) IBRC C۱۰۳۵۳.<br>Body length: ۱۹۰ cm Heart circumference:۲۶۰cm Wither height:۱۹۰cm<br>Rump width:۵۰ cm Neck length:۱۱۰ cm Head length:۶۰ cm<br>Hump height:۴۵ cm Distance from hump to ground:۲۴۰ cm |





Archive of SID

www.SID.ir

Archive of SID



www.SID.ir

| | |
|---|---|
| **Accession no:** | IBRC C10348 |
| **Cell line name:** | CaBa 50 |
| **Genus:** | *Camelus* |
| **Species:** | *bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Name/Code:** | 2059388(22) |
| **Microchip number:** | --- |
| **Sex:** | Female |
| **Colour:** | Sandy Beige |
| **Sire:** | --- |
| **Dam:** | --- |
| **Year & Place of birth :** | 2007- Ardebil, Iran. |
| **Date of sampling:** | ۱۲.May.۲۰۱۳ |
| **Location of sampling :** | People Flocks, Bile Savar,Ardebil Province, Iran. |
| **Animal characteristics:** | Mother of ۲۹۵۳۵(۳۰) IBRC C۱۰۳۵۲ & ۲۹۵۲۵(۳۲) IBRC C۱۰۳۲۰ & Sister of ۲۹۵۲۷(۲۳), IBRC C۱۰۳۲۸.<br>Body length: ۱۵۰ cm Heart circumference:۲٤٥cm Wither height:۱٦۰cm<br>Rump width:٤۰ cm Neck length:۹۰ cm Head length:٥٥ cm<br>Hump height:٤٥ cm Distance from hump to ground:۲۰٥ cm |

Archive of SID



www.SID.ir

Archive of SID



www.SID.ir

| | |
|---|---|
| **Accession no:** | IBRC C10349 |
| **Cell line name:** | CaBa 51 |
| **Genus:** | *Camelus* |
| **Species:** | *bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Name/Code:** | 13031(24) |
| **Microchip number:** | --- |
| **Sex:** | Female |
| **Colour:** | Sandy Beige |
| **Sire:** | --- |
| **Dam:** | --- |
| **Year & Place of birth :** | 2006- Ardebil, Iran. |
| **Date of sampling:** | ۱۲.May.۲۰۱۳ |
| **Location of sampling :** | People Flocks, Bile Savar,Ardebil Province, Iran. |
| **Animal characteristics:** | Mother of ۲۹۵۳۹(۲۵) IBRC C۱۰۳۱۷ , ۲۹۵۳۸(۲۸)IBRC C۱۰۳۱۸.<br>Body length: ۱۶۵ cm Heart circumference:۲۳۰cm Wither height:۱۸۰cm<br>Rump width:٤٨ cm Neck length:۱۰۵ cm Head length:٦٢ cm<br>Hump height:٤٥ cm Distance from hump to ground:۲۲۵ cm |

Archive of SID



www.SID.ir

Archive of SID



www.SID.ir

| | |
|---|---|
| **Accession no:** | IBRC C10350 |
| **Cell line name:** | CaBa 52 |
| **Genus:** | *Camelus* |
| **Species:** | *bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Name/Code:** | 29528(26) |
| **Microchip number:** | --- |
| **Sex:** | Female |
| **Colour:** | Sandy Beige |
| **Sire:** | --- |
| **Dam:** | --- |
| **Year & Place of birth :** | 2007- Ardebil, Iran. |
| **Date of sampling:** | ۱۲.May.۲۰۱۳ |
| **Location of sampling :** | People Flocks, Bile Savar,Ardebil Province, Iran. |
| **Animal characteristics:** | Mother of ۲۹۵۳۷(۲۹) IBRC C۱۰۳۱۹.<br>Body length: ۱۷۰ cm Heart circumference:۲۳۰cm Wither height:۱۸۰cm<br>Rump width:٤٥ cm Neck length:۱۱۰ cm Head length:٦۰ cm<br>Hump height:٤۰ cm Distance from hump to ground:۲۲۰ cm |

