

تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیکی ژنومی و پروتئومی دو نوع پروتئین شوک حرارتی (HSP90-)

a و HSP90-b) نژاد بز تالی و مقایسه آنها در هفت گونه حیوان اهلی

الهام رضوان نژاد

ایران، کرمان دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، گروه بیوتکنولوژی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۱/۱۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۷/۱۱

چکیده

پروتئین‌های شوک حرارتی (HSPs) نقش مهمی در پاسخ به تنش‌های محیطی مختلف دارند. در این مطالعه، ویژگی‌های ژنومی و پروتئومی دو نوع HSP (HSP90-a و HSP90-b) در بز نژاد تالی (Tali goat breed) به علاوه ۷ گونه حیوان اهلی شامل گاو (*B. taurus*)، گاو میش (*B. bubalis*)، گاو زیو (*B. indicus*)، بز (*C. hircus*)، گوسفند (*O. aries*)، شتر تک کوهانه (*C. dromedarius*)، شتر دوکوهانه (*C. bactrianus*) با استفاده از ابزارهای مدل‌سازی و تجزیه و تحلیل فیلوژنتیک، هم‌ترازی توالی چندگانه و سوییس مدل مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. با استفاده از تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیکی جایگاه دو ژن برای گونه‌های مورد بررسی تعیین گردید و مشخص شد جایگاه آنها در ژنوم شتر دوکوهانه تعیین نگردیده است. تعداد آگزون‌ها برای HSP90-a و HSP90-b در تمام گونه‌های مورد بررسی بجز دو گونه شتر مشابه بود. مقایسه جهش‌های اتفاق افتاده در نژاد تالی بز با بز رفرنس نشان داد که هیچ کدام از جهش‌های بروز یافته منجر به تغییر اسید آمینه نشده است. تجزیه و تحلیل ExPasy نشان داد که HSP90-a و HSP90-b به ترتیب ۷۳۳ و ۷۲۴ اسید آمینه را برای همه گونه‌ها، بجز شتر دوکوهانه (۶۴۹ اسید آمینه برای توالی HSP90-a) کد می‌کنند. داده‌ها نشان داد که پروتئین HSP90-a در گاو میش و شتر تک کوهانه دارای یک اسید آمینه متغیر و در شتر دوکوهانه دارای شش اسید آمینه متغیر است، در حالی که پروتئین HSP90-b تنها شتر تک کوهانه و دوکوهانه دارای دو اسید آمینه متغیر می‌باشند. مطالعه حاضر می‌تواند در انتخاب ژن‌های هدف برای سازگاری مولکولی دام کمک کننده باشد.

واژه‌های کلیدی: پروتئین‌های شوک حرارتی (HSPs)، سازگار شدن گرمایی، تجزیه و تحلیل ژنومی، تجزیه و تحلیل پروتئومی، گونه‌های حیوانات اهلی

* نویسنده مسئول، پست الکترونیکی: rezvannejad2002@yahoo.com

مقدمه

می‌توان دانست که آنها دارای مکانیسم‌های تطبیقی زیادی برای زنده ماندن در شرایط آب و هوایی نامساعد می‌باشند (3,4,36).

مطالعات مختلف نشان داده‌اند که استرس گرمایی اثرات منفی بر بهره‌وری حیوانات، مانند رشد، تولید شیر، مصرف خوراک، باروری و سلامت آنها دارد (35). اخیراً با توجه به آگاهی روزافزون به تأثیر گرمایش جهانی بر سیستم‌های تولید حیوانات، نگرانی‌های بیشتری در مورد اثرات

تغییرات اقلیم جهانی باعث ایجاد اثرات مخرب زیادی از جمله کاهش کیفیت و کمیت مراتع و منابع آب، تشدید شیوع آفات و بیماری‌های جدید در دوره‌های خشکسالی و در نهایت کاهش کیفیت و کمیت محصولات مانند شیر و گوشت می‌شود که منجر به خسارت اقتصادی در صنعت دام زنده خواهد شد (5,6). از آنجا که حیوانات با اصلاح ویژگی‌های فنوتیپی و ژنوتیپی خود در دوره‌های طولانی با شرایط نامطلوب محیطی سازگار می‌شوند (6,32)

کنترل چرخه سلولی، بقای سلولی، هموستاز هورمونی، اتوفازی و آپوپتوز را هماهنگ می‌کنند (24). علاوه بر این، مطالعات قبلی نشان داده‌اند که بیان ژن HSP در فولیکول‌های مو در گوساله‌های گوشتی، سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی در گاو مطالب دقیقی را برای ارزیابی استرس گرمایی فراهم می‌کند و می‌تواند یک شاخص جدید استرس گرمایی در گاو در نظر گرفته شود (10,21). فرض بر این است که ژن‌های HSP ممکن است به‌عنوان نشانگرهای زیستی برای ارزیابی پاسخ استرس در گاو و گاومیش مورد استفاده قرار گیرند و بیان اختصاصی بر اساس گونه و نژاد خاص داشته باشند (10,22). علاوه بر این، تفاوت در بیان پروتئین‌های HSP با مقاومت حرارتی و سازگاری با شرایط مختلف آب و هوایی مرتبط است. مشخص شده است که تفاوت در الگوی رونوشت خانواده HSP70 و سایر ژن‌های HSP در طول فصول مختلف ممکن است دلیل عمده مکانیسم قابل توجه برای سازگاری بهتر در گاو زبو هند باشد (22). مقایسه ژنومیک و پروتئومیک ژن‌ها و پروتئین‌های شوک حرارتی بین گونه‌های جانوری نزدیک به هم شرایط را برای درک رابطه تکاملی HSP ها و فشارهای انتخابی که تکامل این ژن‌ها را کنترل می‌کنند، فراهم می‌کند. تحقیق حاضرگامی برای درک چندشکلی ژنتیکی بین برخی از گونه‌های حیوانات اهلی است که انواع مختلفی از سازگاری را با استرس گرمایی متحمل شده‌اند و از جمله این نژادها بز تالی متعلق به ناحیه گرمسیری جنوب ایران می‌باشد. این مطالعه به درک چگونگی واکنش جانداران به استرس‌های محیطی کمک کند و برای بهبود نحوه انتخاب در آینده مفید می‌باشد.

مواد و روشها

توالی یابی کل ژنوم حیوانات مورد استفاده

نمونه خون از ۱۵ راس بز از نژاد تالی در استان هرمزگان (منطقه گرمسیری) ایران جمع‌آوری شد. DNA از نمونه

استرس گرمایی مطرح شده است (4,43). با این حال، چگونگی و چرایی اینکه استرس چنین اثرات منفی بر حیوانات در سطوح سلولی و مولکولی دارد، نامشخص باقی مانده است. لذا شناسایی و درک ژن‌های مرتبط با تحمل گرما و پروتئین‌های آنها در نژادهای مقاوم به گرما و مقایسه آنها با سایر موجودات به منظور کاهش تاثیر منفی استرس گرمایی می‌تواند موثر باشد (13). به این ترتیب، درک تنوع ژنومی و پروتئومی می‌تواند برای شناسایی و تفسیر مؤلفه‌های ژنتیکی صفات مرتبط به سازگاری مفید باشد (15).

پروتئین‌های شوک حرارتی (HSPs) گروهی از چپرون‌های مولکولی هستند که از تجمع پروتئین‌های غیر اختصاصی اجتناب می‌کنند و به پروتئین‌های سلولی کمک می‌کنند تا ساختار اصلی خود را برای حفظ هموستاز سلولی به دست آورند (3,37). HSPها یک خانواده پروتئینی بزرگ هستند که به سلول‌ها اجازه می‌دهند به تدریج با محیط در حال تغییر سازگار شوند و در نتیجه تأثیر قابل توجهی بر سازگاری حرارتی و تحمل استرس دارند (16). پاسخ سلولی به استرس گرمایی شامل فعال شدن فاکتورهای شوک حرارتی، بهبود بیان HSPs، افزایش سطح اکسیداسیون اسیدهای آمینه و گلوکز، کاهش متابولیسم اسیدهای چرب، و تحریک سیستم ایمنی و غدد درون ریز از طریق ترشح خارج سلولی HSPs است (3,8). HSPها پروتئین‌هایی هستند که تقریباً در همه موجودات پروکاریوتی و یوکاریوتی وجود دارند. در میان آن‌ها، HSP70 ها نقش اصلی را در کنترل کیفیت پروتئین و تا شدن پروتئین ایفا می‌کنند که منجر به جلوگیری از تجمع پروتئین و تصحیح پروتئین‌های بدتأخورد می‌شود (26). خانواده پروتئین‌های HSP90 پستانداران مجموعه‌ای از مولکول‌های بسیار حفاظت‌شده هستند که در فعالیت‌های سلولی مختلف شرکت می‌کنند (17). توزیع آنها در مکان‌های مختلف سلولی نقش مهم آنها را در هموستاز سلولی برجسته می‌کند. گروه پروتئین‌های HSP90 مسیرهای فیزیولوژیکی ضروری مانند

اگزون‌ها و ترسیم شجره فیلوژنتیکی با استفاده از برنامه (7) CLC Genomics Workbench صورت گرفت.

