وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور – پژوهشکده اکولوژی دریای خزر

عنوان پروژه تحقیقاتی :

شناسایی و جداسازی میکروساتلیت تاسماهی ایرانی

مجری:
مهدی مقیم

شماره ثبت

وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور- پژوهشکده اکولوژی دریای خزر

عنوان پروژه : شناسایی و جداسازی میکروساتلیت تاسماهی ایرانی
شماره مصوب پروژه : ۸۶۰۴۷-۱۲-۷۶-۲

نام و نام خانوادگی نگارنده/ نگارندگان : مهدی مقیم
نام و نام خانوادگی مجری مسئول (اختصاص به پروژه ها و طرحهای ملی و مشترک دارد) :
نام و نام خانوادگی مجری / مجریان : مهدی مقیم
نام و نام خانوادگی همکار(ان) : محمد پورکاظمی ، سهراب رضوانی ،فرامرز لالوئی، فرامرز باقرزاده افروزی، مهتاب یارمحمدی، داود کر، محبوبه نیرانی،محمدجواد تقوی

نام و نام خانوادگی مشاور(ان) : -
نام و نام خانوادگی ناظر(ان) : احمد غرقی
محل اجرا : استان مازندران
تاریخ شروع : ۸۶/۳/۱
مدت اجرا : ۵ سال و ۳ ماه
ناشر : موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور
شمارگان (تیتراژ) : ۲۰ نسخه
تاریخ انتشار : سال ۱۳۹۱

حق چاپ برای مؤلف محفوظ است . نقل مطالب ، تصاویر ، جداول ، منحنی ها و نمودارها با ذکر مأخذ بلامانع است .

«سوابق طرح یا پروژه و مجری مسئول / مجری»

پروژه : شناسایی و جداسازی میکروساتلیت تاسماهی ایرانی

کد مصوب : ۸۶۰۴۷-۱۲-۷۶-۲

شماره ثبت (فروست) : **تاریخ :**

با مسئولیت اجرایی جناب آقای مهدی مقیم دارای مـــــدرک تحصـــــیلی کارشناسی ارشد در رشته شیلات می‌باشد.

پروژه توسط داوران منتخب بخش زیست فنآوری و فرآوری آبزیان در تـاریخ ۹۱/۹/۲۶ مورد ارزیابی و با نمره ۱۷/۶ و رتبه خوب تأیید گردید.

در زمان اجرای پروژه، مجری در :

ستاد ☐ پژوهشکده ■ مرکز ☐ ایستگاه ☐

با سمت عضو هیئت علمی‌در پژوهشکده اکولوژی دریای خزرمشغول بوده است.

MINISTRY OF JIHAD - E - AGRICULTURE
AGRICULTURAL RESEARCH, EDUCATION & EXTENSION ORGANIZATION
IRANIAN FISHERIES RESEARCH ORGANIZATION -
Caspian Sea Ecology Research Center

Project Title :

Characterization and isolation of microsatellite in Persian sturgeon (Acipenser persicus, Borodine, 1897)

Project Researcher :

Mehdi moghim

Register NO.

Ministry of Jihad – e – Agriculture
AGRICULTURAL RESEARCH, EDUCATION & EXTENSION ORGANIZATION
IRANIAN FISHERIES RESEARCH ORGANIZATION –
Caspian Sea Ecology Research Center

Project Title : : Characterization and isolation of microsatellite in Persian sturgeon (Acipenser persicus, Borodine, 1897)

Apprpved Number: 2-76-12-86047
Author: Mehdi moghim
Project Researcher : Mehdi moghim
Collaborator(s) : M. porkazemi, S.Rezvani Gilkolaei, F. Laloei, F.Bagherzadeh afrozi, M.Yarmohamadi, D. Kor, M. Nayerani, M.J. Taghavi

Advisor(s): -
Supervisor: A.Ghoroghi
Location of execution : Mazandaran province
Date of Beginning : 2007
Period of execution : 5 Years & 3 Months
Publisher : Iranian Fisheries Research Organization
Circulation : 20
Date of publishing : 2013
All Right Reserved . No Part of this Publication May be Reproduced or Transmitted without indicating the Original Reference