Archive of SID



www.SID.ir

Archive of SID



www.SID.ir

| | |
|---|---|
| **Accession no:** | IBRC C10351 |
| **Cell line name:** | CaBa 53 |
| **Genus:** | *Camelus* |
| **Species:** | *bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Name/Code:** | 2481(27) |
| **Microchip number:** | --- |
| **Sex:** | Male |
| **Colour:** | Sandy Beige |
| **Sire:** | --- |
| **Dam:** | --- |
| **Year & Place of birth :** | 2004- Ardebil, Iran. |
| **Date of sampling:** | ۱۲.May.۲۰۱۳ |
| **Location of sampling :** | People Flocks, Bile Savar,Ardebil Province, Iran. |
| **Animal characteristics:** | Father of ۲۹۵۲۶(۳۱) IBRC C۱۰۳۵۳.<br>Body length: ۱۳۵ cm Heart circumference:۲۲۰cm Wither height:۱۷۰cm<br>Rump width:۳۵ cm Neck length:۱۲۰ cm Head length:۵۵ cm<br>Hump height:٤۰ cm Distance from hump to ground:۲۱۰ cm |

Archive of SID



www.SID.ir

Archive of SID



www.SID.ir

| | |
|---|---|
| **Accession no:** | IBRC C10352 |
| **Cell line name:** | CaBa 54 |
| **Genus:** | *Camelus* |
| **Species:** | *bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Name/Code:** | 29535(30) |
| **Microchip number:** | --- |
| **Sex:** | Female |
| **Colour:** | Sandy Beige |
| **Sire:** | --- |
| **Dam:** | ۲۰۵۹۳۸۹(۲۲) IBRC C۱۰۳٤۸. |
| **Year & Place of birth :** | 2011- Ardebil, Iran. |
| **Date of sampling:** | ۱۲.May.۲۰۱۳ |
| **Location of sampling :** | People Flocks, Bile Savar,Ardebil Province, Iran. |
| **Animal characteristics:** | Body length: ۱٤۰ cm Heart circumference:۲۲۰cm Wither height:۱٦٥cm<br>Rump width:۳٥ cm Neck length:۱۰۰ cm Head length:٤٥ cm<br>Hump height:٤۰ cm Distance from hump to ground:۲۰٥ cm |

Archive of SID



www.SID.ir

| | |
|---|---|
| **Accession no:** | IBRC C10353 |
| **Cell line name:** | CaBa 55 |
| **Genus:** | *Camelus* |
| **Species:** | *bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Name/Code:** | 29526(31) |
| **Microchip number:** | --- |
| **Sex:** | Male |
| **Colour:** | Sandy Beige |
| **Sire:** | ٢٤٨١(٢٧) IBRC C١٠٣٥١. |
| **Dam:** | ٢٠٥٩٣٨٩(٢١) IBRC C١٠٣٤٧. |
| **Year & Place of birth :** | 2012- Ardebil, Iran. |
| **Date of sampling:** | ١٢.May.٢٠١٣ |
| **Location of sampling :** | People Flocks, Bile Savar,Ardebil Province, Iran. |
| **Animal characteristics:** | Body length: ٩٠ cm Heart circumference:١٢٠cm Wither height:١١٠cm<br>Rump width:٣٠ cm Neck length:٦٠ cm Head length:٣٠ cm<br>Hump height:٢٠ cm Distance from hump to ground:١٤٠ cm |

Archive of SID



www.SID.ir

Archive of SID



www.SID.ir

| | |
|---|---|
| **Accession no:** | IBRC C10399 |
| **Cell line name:** | CaBa 56 |
| **Genus:** | *Camelus* |
| **Species:** | *bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Name/Code:** | Ghashgha Mayeh (2) |
| **Microchip number:** | ---- |
| **Sex:** | Female |
| **Colour:** | Sandy Beige |
| **Sire:** | ---- |
| **Dam:** | ---- |
| **Year & Place of birth :** | 2000- Ardebil, Iran. |
| **Date of sampling:** | ۱۲.Oct.۲۰۱۳ |
| **Location of sampling :** | Ministry of Jahad Agriculture, Research center of Agriculture & Natural Resources of Ardebil Province (Meshkin Shahr), Jahad Abaad, Iran. |