همچنین جهت تعیین تغییرات ژنتیکی در توالی ژن بز تالی نسبت به بز رفرنس و سایر گونه‌های مورد مطالعه و همچنین تاثیر آنها بر توالی پروتئین، تمام SNP‌های موجود در توالی ژنهای HSP90-a و HSP90-b در بز نژاد تالی با استفاده از وب سایت VEP.ensembl (<https://asia.ensembl.org/info/docs/tools/vep/index.html>) (19,27) تحت همترازی چندگانه قرار گرفتند. علاوه بر این تمامی SNP‌ها، محل قرارگیری و تاثیر آنها بر توالی پروتئین در تمامی گونه‌های مورد بررسی با استفاده از Cluster omega (<https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>) (38) بررسی هم‌تراز شده و مورد مطالعه قرار گرفت.

مدل سازی پروتئین

ساختارهای سه بعدی (3D) پروتئین‌های HSP90-a و HSP90-b با استفاده از وب سایت سوییس مدل (<https://swissmodel.expasy.org/interactive>) (42) پیش بینی شدند.

نتایج و بحث

اندازه ژنوم، متوسط GC٪

و تعداد متوسط پروتئین‌های حیوانات مورد مطالعه

اطلاعات مربوط به ژنوم بز (*Capra hircus*)، گاو (*Bos taurus*)، گاومیش (*Bubalus bubalis*)، گاو زبو (*Bos indicus*)، گوسفند (*Ovis aries*)، شتر تک کوهانه (*Camelus dromedarius*) و شتر دوکوهانه (*Camelus bactrianus*) از پایگاه داده NCBI به دست آمد (جدول ۱).

با توجه به اطلاعات موجود در پایگاه داده NCBI، ژنوم گاو ۲۷۱۵/۸۵ Mb بوده که در ۲۹ جفت کروموزوم سوماتیک و دو کروموزوم جنسی، با تعداد پروتئین حدود ۴۲۴۹۷ و میانگین درصد GC، ۴۱٪/۸۷ توزیع شده است (جدول ۱). اندازه ژنوم بز (*C. hircus*) ۲۶/۲۹۳۲ Mb بوده که بر روی ۲۹

های خون کامل با استفاده از کیت استخراج DNA از خون (Qiagen DNA، Hilden، آلمان) استخراج شد. DNA ادغام شده برای تولید کتابخانه‌های جفت انتهای با استفاده از کیت آماده‌سازی نمونه DNA ژنومیک (San Diego، CA، USA) Illumina استفاده شد. توالی‌ها با Illumina Genome AnalyzerIIX System و equencing Kit v3 در (<http://www.novogene.com>) ایجاد شدند.

شناسایی تغییرات ژنتیکی بز تالی

خوانش‌ها با ژنوم مرجع بز CHIR_2.0 (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/assembly/GCA_000317765.2) و از طریق BWA (نسخه ۰،۶،۲) به منظور حذف تکراری‌ها توسط (Picard-Tools-1) (<http://broadinstitute.github.io/picard/>) انجام شد. ابزار تجزیه و تحلیل ژنوم (GATK-2.6) هم‌ترازی موضعی را حول شاخص‌های موجود و ارزیابی مجدد امتیاز کیفیت پایه انجام داد. تشخیص واریانت‌ها با استفاده از ژنوتایپر GATK انجام شد. برای فیلتر کردن SNP‌ها برای تجزیه و تحلیل، حداقل سه مورد خوانده شده با محل‌های شروع متنوع باید وجود داشته باشد.

انتخاب ژن، همترازی و تجزیه و تحلیل فیلوژنتیکی بر

اساس ژن

برای مقایسه توالی ژنهای HSP90-a و HSP90-b در نژاد بز تالی، جهش‌های مختلف در این ژن‌ها شناسایی و بر اساس توالی ژنوم رفرنس بز (*Capra hircus*) توالی ژن تعیین گردید. همچنین توالی این ژن‌ها برای گاو (*Bos taurus*)، گاومیش (*Bubalus bubalis*)، گاو زبو (*Bos indicus*)، بز (*Capra hircus*)، گوسفند (*Ovis aries*)، شتر تک کوهانه (*Camelus dromedarius*)، شتر دوکوهانه (*Camelus bactrianus*) از پایگاه داده NCBI برای تجزیه و تحلیل

بیوانفورماتیک (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/annotation_euk) به دست آمد. بررسی همترازی‌ها، استخراج

جفت کروموزوم سوماتیک و دو کروموزوم جنسی با متوسط تعداد پروتئین حدود ۴۲۶۸۷ و میانگین درصد GC، ۰۷/۴۲ توزیع شده است (جدول ۱). اندازه ژنوم گوسفند (*O. aries*) Mb(۲۲/۲۷۶۷) که در ۲۶ کروموزوم سوماتیک و دو کروموزوم جنسی با تعداد متوسط پروتئین حدود ۴۲۳۹۱ و میانگین درصد GC، ۲۸/۴۲ سازماندهی شده است (جدول ۱). اندازه ژنوم گاو میش (*B. bubalis*) Mb(۱۷/۲۸۳۶) بوده که در ۲۴ جفت کروموزوم سوماتیک و دو کروموزوم جنسی، با تعداد پروتئین حدود ۵۸۲۰۴ و میانگین درصد GC، ۹۰/۴۱ سازماندهی شده است (جدول ۱). ژنوم گاو زبو (*B. indicus*) دارای اندازه Mb(۷۲/۱۷۸۰) *C. bactrianus* بوده که در ۳۶ جفت کروموزوم سوماتیک و دو کروموزوم جنسی، با تعداد پروتئین حدود ۲۸۶۰۱ و میانگین درصد GC، ۴۵/۴۰ توزیع شده است (جدول ۱).

جفت کروموزوم سوماتیک و دو کروموزوم جنسی با متوسط تعداد پروتئین حدود ۴۲۶۸۷ و میانگین درصد GC، ۰۷/۴۲ توزیع شده است (جدول ۱). اندازه ژنوم گوسفند (*O. aries*) Mb(۲۲/۲۷۶۷) که در ۲۶ کروموزوم سوماتیک و دو کروموزوم جنسی با تعداد متوسط پروتئین حدود ۴۲۳۹۱ و میانگین درصد GC، ۲۸/۴۲ سازماندهی شده است (جدول ۱). اندازه ژنوم گاو میش (*B. bubalis*) Mb(۱۷/۲۸۳۶) بوده که در ۲۴ جفت کروموزوم سوماتیک و دو کروموزوم جنسی، با تعداد پروتئین حدود ۵۸۲۰۴ و میانگین درصد GC، ۹۰/۴۱ سازماندهی شده است (جدول ۱). ژنوم گاو زبو (*B. indicus*) دارای اندازه Mb(۷۲/۱۷۸۰) *C. bactrianus* بوده که در ۳۶ جفت کروموزوم سوماتیک و دو کروموزوم جنسی، با تعداد پروتئین حدود ۲۸۶۰۱ و میانگین درصد GC، ۴۵/۴۰ توزیع شده است (جدول ۱).

جدول ۱- اندازه ژنوم، متوسط GC٪ و تعداد پروتئین متوسط حیوانات انتخاب شده

تعداد پروتئین	GC%	سایز ژنوم (Mb)	جاندار
42687	42.07	2932.26	<i>C. hircus</i> بز
42497	41.87	2715.85	<i>B. taurus</i> گاو
42391	42.28	2767.82	<i>O. aries</i> گوسفند
58204	41.90	2836.17	<i>B. bubalis</i> گاو میش
35992	42.14	2707.15	<i>B. indicus</i> گاو زبو
51736	41.50	2084.54	<i>C. dromedaries</i> شتر نک کوهانه
28601	40.45	1780.72	<i>C. bactrianus</i> شتر دوکوهانه

بر اساس مقایسه ژنومی این حیوانات، تجزیه و تحلیل حاضر نشان داد که جانداران مورد بررسی در اندازه ژنوم و محتوای GC متفاوت هستند، بنابراین آنها ممکن است ویژگی‌های متغیری داشته باشند. ژنومی که غنی از GC باشد نشانگر خوبی برای پایداری DNA در برابر تغییرات حرارت در نظر گرفته می‌شود. در یوکاریوت‌ها، نواحی ای از ژنوم که غنی از GC هستند غنی از ژن می‌باشند و همچنین این نواحی در برابر حرارت پایدار بوده و به طور فعال رونویسی می‌شوند (11,29). تجزیه و تحلیل انجام شده در اینجا نشان داد که گوسفند و بز دارای بالاترین محتوای GC است، در حالی که گاو میش و شتر دوکوهانه دارای کمترین مقدار است. این ممکن است پراکندگی گسترده‌تر گوسفند و بز را در طیف وسیعی از شرایط

اقليمی و جغرافیایی در مقایسه با بوفالوها و شتر دوکوهانه که تنها در باتلاق‌ها و مناطق سروسیر گسترده است را توضیح دهد، زیرا اخیراً تأیید شده است که پایداری حرارتی ژن‌ها در حیوانات با افزایش محتوای GC کندتر از توالی‌های تصادفی افزایش می‌یابد، در حالی که انعطاف‌پذیری آنها سریع‌تر افزایش می‌یابد (41).