Archive of SID



www.SID.ir

| | |
|---|---|
| **Accession no:** | IBRC C10400 |
| **Cell line name:** | CaBa 57 |
| **Genus:** | *Camelus* |
| **Species:** | *bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Name/Code:** | Katrin (3) |
| **Microchip number:** | ---- |
| **Sex:** | Female |
| **Colour:** | Sandy Beige |
| **Sire:** | ---- |
| **Dam:** | ---- |
| **Year & Place of birth :** | 2012- Ardebil, Iran. |
| **Date of sampling:** | ۱۲.Oct.۲۰۱۳ |
| **Location of sampling :** | Ministry of Jahad Agriculture, Research center of Agriculture & Natural Resources of Ardebil Province (Meshkin Shahr), Jahad Abaad, Iran. |

Archive of SID



www.SID.ir

| | |
|---|---|
| **Accession no:** | IBRC C10401 |
| **Cell line name:** | CaBa 58 |
| **Genus:** | *Camelus* |
| **Species:** | *bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Name/Code:** | Ghare chai |
| **Microchip number:** | ---- |
| **Sex:** | Female |
| **Colour:** | Sandy Beige |
| **Sire:** | ---- |
| **Dam:** | ---- |
| **Year & Place of birth :** | 2012- Ardebil, Iran. |
| **Date of sampling:** | ۱۲.Oct.۲۰۱۳ |
| **Location of sampling :** | Ministry of Jahad Agriculture, Research center of Agriculture & Natural Resources of Ardebil Province (Meshkin Shahr), Jahad Abaad, Iran. |

Archive of SID



www.SID.ir

| | |
|---|---|
| **Accession no:** | IBRC C10402 |
| **Cell line name:** | CaBa 59 |
| **Genus:** | *Camelus* |
| **Species:** | *bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Name/Code:** | Moharam (7) |
| **Microchip number:** | ---- |
| **Sex:** | Male |
| **Colour:** | Sandy Beige |
| **Sire:** | ---- |
| **Dam:** | Mehri |
| **Year & Place of birth :** | 2011- Ardebil, Iran. |
| **Date of sampling:** | ۱۲.Oct.۲۰۱۳ |
| **Location of sampling :** | Ministry of Jahad Agriculture, Research center of Agriculture & Natural Resources of Ardebil Province (Meshkin Shahr), Jahad Abaad, Iran. |

Archive of SID



www.SID.ir

| | |
|---|---|
| **Accession no:** | IBRC C10403 |
| **Cell line name:** | CaBa 60 |
| **Genus:** | *Camelus* |
| **Species:** | *bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Name/Code:** | Oja boghor (8) |
| **Microchip number:** | ---- |
| **Sex:** | Male |
| **Colour:** | Sandy Beige |
| **Sire:** | ---- |
| **Dam:** | ---- |
| **Year & Place of birth :** | 2011- Ardebil, Iran. |
| **Date of sampling:** | ۱۲.Oct.۲۰۱۳ |
| **Location of sampling :** | Ministry of Jahad Agriculture, Research center of Agriculture & Natural Resources of Ardebil Province (Meshkin Shahr), Jahad Abaad, Iran. |

Archive of SID



www.SID.ir

| | |
|---|---|
| **Accession no:** | IBRC C10404 |
| **Cell line name:** | CaBa 61 |
| **Genus:** | *Camelus* |
| **Species:** | *bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Name/Code:** | Ghare boghor (10) |
| **Microchip number:** | ---- |
| **Sex:** | Male |
| **Colour:** | Sandy Beige |
| **Sire:** | ---- |
| **Dam:** | ---- |
| **Year & Place of birth :** | 2011- Ardebil, Iran. |
| **Date of sampling:** | ۱۲.Oct.۲۰۱۳ |
| **Location of sampling :** | Ministry of Jahad Agriculture, Research center of Agriculture & Natural Resources of Ardebil Province (Meshkin Shahr), Jahad Abaad, Iran. |

Archive of SID



www.SID.ir

| | |
|---|---|
| **Accession no:** | IBRC C10405 |
| **Cell line name:** | CaBa 62 |
| **Genus:** | *Camelus* |
| **Species:** | *bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Name/Code:** | Maryam (11) |
| **Microchip number:** | ---- |
| **Sex:** | Female |
| **Colour:** | Sandy Beige |
| **Sire:** | ---- |
| **Dam:** | ---- |
| **Year & Place of birth :** | 2009- Ardebil, Iran. |
| **Date of sampling:** | ۱۲.Oct.۲۰۱۳ |
| **Location of sampling :** | Ministry of Jahad Agriculture, Research center of Agriculture & Natural Resources of Ardebil Province (Meshkin Shahr), Jahad Abaad, Iran. |

Archive of SID



www.SID.ir

| | |
|---|---|
| **Accession no:** | IBRC C10406 |
| **Cell line name:** | CaBa 63 |
| **Genus:** | *Camelus* |
| **Species:** | *bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Name/Code:** | Sari boghor (12) |
| **Microchip number:** | ---- |
| **Sex:** | Male |
| **Colour:** | Sandy Beige |
| **Sire:** | ---- |
| **Dam:** | ---- |
| **Year & Place of birth :** | 2010- Ardebil, Iran. |
| **Date of sampling:** | ۱۲.Oct.۲۰۱۳ |
| **Location of sampling :** | Ministry of Jahad Agriculture, Research center of Agriculture & Natural Resources of Ardebil Province (Meshkin Shahr), Jahad Abaad, Iran. |

Archive of SID

www.SID.ir

| | |
|---|---|
| **Accession no:** | IBRC C10416 |
| **Cell line name:** | CaBa 64 |
| **Genus:** | *Camelus* |
| **Species:** | *bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Name/Code:** | Maya chai |
| **Microchip number:** | ---- |
| **Sex:** | Female |
| **Colour:** | Sandy Beige |
| **Sire:** | ---- |
| **Dam:** | ---- |
| **Year & Place of birth :** | 2012- Ardebil, Iran. |
| **Date of sampling:** | ۱۲.Oct.۲۰۱۳ |
| **Location of sampling :** | Ministry of Jahad Agriculture, Research center of Agriculture & Natural Resources of Ardebil Province (Meshkin Shahr), Jahad Abaad, Iran. |

Archive of SID



www.SID.ir

| | |
|---|---|
| **Accession no:** | IBRC C10417 |
| **Cell line name:** | CaBa 65 |
| **Genus:** | *Camelus* |
| **Species:** | *bactrianus* |
| **Breed:** | Bactrian |
| **Name/Code:** | Elizabet (6) |
| **Microchip number:** | ---- |
| **Sex:** | Female |
| **Colour:** | Sandy Beige |
| **Sire:** | ---- |
| **Dam:** | ---- |
| **Year & Place of birth :** | 2012- Ardebil, Iran. |
| **Date of sampling:** | ۱۲.Oct.۲۰۱۳ |
| **Location of sampling :** | Ministry of Jahad Agriculture, Research center of Agriculture & Natural Resources of Ardebil Province (Meshkin Shahr), Jahad Abaad, Iran. |

Archive of SID



www.SID.ir

# منابع

Archive of SID



www.SID.ir

## References


۱- مقدس، احسان و پیشنمازززاده، کاظم. درآمدی بر شناخت نژادهای شتر در ایران. ماهنامه مزرعه، شماره 11، بهمن و اسفند 1376.

۱) Bai, D et al. ۲۰۱۲. PiggtBac Transposon-Mediated Gene Transfer in Cashmere Goat Fetal Fibroblast Cells. *Biosci. Biotechnol* ۷٦(٥), ۹۳۳-۹۳۷.

۲) Barker,J.S.F. ۱۹۹۹. Conservation of Livestock Breed Diversity. Dep of Animal Science, University of New England, Armidale, Australia .

۳) Chen, Y., Zhao, J., Zhang, H.Q., and Zhou, H.M. ۲۰۰٦. Establishmentof fibroblast line of adult sheep skin. J. Inner Mongolia Agric. Univ. ۲: ۱۳–۱٦. [Natural Science Edition.]

٤) Chunyu, BAI et al. ۲۰۱۲. Establishment and biological research of the Jining Grey goat fi broblast line. Anim. Sci.; ۳٦(٦): ٦٥۹-٦٦۷

٥) Cord C.Uphoff and Hans G.Drexler. ۲۰۰۷. Basic Cell Culture Protocols. In: C.D.Hegason and C.L.Miller,editor.

٦) Freshney, R.I. ed. ۲۰۱۰. Culture of animal cell : a manual of basic technique and specialized applications.pp:۳۱۷-۳۲۷,۱۹۷-۲۰٦.