مکان‌های

ژنومی ژن‌های HSP90 در گونه‌های مورد بررسی

مکان‌های ژنومی ژن‌های HSP90 با استفاده از پایگاه داده NCBI بر اساس شناسه ژنی آنها به منظور مشاهده موقعیت ژنومی و کروموزومی ژنی که آن را کد می‌کند تعیین شد (جدول ۲).

جدول ۲- خصوصیات ژنومی و پروتئومی HSP90-a و HSP90-b برای ۷ گونه مورد بررسی از حیوانات اهلی

نام جاندار	نوع پروتئین	جایگاه ژنومی	خصوصیات ژنومی				خصوصیات پروتئومی	
			نام ژن	اگزون	طول پروتئین (aa)	وزن ملکولی (kDa)	شماره دسترسی	
<i>C. hircus</i> بز	HSP90-a	Chromosome 21-NC_030828.1	100860851	11	733	74.84	XP_017921728.1	
	HSP90-b	Chromosome 23-NC_030830.1	100861006	12	724	83.26	XP_005696415.1	
گاو <i>B. taurus</i>	HSP90-a	Chromosome 21-NC_037348.1	281832	11	733	74.84	NP_001012688.1	
	HSP90-b	Chromosome 23-NC_037350.1	767874	12	724	83.26	NP_001073105.1	
گوسفند <i>O. aries</i>	HSP90-a	Chromosome 18-NC_040269.1	100127209	11	733	74.84	XP_027813217.1	
	HSP90-b	Chromosome 20-NC_040271.1	101117797	12	724	83.26	XP_004018903.1	
گاو میش <i>B. bubalis</i>	HSP90-a	Chromosome 20-NC_037564.1	102409833	11	733	74.84	XP_025127285.1	
	HSP90-b	Chromosome 2-NC_037546.1	102389823	12	724	83.26	XP_006069362.2	
گاو زبو <i>B. indicus</i>	HSP90-a	Chromosome 21-NC_032670.1	109575457	11	733	74.84	XP_019839158.1	
	HSP90-b	Chromosome 23-NC_032672.1	109577125	12	724	83.26	XP_019841450.1	
شتر تک کوهانه	HSP90-a	Chromosome 6-NC_044516.1	105103462	13	733	74.84	XP_031310187.1	
<i>C. dromedarius</i>	HSP90-b	Chromosome 20-NC_044530.1	105088639	12	724	83.26	XP_010977847.2	
شتر دوکوهانه	HSP90-a	-	105079942	10	649	76.71	XP_045361639.1	
<i>C. bactrianus</i>	HSP90-b	-	105083823	14	724	83.26	XP_010972124.2	

مولکولی ۲۶/۸۳ کیلو دالتون تشکیل شده‌اند (جدول ۲).

نتایج تحقیق حاضر نشان از تشابه و حفاظت بالا برای این ژنها در گونه‌های مختلف حیوانی داشت.

اگرچه ما ارتباط ژنتیکی ژن‌های HSP با صفات مربوط به سازگاری محیط را بررسی نکرده‌ایم، اما بر اساس تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیکی، می‌توانیم پیش‌بینی کنیم که پلی‌مورفیسم در توالی‌های پروتئین HSP90-a و HSP90-b در بین گونه و نژادهای مختلف ممکن است مشاهده شود. همچنین بررسی تغییرات ژنتیکی بین نژاد تالی که یک نژاد سازگار به شرایط گرمایی است با بز رفرنس و سایر گونه‌های از اهمیت زیادی برخوردار است. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که تفاوت در الگوی رونوشت‌های خانواده HSP در طول فصول مختلف ممکن است به طور عمده مکانیسم قابل توجهی از سازگاری بهتر گاوهای زبو در هند را نشان دهد (22).

هم‌ترازی و تجزیه و تحلیل فیلوژنتیکی بر اساس ژن HSP90-a

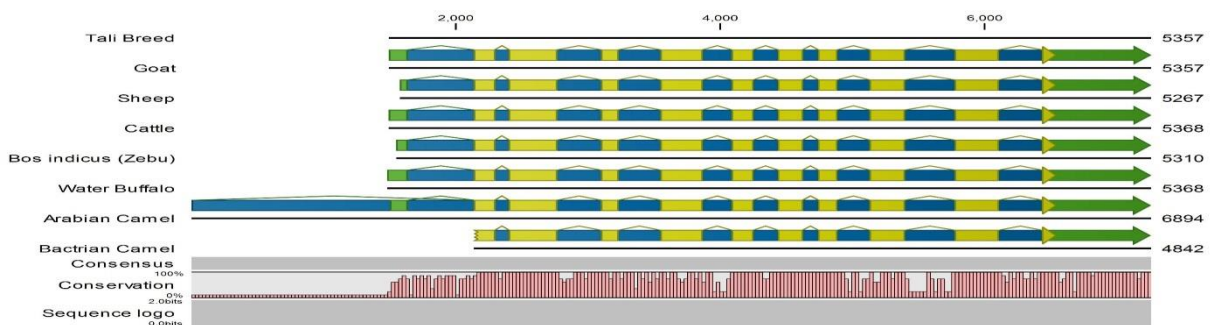
از طریق هم‌ترازی توالی ژنوم می‌توان دانش زیستی گونه‌های مختلف را به نواحی حفاظت‌شده‌ی توالی انتقال داد. همچنین، از طریق هم‌ترازی شبکه‌ی زیستی، می‌توان دانش نواحی حفاظت‌شده‌ی شبکه‌های مولکولی را به

مکان‌های ژنومی و تعداد اگزون‌ها با استفاده از ابزارهای بیوانفورماتیکی در گونه‌های مورد مطالعه تعیین شد (جدول ۲). تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیک نشان داد که ژن HSP90-a و HSP90-b در گاو، گاو زبو و بز به ترتیب در کروموزوم ۲۱ و ۲۳ قرار دارند، در حالی که این ژن‌ها در گاو میش به ترتیب در کروموزوم ۲۰ و ۲ قرار دارند و در شتر تک کوهانه به ترتیب در کروموزوم ۶ و ۲۰ قرار گرفته‌اند و در شتر دوکوهانه جایگاه دقیق آنها مشخص نشده است. تجزیه و تحلیل همچنین نشان داد که ژن HSP90-a و HSP90-b در همه گونه‌های مورد بررسی بجز شتر به ترتیب دارای ۱۱ و ۱۲ اگزون بودند و تعداد اگزون در شتر تک کوهانه برای این دو ژن به ترتیب ۱۳ و ۱۲ و در شتر دوکوهانه دارای ۱۰ و ۱۴ اگزون بودند.

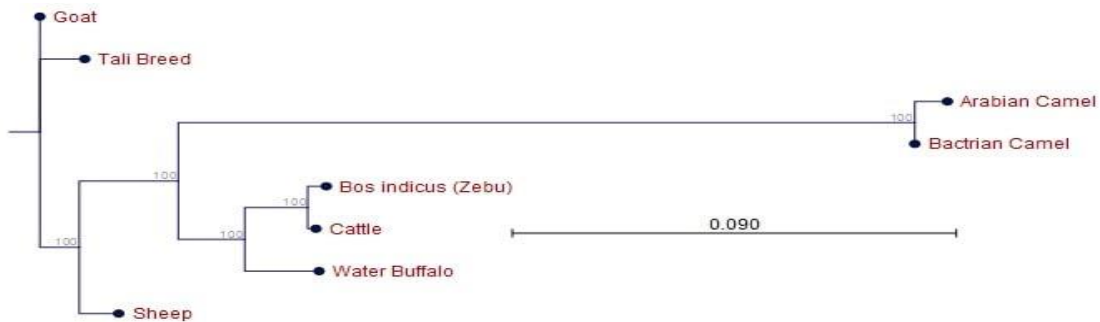
همچنین تجزیه و تحلیل پروتئومی HSP90-a نشان داد که تمام پروتئین‌های HSP90-a بجز شتر دوکوهانه از ۷۳۳ اسید آمینه در تمام گونه‌های مورد مطالعه تشکیل شده است در حالی که در شتر دوکوهانه تعداد اسید آمینه‌ها برای این پروتئین ۶۴۹ می‌باشد. علاوه بر این، تجزیه و تحلیل محاسباتی HSP90-b نشان داد که تمام پروتئین‌های HSP90-b از ۷۲۴ اسید آمینه در تمام گونه‌های مورد مطالعه با وزن

نواحی مختلف حفاظت شده‌ی گونه‌های متفاوت انتقال داد(۲). پروتئین‌های شوک حرارتی HSP90-a با هم، همتراز شدند تا پلی مورفیسم ژنتیکی بین نژاد بز تالی و بز زفرنس همچنین با سایر گونه‌های موردبررسی مشخص شود (شکل ۱). هم‌ترازی نشان داد که طول توالی‌های ژن HSP90-a به ویژه در بز (*C. hircus*) و گوسفند (*O. aries*)

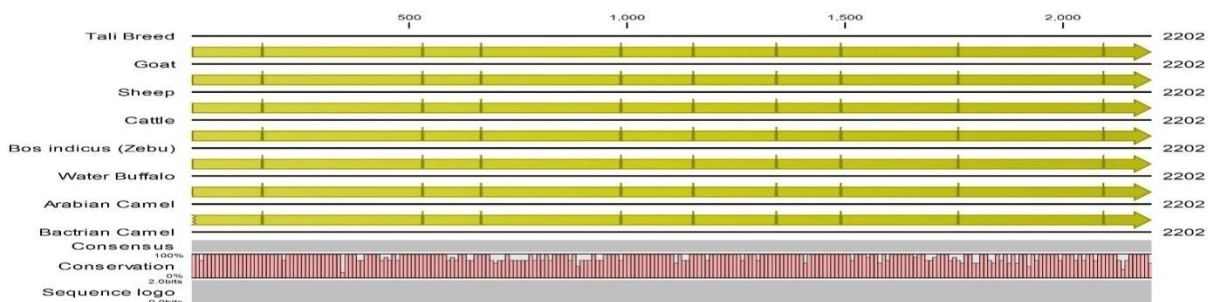
حفاظت شده بودند. شجره فیلوژنتیکی بر اساس توالی این ژن در بین گونه‌های مورد مطالعه رسم گردید (شکل ۲). همچنین این هم‌ترازی بر اساس طول توالی آگزونهای HSP90-a بر روی گونه‌های موردبررسی انجام شد (شکل ۳).



شکل ۱- هم‌ترازی توالی نوکلئوتیدی ژن HSP90-a در گونه‌های موردبررسی



شکل ۲- شجره فیلوژنتیکی بر اساس توالی ژن HSP90-a در گونه‌های موردبررسی



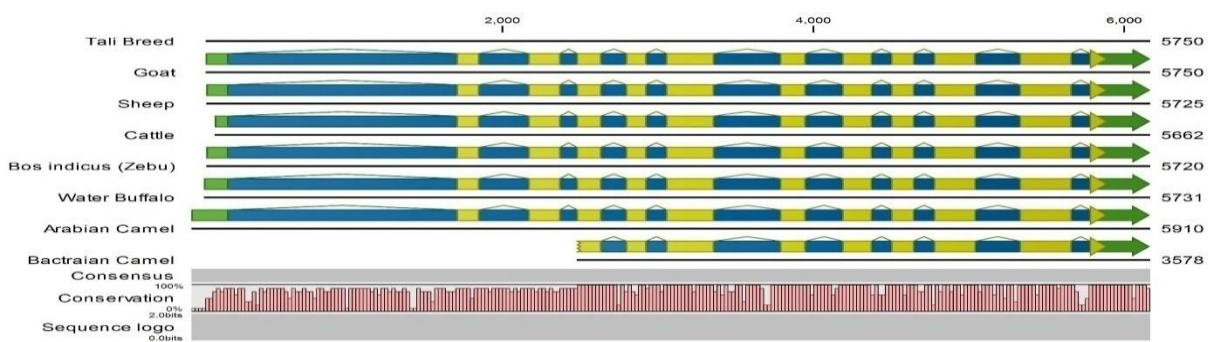
شکل ۳- هم‌ترازی توالی آگزونی ژن HSP90-a در گونه‌های موردبررسی

همترازی

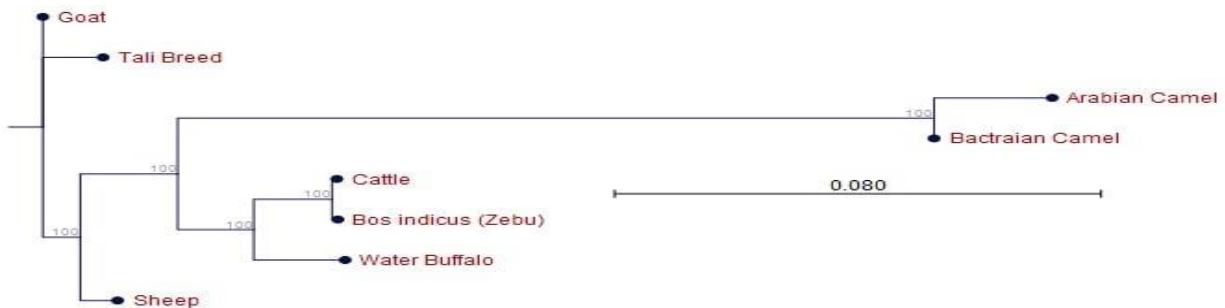
و تجزیه و تحلیل فیلوژنتیکی بر اساس ژن HSP90-b

ژنهای پروتئین شوک حرارتی HSP90-b با هم، همتراز شدند تا پلی مورفیسم ژنتیکی در بین بز نژاد تالی و بز زفرنس همچنین با سایر گونه‌های مورد بررسی مشخص شود (شکل ۴). هم ترازای نشان داد که طول توالی‌های ژن HSP90-b تنها در بز نژاد تالی و بز زفرنس کاملاً مشابه بودند. همچنین شجره فیلوژنتیکی بر اساس توالی این ژن

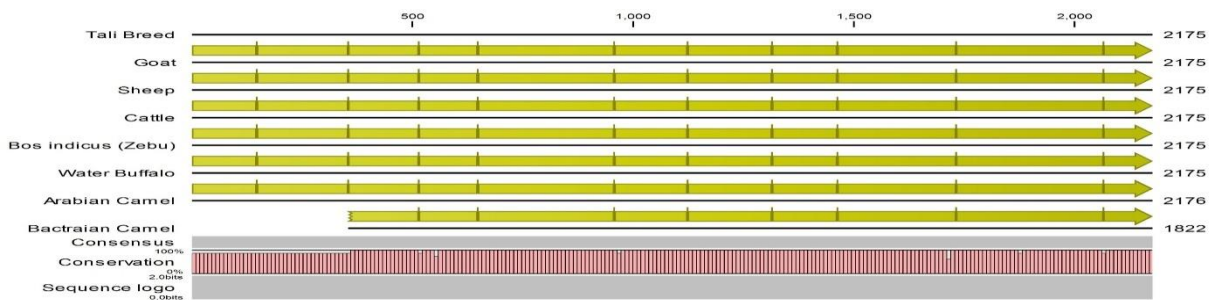
در بین گونه‌های مورد مطالعه رسم گردید (شکل ۵). بعلاوه این همترازی بر اساس توالی اگزونهای HSP90-b بر روی گونه‌های مورد بررسی انجام شد (شکل ۶). طول توالی اگزونی این ژن بین همه گونه‌ها بجز شتر تک کوهانه و دوکوهانه برابر بود. درخت فیلوژنتیک بر اساس همترازی بدست آمده برای اگزون نیز ترسیم شد (شکل ۴) و نشان داد که میزان تنوع حاصل از مقایسه اگزونها تقریباً مشابه با تنوع حاصل از توالی کل ژن می‌باشد.