۷) Gibson, J. et. ۲۰۰٥. Options and Strategies for the Conservation of Farm Animal Genetic Researches. Report of an International Workshop.

۸) Groeneveld E ۲۰۰۸. A world wide emergency programme for the creation of national genebanks of endangered breeds in animal agriculture. Animal Genetic Resources Information ۳٦, ۱–٦.

۹) Ho, S.K., Lister, E.E., and Touchbum, S.P. ۱۹۹۷. An overview of Canadian farm animal genetic resources conservation and its associated biotechnological approaches. Proceedings of the International Conference of Animal Biotechnology, ۱۰–۱٤ June ۱۹۹۷, Beijing, China. International Academic Publishers, Beijing, China. pp. ۱٥٥–۱٦۰.

۱۰) Jason K. Cooper ., Greg Sykes ., Steve King ., Karin Cottrill ., et al.۲۰۰۷. Species identification in cell culture: a two-pronged molecular approach. In Vitro Cell.Dev.Biol.—Animal ,٤۳:۳٤٤–۳٥۱.




Archive of SID

www.SID.ir

۱۱) Kawarai, S., Hashizaki, K., and Kitao, S. ۲۰۰٦. Establishment and characterization of primary canine hepatocellular carcinoma cell lines producing alpha-fetoprotein. Vet. Immunol. Immunopathol. ۱۱۳: ۳۰–۳٦. doi:۱۰.۱۰۱٦/j.vetimm.۲۰۰٦.۰۳.۰۰٦. PMID:۱٦٦۷۸۹۱۱.

۱۲) Lf, L et al. ۲۰۰۹. Establishment and characterization of a fibroblast cell line derived from Texel sheep. *Biochem Cell Biol*.۸۷(۳):٤۸٥-۹۲.

۱۳) Li, Fi et al. ۲۰۰۹. Establishment and characterization of a fibroblast cell line from the Mongolian horse. In Vitro Cell Dev Biol Animal. ٤٥(۷):۳۱۱-٦.

۱٤) Liu, C., Guo, Y., Guan, W.J., Ma, Y.H., Zhang, H.H., and Tang, X.۲۰۰۸. Establishment and biological characteristic of Luxi cattle fibroblast bank. Tissue Cell, ٤۰: ٤۱۷–٤۲٤. doi:۱۰.۱۰۱٦/j.tice.۲۰۰۸.۰٤.۰۰٥. PMID:۱۸٥۷۹۱۷۲.

۱٥) Ma, Y.H., Zhou, X.M., Guan, W.J., and Zhao, D.M. ۲۰۰٤. Establishment and identification of Debao pony ear marginal tissue fibroblast cell line. Asian-Australas. J. Anim. Sci. ۱۷: ۱۳۳۸–۱۳٤۳.

۱٦) Nakayama, A et al.۲۰۰۷. Efficient Transfection of Primarily Cultured Porcine Embryonic Fibroblasts Using the Amaxa Nucleofection System.*Cloning and Stem*, Volume ۹, Number ٤.

۱۷) Oishi, T. ۱۹۹۷. Conservation and evaluation of animal genetic resources. Farming Jpn. ٦: ۱۸–۲٥.

۱۸) Oliveira, R et al. ۲۰۰٥. Effectiveness of liposomes to transfect livestock fibroblasts *Genetics and Molecular Research* ٤ (۲): ۱۸٥-۱۹٦

۱۹) Park, F. ۲۰۰۷. Lentiviral vectors: are they the future of animal transgenesis. *Physiol Genomics* ۳۱: ۱٥۹–۱۷۳.

۲۰) Park, M.C., Kim, J.Y., Kim, S.B., Park, Y.S., Park, H.D., Lee, J.H., et al. ۲۰۰۹. The effect of cryopreservation on the mouse embryos at various pronuclear stages. Asian-Australas. J. Anim. Sci. ۲۲: ۱۷٤.




Archive of SID

www.SID.ir

۲۱) Ren, F.L., Li, Y., Zhang, Y., ۲۰۰۲. In vitro cultivation and freezing of bovine skin fibroblast cells. Scalper Magazine ۲۸, ۸–۱۰.