شکل ۴- هم ترازای توالی نوکلئوتیدی ژن HSP90-b در گونه‌های مورد بررسی



شکل ۵- شجره فیلوژنتیکی بر اساس توالی ژن HSP90-b در گونه‌های مورد بررسی



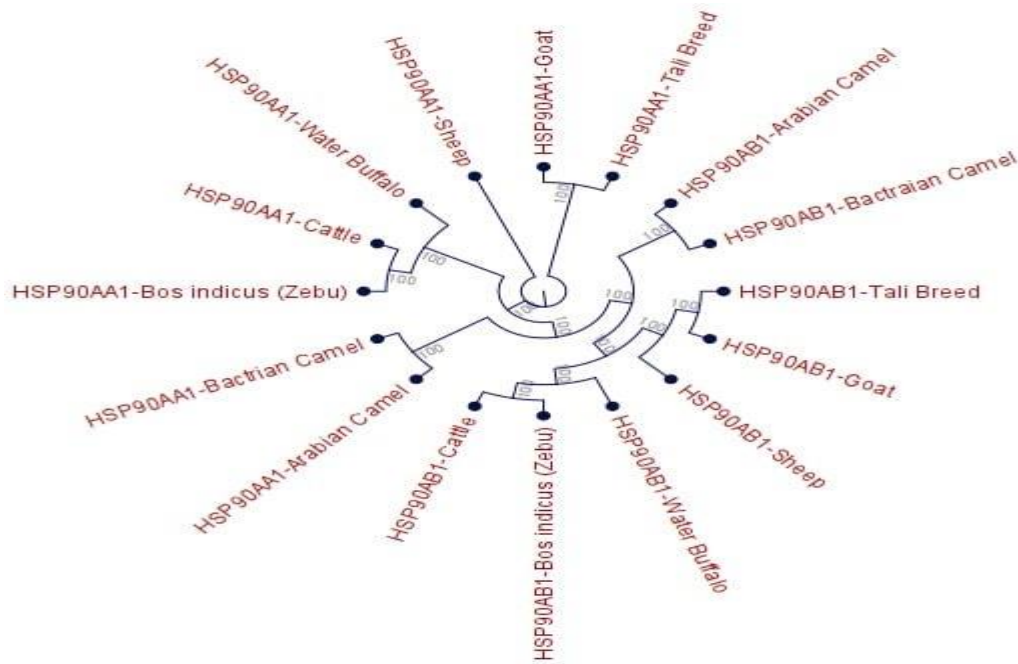
شکل ۶- هم ترازای توالی اگزونی ژن HSP90-b در گونه‌های مورد بررسی

همترازی و تجزیه و تحلیل

فیلوژنتیکی بر اساس ژن HSP90-a و HSP90-b

فیلوژنتیکی استفاده شد (شکل ۷). همچنین جهت مشخص شدن تعداد نوکلئوتیدهای متفاوت بین دو ژن و همچنین گسست‌ها و تفاوت‌های آنها در گونه‌های مختلف جدول مقایسه تفاوت‌ها ترسیم گردید (جدول ۳). بعلاوه درخت فیلوژنتیکی براساس همترازی آگزونهای دو ژن در گونه‌های مختلف نیز ترسیم گردید (شکل ۸)

به دلیل اینکه هر دو ژن از یک خانواده می‌باشند لذا دو ژن فوق به صورت همزمان مورد بررسی قرار گرفت. همترازی ژن‌ها در گونه‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفت و جهت مقایسه فاصله هر یک از گونه‌ها و ژن‌ها از همترازی دو ژن مورد بررسی برای ترسیم درخت



شکل ۷- درخت فیلوژنتیکی براساس نتایج همترازی توالی نوکلئوتیدی دو ژن خانواده HSP90 در گونه‌های مختلف

پراکنش SNPها بر روی ژنهای

HSP90-a و HSP90-b: بز تالی در مقایسه با بز فرانس

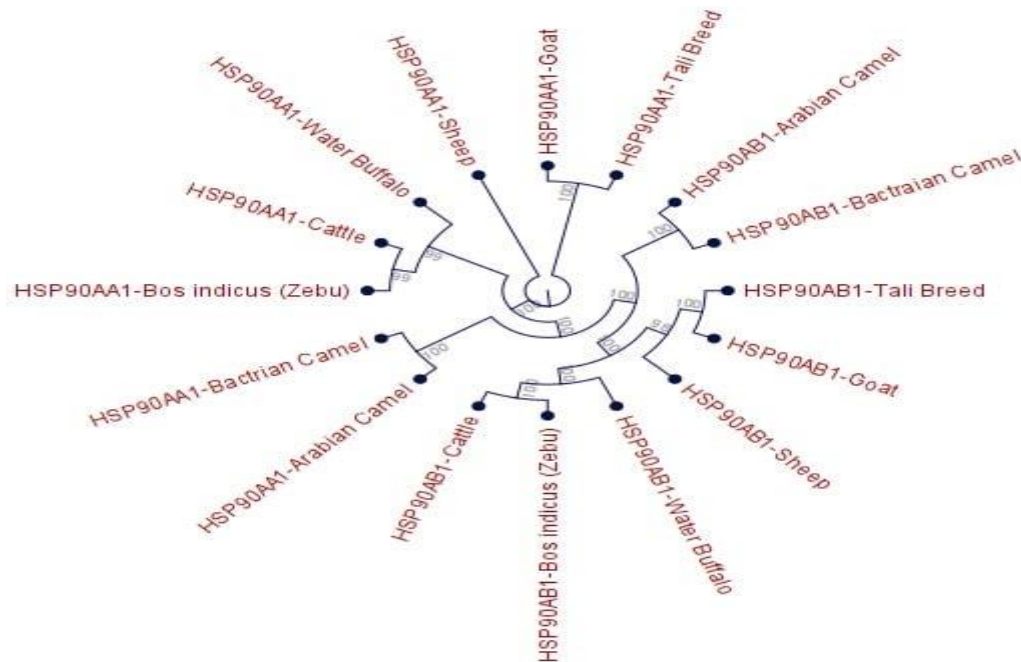
ترتیب برای برای HSP90-a و HSP90-b شناسایی شد. شکل ۹ توزیع تغییرات ژنتیکی را در هر دسته نشان می‌دهد.

مقایسه همترازی بین توالی پروتئینهای HSP90-a نشان داد که توالی‌ها برای تمام گونه‌های مورد بررسی به میزان بالایی حفاظت شده است. بجز اختلاف در طول توالی پروتئین که در شتر دو کوهانه کوتاهتر از سایر گونه‌ها است میزان تفاوت در نوع اسیدآمینها در طول توالی بسیار کم است تنها تفاوت‌های مشاهده شده در موقعیت اسیدآمین ۷ است که در دو گونه شتر تک کوهانه و شتر دوکوهانه متفاوت از سایر گونه‌هاست و به جای اسیدآمین آلانین اسیدآمین تریونین جایگذاری شده است.

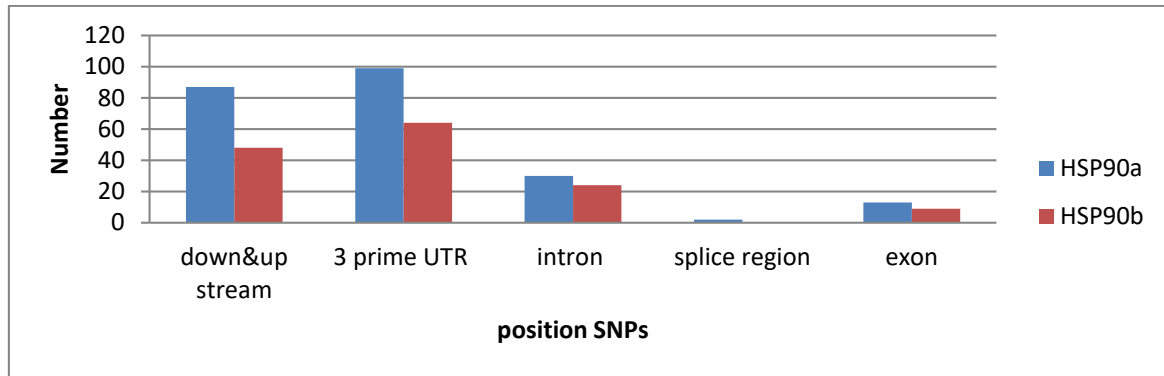
ژن‌های HSP90 بز تالی حاوی تعداد کلی ۲۳۱ و ۱۴۵ پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی به ترتیب برای HSP90-a و HSP90-b هستند. از این تعداد ۸۷ و ۴۸ SNP در ناحیه ۳ ژن (۹۰٪/۳۵)، ۹۹ و ۶۴ SNP در نواحی بالادست و پایین دست ژن (۳۵/۴۳٪) تعداد ۳۰ و ۲۴ SNP در ناحیه اینترونیک ژن (۳۶/۱۴٪)، تعداد ۲ و ۰ SNP در ناحیه برش ژن (۵۳/۰٪) و تعداد ۱۳ و ۹ SNP (۸۵٪/۵) در ناحیه آگزون ژن به

جدول ۳- مقایسه طول توالی نوکلئوتیدی بین دو ژن HSP90-a و HSP90-b در گونه‌های مختلف مورد بررسی گسست‌ها (در بخش بالای جدول) و تفاوت‌های (در بخش پایین جدول)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
HSP90AB1-Tali Breed	1	0	39	146	92	89	642	2538	2721	2721	2783	2714	2758	2696	2794	3272
HSP90AB1-Goat	2	56	39	146	92	89	642	2538	2721	2721	2783	2714	2758	2696	2794	3272
HSP90AB1-Sheep	3	164	108	149	95	102	657	2529	2720	2720	2782	2713	2757	2695	2803	3265
HSP90AB1-Cattle	4	467	414	409	58	129	724	2482	2683	2683	2745	2676	2720	2658	2827	3232
HSP90AB1-Indicus(Zebu)	5	416	368	357	67	75	670	2538	2739	2739	2801	2732	2776	2714	2818	3288
HSP90AB1-Water Buffalo	6	417	363	363	288	234	651	2579	2756	2756	2818	2749	2793	2731	2807	3309
HSP90AB1-Arabian Camel	7	1480	1442	1456	1516	1472	1470	2332	2893	2893	2955	2888	2932	2870	2876	3464
HSP90AB1-Bactrian Camel	8	2963	2932	2924	2882	2939	2993	2338	2927	2927	2831	2926	2868	2922	4402	2340
HSP90AA1-Tali Breed	9	3910	3887	3887	3853	3907	3930	4210	3763	0	114	105	161	123	2179	1197
HSP90AA1-Goat	10	3882	3859	3860	3823	3878	3900	4183	3737	48	114	105	161	123	2179	1197
HSP90AA1-Sheep	11	3926	3901	3900	3864	3919	3943	4222	3641	242	198	197	139	215	2267	1119
HSP90AA1-Cattle	12	3895	3870	3867	3825	3880	3905	4174	3743	431	386	485	58	72	2196	1194
HSP90AA1-Indicus(Zebu)	13	3920	3895	3893	3850	3905	3929	4200	3684	479	434	418	70	130	2252	1136
HSP90AA1-Water Buffalo	14	3895	3872	3868	3822	3878	3902	4189	3751	448	402	504	227	275	2172	1188
HSP90AA1-Arabian Camel	15	4635	4606	4600	4622	4604	4612	4853	5322	3019	2981	3066	2994	3043	2982	2070
HSP90AA1-Bactrian Camel	16	4353	4326	4316	4263	4320	4344	4593	3258	1912	1875	1798	1874	1811	1882	2081



شکل ۸- درخت فیلوژنتیکی براساس نتایج همترازی اگزونی دو ژن خانواده HSP90 در گونه‌های مختلف



شکل ۹- توزیع تغییرات ژنتیکی در قسمت‌های مختلف ژنهای HSP90a و HSP90b در بز تالی

همراستایی پروتئین‌های HSP90-a و HSP90-b نشان داد که این دو پروتئین در گونه‌های مورد بررسی که سهم قابل توجهی در عرضه غذا در سطح جهان دارند، یعنی گاو (*B. taurus*)، گاو زبو (*B. indicus*)، گاو میش (*B. bubalis*)، گوسفند (*O. aries*)، بز (*C. hircus*)، شتر تک کوهانه (*C. dromedarius*) و شتر دوکوهانه (*C. bactrianus*) دارای حفاظت بالایی هستند. همچنین نشان داده شده است که HSP90 نقشی محوری در ایجاد تحمل گرما برای دام دارد (23). بعلاوه HSP70، HSP90، پاسخ سلولی را با حضور کلیدی در انتقال سیگنال و برهمکنش با پروتئین‌های کینازها و فاکتورهای رونویسی تعدیل می‌کنند و بنابراین نقش محافظت از سلول‌ها و بدن را به عهده دارند (1,3, 23). مطالعات گذشته نشان داده‌اند که HSP70 و HSP90 برای محافظت در برابر شرایط محیطی سخت در گاوها با یکدیگر همکاری می‌کنند و به صورت تداخلی عمل می‌کنند. در مورد گاو میش در تحقیق حاضر نشان داده شد که با سایر گونه‌ها در یک اسید آمینه از HSP90-a متفاوت بود و می‌تواند تاییدی بر مطالعات انجام شده بر روی گاو میش رودخانه‌ای باشد زیرا گاو میش رودخانه‌ای (*B. bubalis*) به ویژه نسبت به گرما مقاوم نیست. طیف گسترده‌ای از تحقیقات نشان داده است که ویژگی‌های فیزیولوژیکی، تولیدی و تولیدمثلی با قرار گرفتن در معرض دمای محیطی بالا در بوفالوها کاهش می‌یابد (9,25). پیشنهاد شده است که حساسیت نسبی گاو میش به استرس گرمایی به دلیل پوست

که یک اسید آمینه آب‌گریز با یک اسید آمینه آب‌دوست جایگزین گردیده است و این نوع تغییرات می‌تواند تأثیر زیادی بر عملکرد پروتئین داشته باشد (20). همچنین در موقعیت ۷۰۸ در گاو میش آبی اسید آمینه اسید آسپارتیک با اسید آمینه اسید گلوتامیک جایگزین شده است اما از نظر ویژگی فیزیوشیمیایی این دو اسید آمینه در یک گروه قرار می‌گیرند و احتمالاً تغییر محسوسی در عملکرد و ساختار پروتئین ایجاد نمی‌کنند (شکل ۱۰ پیوست).

همچنین مقایسه همترازی بین توالی پروتئین‌های HSP90-b نشان داد که توالی این پروتئین برای همه گونه‌های مورد بررسی بسیار محافظت شده بوده است. تفاوتها در موقعیت ۹۹ و ۱۸۴ بین گونه‌های مختلف شتر با سایر گونه‌های مورد بررسی بوده است به ترتیب که در موقعیت ۹۹ ایزولوسین جایگزین والین شده است که هر دو جز اسید آمینه‌های آب‌گریز طبقه بندی می‌شوند و در موقعیت ۱۸۴ تیروزین جایگزین هیستیدین شده است که تیروزین یک اسید آمینه آب‌دوست و حلقوی بوده درحالی که هیستیدین یک اسید آمینه بازی می‌باشد (شکل ۱۱ پیوست).

به این ترتیب نتایج این بررسی نشان داد که پروتئین‌های HSP90-a و HSP90-b در گونه‌های مورد مطالعه به شدت حفاظت شده هستند.

دارد، که ممکن است توضیح دهد که چرا این گونه ممکن است ویژگی‌های منحصر به فردی در سازگاری با شرایط محیطی داشته باشد (22,39). این مساله در مورد بزها و توانایی سازگاری آنها در شرایط مختلف محیطی و غذایی نیز همانند گاو زبو صادق است (33) به ویژه که بز تالی نیز از جمله نژادهای مقاوم در برابر گرما در جنوب ایران می‌باشد.

مطالعه حاضر نشان داد که گونه‌های شتر تک کوهانه و دوکوهانه در توالی اسیدهای آمینه در هر دو فرم HSP90 متفاوت از سایر گونه‌های مورد بررسی بودند که منطبق بر نتایج مطالعات پیشین بوده است. تجزیه و تحلیل توالی پروتئین مقایسه‌ای بیش از ۸۵٪ تشابه بین شتر و سایر حیوانات از جمله گاو، اسب، سگ، گربه و انسان را نشان می‌دهد (31).

نتایج مربوط به خواص عملکردی HSP90 در حیوانات مختلف به افزایش دانش ما در مورد مکانیسم‌های مولکولی برای انتخاب حیوانات با مقاومت حرارتی در برابر تغییر آب و هوای سالهای آینده کمک می‌نماید. با این حال، مکانیسم‌های ژنتیکی مسئول تحمل حرارتی و ساختارهای فیزیولوژیکی مقاوم در برابر استرس حرارتی به طور کامل شناخته نشده است.