۲۲) Shen, Y.X., and Zheng, J. ۱۹۸۳. Karyotypic analysis of lake sheep of Tai Lake district. Hereditas (Beijing), ۵: ۳۷–۳۸. doi:۱۰.۱۰۱٦/j. theriogenology.۲۰۰۵.۰٤.۰۳۳. PMID:۱٦۰۲٦۸۱۸.

۲۳) Shi, L.M. ۱۹۸۹. Freezing zoo — establishment and application of wild animal cell banks. Biol. Bull. ٦: ۱–۳.

۲٤) Simon, D.L. ۱۹۹۹. Better decisions in conservation of farm animal genetic resources by use of international sources of information. Information in Decision Making in Agricultural Research and Practice. Freising Press, Germany.

۲۵) Takashima, A., ۱۹۹۸. Establishment of Fibroblast Cultures. Current Protocols in Cell Biology,۲ .۱.۱- ۲.۱.۱۲.

۲٦) Yun, J.I., Koo, B.S., Yun, S.W., and Lee, C.K. ۲۰۰۸. In vitro development of interspecies somatic cell nuclear transfer embryosderived from murine embryonic fibroblasts and bovine oocytes. Asian-Austalas. J. Anim. Sci. ۲۱: ۱٦٦۵–۱٦۷۲.

۲۷) Wu, H. Guan, W.J., Li, H., and Ma, Y.H. ۲۰۰۸. Establishment and characteristics of white ear lobe chicken embryo fibroblast line and expression of six fluorescent proteins in the cells. Cell Biol. Int. ۳۲: ۱٤۷۸–۱٤۸۵. doi:۱۰.۱۰۱٦/j.cellbi.۲۰۰۸.۰۸.۰۰٦. PMID:۱۸۷۷۵۷۸٦.

۲۸) Zhang, L.J., Liu, H.F., and Li, X.W. ۲۰۰۸. The establishment of fibroblast cell line and its biological characteristic research inTaihu Pig. J. Sichuan Agric. Univ. ۱: ۸۵–۸۸.

۲۹) Zhou, X.M., Ma, Y.H., Guan, W.J., Wen, J., and Li, H. ۲۰۰۵. Establishment and characteristics of a Beijing fatty chicken embryofibroblast cell line. Chin. J. Anim. Vet. Sci. ۳: ۲۰۹–۲۱۵.

۳۰) http://www.cabri.org/guidelines/animal/AHC۹۸۳۳۳۲۱.html




Archive of SID

www.SID.ir

**Abstract:**

*Bactrian camel* was domesticated ۲۵۰۰ BCE, probably in northern Iran. Iranian *Bactrian camel(TwoHump camel)*lives in northwest of Iran (Ardebil province) and they are one of the endangered livestock breeds. Preserved and registered this breed for Iran is the first researcher missions. In this project, sampling was done from people flock and research institutions in Ardebil province. Ear skin tissue was sampled from ٦٥ Bactrian camel and cultured in high glucose DMEM.We cultured Bactrian camel fibroblasts in vitro, analyzed their biological characteristics, chromosomes and cell cycles. Twenty four hours, ٤, ٧ and ١٤ days after seeding, the number of cells assessed and growth curve was plotted. ٧ cell lines were removed due to non- proliferation and infection observed and ٥٨ cell lines were generated. Tests for cell lines contamination with bacteria, fungi, or mycoplasmas were also negative. Forallsamples,Chromosome images(karyotyping), birth certificate, cells image, animal photo, breed and horses Specificationswere taken. The results indicated that Bactrian camel ear fibroblasts can be successfully obtained by tissue culture andcell line creationofendangeredspeciesis one of themost functional, fastest and economicalwaystopreservedgenetic resources.

**Key words:** Bactrian camel (Two Hump camel), Fibroblast cell line, Conservation

Archive of SID



www.SID.ir

**Islamic Republic of Iran**

**Academic Center for Education, Culture and Research (ACECR)**

**Iranian Biological Resource Center (IBRC)**

**Human and Animal Cell Bank**

**Project name:**

# Establishment Bactrian camel cell collection for conservation animal genetic resources

**Project Code:**

**٢١٤٠-٤٤**

**Project officer:**

**Abolhasan Shahzadeh Fazeli**

**Final Report:**

**Apr ٢٠١٥**



Archive of SID

www.SID.ir