مدل سازی پروتئین شوک حرارتی HSP90

ساختارهای سه بعدی (3D) پروتئین‌های HSP90-a و HSP90-b با استفاده از پایگاه داده سوییس مدل تولید شدند. ساختار سه بعدی HSPها شامل دو حوزه اصلی است: یک دامنه که با نوکلئوتیدهای واقع در N-ترمینال معرفی می‌شود و یک دامنه که به بستر واقع در C-ترمینال (SBD) متصل می‌شود (شکل ۱۲). ساختار خانواده HSP90 در بین گونه‌های مورد مطالعه به خوبی حفظ شده است: اینها شامل دامنه N-ترمینال، دامنه میانی و دامنه C-ترمینال با موتیف پپتید MEEVD آن است. که در مرکز آن نوکلئوتیدها (ADP یا ATP) متصل می‌شوند. SBD از یک پپتید آب‌گریز

تیره و فولیکول‌های مو و غدد عرق کمتر آنها در مقایسه با سطوح گاو است (25). همچنین مشاهده شده است که خانواده ژن HSP90 گاو میش دارای شاخص آلیفاتیک بیشتر از ۶۵ است که پایداری پروتئین‌ها را در دماهای بالا نشان می‌دهد (40). این ممکن است با میزان پایداری حرارتی HSPها در گاو میش مرتبط باشد (44). علاوه بر این، شناسایی ژنومی برای HSPs گاو میش، Rehman و همکاران (40) دریافتند که میانگین سنی بسیار منفی شاخص هیدروپاتیسیته HSP90 نشان دهنده ماهیت آبدوست برتر اعضای آن است. این می‌تواند به تقویت عملکردهای لیگومریزاسیون و اتصال پروتئین کمک کند.

علاوه بر این، ثابت شده است که *B. indicus* در مقایسه با نژادهای گاو دارای تحمل حرارتی منحصر به فردی است. *B. indicus* بعنوان یک نژاد که می‌تواند در مناطق خشک زنده بماند و با دمای بالا و شرایط آب و هوایی سخت سازگار شود شناخته شده است (12,32,34). مهم‌ترین سازگاری‌های ژنتیکی که در طول تکامل گاو زبو ایجاد شده‌اند شامل دستیابی به ژن‌هایی برای تحمل حرارت است. گاوهای نژادهای زبو نسبت به گاوهایی از نژادهای *B. taurus* با منشاء اروپایی بهتر می‌توانند دمای بدن خود را در پاسخ به استرس گرمایی تنظیم کنند (14). علاوه بر این، تفاوت در آناتومی مانند اندازه بدن، رنگ، تعداد غدد عرق و پارامترهای فیزیولوژیکی، به عنوان مثال، پوست، دمای بدن، نبض و نرخ تنفس در حیوانات، پاسخ متغیری به عوامل استرس‌زای محیطی نشان داده است (25,27,30). همچنین گزارش شده است که شرایط محیطی نامطلوب می‌تواند باعث ایجاد پروتئین‌های اشتباه تاخوردی یا باز شده در سلول‌ها شود و HSPها می‌توانند این نوع پروتئین‌ها را حذف یا محدود کنند. از این رو، درک معماری ژنتیکی HSPها در حیوانات مختلف می‌تواند تنوع در سازگاری و بقا در شرایط سخت در میان گونه‌ها را روشن کند (16,17). همچنین مطالعات نشان دادند که در توالی پروتئینی گاو زبو حفاظت کامل وجود

عدم تغییر زیاد در توالی اسیدهای آمینه در گونه های موردبررسی ساختار شبیه سازی شده برای HSP90 در تمام گونه ها براساس پایگاه داده سوییس مدل یکسان بوده است (شکل ۱۲).

و یک زیر دامنه a-ماریپچ (SBD-a) تشکیل شده است که اتصال بستر به SBD-b را تنظیم می کند. هر دو NBD و SBD توسط یک پیوند دهنده آب گریز حفاظت شده محدود می شوند (18). مطالعه حاضر نشان داد با توجه به

PyMOL for evaluation only.
Contact sales@delsci.com.



شکل ۱۲- ساختار سه بعدی HSP90 شبیه سازی شده با استفاده از وب سرور سوییس مدل

و نوع اسید آمینه های بکاررفته در توالی پروتئینی بویژه در دو گونه شتر موردبررسی و بوفالو می تواند عدم توانایی این گونه ها را در پاسخ به فشار انتخابی تحمیل شده توسط شرایط محیطی خاص ایجاد کند. بر اساس تجزیه و تحلیل محاسباتی HSP90 در این تحقیق، نیاز به کاوش عمیق‌تر مکانیسم‌های سازگاری مولکولی در این حیوانات به منظور تقویت پرورش ژنتیکی برای مقابله با تأثیرات منفی دمای بالا مرتبط با تغییرات آب و هوایی وجود دارد.

نتیجه گیری کلی

این مطالعه دو نوع پروتئین شوک حرارتی (HSP90-a و HSP90-b) را در سطح ژن و پروتئین در هفت گونه حیوان اهلی بعلاوه نژاد بز تالی شناسایی و مشخص کرد.

این مطالعه تاییدی بود بر میزان بالای حفاظت شدگی در این پروتئینها و اما بهرحال میزانی تفاوت در طول ژنها و تعداد آگزون ها در بین گونه های مورد مطالعه مشاهده شد. همچنین تفاوت در محتوای GC در ژنوم آنها ممکن است با توزیع برخی از حیوانات در شرایط اقلیمی و جغرافیایی متفاوت مرتبط باشد و آن را توضیح دهد. تفاوت در طول

منابع

۲. مهدی پور، ا.، قاسم زاده، م. (۱۴۰۱) تأثیر الگوریتم‌های فراابتکاری در همترازی شبکه‌های مبتنی بر میانکشی پروتئین-پروتئین در پنج گونه زیستی. مجله پژوهش‌های سلولی و مولکولی. ۳۵(۱): ۱۵۲-۱۶۷.

۱. رضوان نژاد، ا. لطفی ص. بوستان آ. (۱۳۹۹) مدل‌سازی پروتئین استرس گرمایی ۷۰ (HSP70) رنورعسل به روش همولوژی مدلینگ و شبیه سازی ملکولی واتصال آن به HSP40. مجله پژوهش‌های سلولی ملکولی. ۳۲(۴): ۴۱۷-۴۳۱.

3. Abdelnour SA, Abd El-Hack ME, Khafaga AF, Arif M, Taha AE, Noreldin AE. (2019) Stress biomarkers and proteomics alteration to thermal stress in ruminants: A review. *J Therm Biol.* 79:120–34.
4. Abdelnour SA, El-Saadony MT, Saghir SAM, Abd El-Hack ME, Al-shargi OYA, Al-Gabri N, et al. (2020) Mitigating negative impacts of heat stress in growing rabbits via dietary prodigiosin supplementation. *Livest Sci.* 240.
5. Adams F, Yankyera KO. (2014) Socio-economic Characteristics of Subsistent Small Ruminant Farmers in Three Regions of Northern Ghana. *Asian J Appl Sci Eng.* 3:93-108.
6. Aleena J, Sejian V, Bagath M, Krishnan G, Beena V, Bhatta R. (2018) Resilience of three indigenous goat breeds to heat stress based on phenotypic traits and PBMC HSP70 expression. *Int J Biometeorol.* 62(11):1995-2005.
7. CLC Genomics Workbench 20.0.4, CLC Microbial Genomics Module 20.1 (<https://digitalinsights.qiagen.com/>).
8. Collier RJ, Collier JL, Rhoads RP, Baumgard LH. (2008) Invited review: Genes involved in the bovine heat stress response. *J Dairy Sci.* 91(2):445-454.
9. Das R, Sailo L, Verma N, Bharti P, Saikia J, Imtiwati, et al. (2016) Impact of heat stress on health and performance of dairy animals: A review. *Vet World.* 9:260.
10. Deb R, Sengar GS. (2020) Expression pattern of bta-mir-2898 miRNA and their correlation with heat shock proteins during summer heat stress among native vs crossbred cattle. *J Therm Biol.* 94:102771.
11. Eyre-Walker A, Hurst LD. (2001) The evolution of isochores. *Nat Rev Genet.* 2:549–55.
12. Fernandes Júnior GA, de Oliveira HN, Carvalheiro R, Cardoso DF, Fonseca LFS, Ventura RV, et al. (2020) Whole-genome sequencing provides new insights into genetic mechanisms of tropical adaptation in Nellore (*Bos primigenius indicus*). *Sci Reports.* 10:1–7.
13. Gaughan JB, Mader TL, Holt SM, Josey MJ, Rowan KJ. (1999) Heat tolerance of Boran and Tuli crossbred steers. *J Anim Sci.* 77(9):2398-405.
14. Hansen PJ. (2004) Physiological and cellular adaptations of zebu cattle to thermal stress. *Anim Reprod Sci [Internet]. Anim Reprod Sci.* 82–83:349–60.
15. Hayes BJ, Bowman PJ, Chamberlain AJ, Savin K, van Tassell CP, Sonstegard TS, et al. (2009) A validated genome wide association study to breed cattle adapted to an environment altered by climate change. *PLoS One.* 4(8): e6676.
16. Hoter A, Amiri M, Prince A, Amer H, Warda M, Naim HY. (2018) Differential Glycosylation and Modulation of Camel and Human HSP Isoforms in Response to Thermal and Hypoxic Stresses. *Int J Mol Sci.* 19(2):402.
17. Hoter A, El-Sabban ME, Naim HY. (2018) The HSP90 Family: Structure, Regulation, Function, and Implications in Health and Disease. *Int J Mol Sci.* 19(9):2560.
18. Hoter A, Rizk S, Naim HY. (2019) Cellular and molecular adaptation of Arabian camel to heat stress. *Front Genet.* 10:588.
19. Howe KL, Achuthan P, Allen J, Allen J, Alvarez-Jarreta J, Ridwan Amode M, et al. (2021) Ensembl 2021. *Nucleic Acids Res [Internet]. Oxford Academic.* 49:D884–91.
20. Hubbard RE, Kamran Haider M. (2021) Hydrogen Bonds in Proteins: Role and Strength. *eLS.* <https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0003011.pub2>
21. Kim WS, Ghassemi Nejad J, Peng DQ, Jung US, Kim MJ, Jo YH, et al. (2021) Identification of heat shock protein gene expression in hair follicles as a novel indicator of heat stress in beef calves. *Anim.* 14:1502–9.
22. Kumar A, Ashraf S, Goud TS, Grewal A, Singh S V., Yadav BR, et al. (2015) Expression profiling of major heat shock protein genes during different seasons in cattle (*Bos indicus*) and buffalo (*Bubalus bubalis*) under tropical climatic condition. *J Therm Biol.* 51:55–64.
23. Kumar J, Yadav B, Madan AK, Kumar M, Sirohi R, Reddy AV. (2019) Dynamics of heat-shock proteins, metabolic and endocrine responses during increasing temperature humidity index (THI) in lactating Harijana (Zebu) cattle. *Taylor & Francis.* 51:934–50.16. Li J, Buchner J. (2013) Structure, function and regulation of the hsp90 machinery. *Biomed J.* 36:106–17.
24. Li J, Buchner J. (2013) Structure, function and regulation of the hsp90 machinery. *Biomed J.* 36:106–17.22.
25. Marai IFM, Haezeb AAM. (2010) Buffalo's biological functions as affected by heat stress — A review. *Livest Sci.* 127:89–109.
26. Mayer MP, Bukau B. (2005) Hsp70 chaperones: Cellular functions and molecular mechanism. *Cell. Mol. Life Sci.* 670–84.
27. McLaren W, Gil L, Hunt SE, Riat HS, Ritchie GRS, Thormann A, et al. (2016) The Ensembl Variant Effect Predictor. *Genome Biol.* 17:1–14.
28. Pegorer MF, Vasconcelos JLM, Trinca LA, Hansen PJ, Barros CM. (2007) Influence of sire and sire breed (Gyr versus Holstein) on establishment of pregnancy and embryonic loss in lactating Holstein cows during summer heat stress. *Theriogenol.* 67:692–7.
29. Petrov DA, Hartl DL. (1999) Patterns of nucleotide substitution in *Drosophila* and mammalian genomes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 96:1475–9.
30. Rocha A, Randel RD, Broussard JR, Lim JM, Blair RM, Roussel JD, et al. (1998) High environmental temperature and humidity decrease oocyte quality in *Bos taurus* but not in *Bos indicus* cows. *Theriogenol.* 49:657–65.

31. Saeed H, Shalaby M, Embaby A, Ismael M, Pathan A, Ataya F, et al. (2015) The Arabian camel *Camelus dromedarius* heat shock protein 90 α : cDNA cloning, characterization and expression. *Int J Biol Macromol.* 81:195–204.
32. Sejian V, Bhatta R, Gaughan JB, Dunshea FR, Lacetera N. (2018) Review: Adaptation of animals to heat stress. *Anim.* 12:S431–44.
33. Serradilla JM, Carabaño MJ, Ramón M, AntonioMolina, Diaz C, Menéndez-Buxadera A. (2017) Characterisation of Goats' Response to Heat Stress: Tools to Improve Heat Tolerance. *Goat Sci.* DOI: 10.5772/intechopen.70080.
34. Shandilya UK, Sharma A, Sodhi M, Mukesh M. (2020) Heat stress modulates differential response in skin fibroblast cells of native cattle (*Bos indicus*) and riverine buffaloes (*Bubalus bubalis*). *Biosci Rep.* 40(2): BSR20191544.
35. Sharma AK, Rodriguez LA, Wilcox CJ, Collier RJ, Bachman KC, Martin FG. (1988) Interactions of Climatic Factors Affecting Milk Yield and Composition. *J Dairy Sci.* 71(3):819-25.
36. Sheiha AM, Abdelnour SA, Abd El-Hack ME, Khafaga AF, Metwally KA, Ajarem JS, et al. (2020) Effects of dietary biological or chemical-synthesized nano-selenium supplementation on growing rabbits exposed to thermal stress. *Anim.* 10(3):430.
37. Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K, Mizoguchi T, Urao T, Katagiri T, Nakashima K, et al. (1998) Molecular responses to water stress in *Arabidopsis thaliana*. *J Plant Res.* 111:345–51.
38. Sievers F, Wilm A, Dineen D, Gibson TJ, Karplus K, Li W, et al. (2011) Fast, scalable generation of high-quality protein multiple sequence alignments using Clustal Omega. *Mol Syst Biol.* 7:539.
39. Singh AK, Upadhyay RC, Chandra G, Kumar S, Malakar D, Singh S V., et al. (2020) Genome-wide expression analysis of the heat stress response in dermal fibroblasts of Tharparkar (zebu) and Karan-Fries (zebu \times taurine) cattle. *Cell Stress Chaperones.* 25:327–44.
32. Ur Rehman S, Nadeem A, Javed M, Ul Hassan F, Luo X, Khalid RB, et al. (2020) Genomic Identification, Evolution and Sequence Analysis of the Heat-Shock Protein Gene Family in Buffalo. *Genes.* 11:1–19.
40. Ur Rehman S, Nadeem A, Javed M, Ul Hassan F, Luo X, Khalid RB, et al. (2020) Genomic Identification, Evolution and Sequence Analysis of the Heat-Shock Protein Gene Family in Buffalo. *Genes.* 11:1–19. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33238553/>
41. Vinogradov AE. (2005) Noncoding DNA, isochores and gene expression: Nucleosome formation potential. *Nucleic Acids Res.* 33:559–63.
42. Waterhouse A, Bertoni M, Bienert S, Studer G, Tauriello G, Gumienny R, et al. (2018) SWISS-MODEL: homology modelling of protein structures and complexes. *Nucleic Acids Res.* 46:W296–303.
43. West JW. (2003) Effects of heat-stress on production in dairy cattle. *J Dairy Sci.* 86(6):2131-2144.
44. Yadav VP, Dangi SS, Chouhan VS, Gupta M, Dangi SK, Singh G, et al. (2016) Expression analysis of NOS family and HSP genes during thermal stress in goat (*Capra hircus*). *Int J Biometeorol.* 60:381–9.

Genomic and proteomic bioinformatics analysis of two heat shock proteins (HSP90-a and HSP90-b) of Tali goat breed and their comparison in seven species of domestic animals

Rezvannejad E.

Dept. of Biotechnology, Institute of Sciences and High Technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, I.R. of Iran

Abstract

Heat shock proteins (HSPs) play an important role in responding to various environmental stresses. In this study, genomic and proteomic characteristics of HSP90-a and HSP90-b in Tali goats in addition to 7 species of domestic animals including sheep (*O. aries*), goat (*C. hircus*), water buffalo (*B. bubalis*), cattle (*B. taurus*), Zebo cattle (*B. indicus*), one-humped camel (*C. dromedaries*) and two-humped camel (*C. bactrianus*) were analyzed using Multiple sequence alignment, SWISS modeling and phylogenetics analysis tools. The location of HSP90-a and HSP90-b gene is determined in all of studied species but its position has not been determined in the two humped camels. The number of exons for HSP90-a and HSP90-b in all studied species except two camel species were similar. Comparison of mutations in the Tali breed with the reference goat showed that the mutations of the exon regions have not caused any change in amino acids. Analysis of the ExPasy translation tool also showed that HSP90-a and HSP90-b encode 733 and 724 amino acids for all species, respectively, except for the two-humped camel, which has 649 amino acids for the HSP90-a protein. The results showed that HSP90-a protein had one variable amino acid in water buffalo and six variable amino acids in two-humped camel, while only one-humped camel and two-humped camel had two variable amino acids in HSP90-b protein. This study will be supportive in selection of target genes for molecular adaptation of livestock.

Keywords: Heat Shock Proteins (HSPs), Thermal Adaptation, Genomic Analysis, Proteomic Analysis, domestic Species of animals