فهرست مطالب

عنوان صفحه

۱- مقدمه ۱

۱-۱ مروری بر منابع : ۴

۱-۱-۱ تاس ماهی ایران: ۴

۱-۱-۲ نشانگرهای ژنتیکی (Genetic Marker) ۹

۱-۱-۳ - تخمین تنوع ژنتیکی بااستفاده از نشانگرهای ژنتیکی ۱۰

۱-۱-۴ - نشانگرهای مولکولی ۱۰

۱-۱-۵ - نشانگرهای پروتئینی ۱۰

۱-۱-۶ - نشانگر DNA ۱۱

۱-۱-۶-۱ - ماهواره ها (Satellites) ۱۲

۱-۱-۶-۲ - نشانگرهای ریز ماهواره ۱۳

۱-۱-۶-۲ - اشکال مختلف ریزماهواره‌ها ۱۵

۱-۱-۶-۲ - چندشکلی در ریزماهواره‌ها ۱۵

۱-۱-۶-۳ - تکامل ریزماهواره‌ها ۱۷

۱-۱-۶-۴ - مزایای ریزماهواره‌ها ۱۸

۱-۱-۶-۵ - معایب ومشکلات ریزماهواره ها ۱۸

۱-۱-۶-۶ - حفاظت شدگی مایکروستلایتها ۲۰

۱-۱-۶-۷ - کاربرد ریز ماهواره ها ۲۱

۲- مواد و روشها : ۲۳

۲-۱- هضم آنزیمی (Restriction Enzyme Digest) ۲۳

۲-۲- هضم و حذف فسفر (Dephosphorylation) ۲۵

۲-۳- بستن لینکرها (Linkers ligation) : ۲۵

۲-۴- ترمیم قطعات DNA (Nick repair) ۲۶

۲-۵- غنی سازی (Enrichment) ۲۷
۲-۵-۱- تهیه اولیگونوکلوتید های بیوتین دار(Prepare Biotinylated Oligos prob) ۲۸
۲-۵-۲- هیبریداسیون DNA با پروب های بیوتین دار ۲۸
۲-۵-۳- آماده سازی Dbeads ۲۹
۲-۶- کلونینگ ۳۰
۲-۶-۱- انتقال به پلاسمید (T Vector ligation) ۳۰
۲-۶-۲- انتقال به باکتری: Bacterial transformation ۳۱
۲-۶-۳- کنترل ورود پلاسمید به باکتری : ۳۲
۲-۷- هیبریداسیون (Colony Hybridization) ۳۳
۲-۷-۱- آماده سازی فیلتر : ۳۴
۲-۷-۲- انتقال کلنی (Colony Transfer) ۳۴
۲-۷-۳- لیز کردن کلنی (Colony Lysis) ۳۴
۲-۷-۴- هیبریداسیون اولیه (Colony pre-Hybridization) ۳۵
۲-۷-۵- واکنش Kianase (Kinase Reaction) ۳۵
۲-۷-۶- هیبریداسیون نهایی ۳۵
۲-۷-۷-شستشو فیلتر ها ۳۶
۲-۸- تعیین توالی (Sequence positive insert) ۳۷
۲-۸-۱ - جداسازی DNA پلاسمید باکتری کلنی های مثبت: ۳۷
۲-۸-۲- واکنش تعیین توالی (Automated Sequencing Reactions) ۳۷
۲-۹- طراحی پرایمر میکروساتلیت (Primer design) ۳۹
۲-۱۰-آزمایش کارایی و شرایط بهینه کارکرد پرایمرها (Primer optimization) ۴۰
۲-۱۱- تفسیر باندها ۴۱
۲-۱۲- آزمایش کارایی وکارکرد پرایمرهای اختصاصی میکروساتلیت تاس ماهی ایران در چهار گونه ماهیان خاویاری دریای خزر ۴۲
۳- نتایج و بحث : ۴۳
منابع: ۷۶

پیوست ۸۱

فهرست جداول

عنوان صفحه

جدول ۱: ترکیبات و میزان مواد متشکله محلول هضم آنزیمی DNA تاس ماهی ایران..... ۲۳
جدول ۲: ترکیبات و میزان مواد متشکله محلول هضم و حذف فسفر رشته DNA تاس ماهی ایران ۲۵
جدول ۳: ترکیبات و میزان مواد متشکله تهیه لینکر SNX..... ۲۶
جدول ۴: ترکیبات و میزان مواد متشکله محلول بستن لینکرها به رشته DNA تاس ماهی ایران ۲۶
جدول ۵: ترکیبات و میزان مواد متشکله محلول ترمیم رشته DNA تاس ماهی ایران ۲۷
جدول ۶: ترکیبات و میزان مواد متشکله محلول PCR کنترل ترمیم رشته DNA تاس ماهی ایران..... ۲۷
جدول ۷: ترکیبات و میزان مواد متشکله محلول پروب بیوتین دار ۲۸
جدول ۸ : ترکیبات و میزان مواد متشکله محلول هیبریداسیون DNA ت با پروب بیوتین دار..... ۲۸
جدول ۸ : ترکیبات و میزان مواد متشکله واکنش PCR با DNA غنی شده تاس ماهی ایران..... ۳۰
جدول ۹ : ترکیبات و میزان مواد متشکله واکنش انتقال به پلاسمید ۳۱
جدول ۱۰ : ترکیبات و میزان مواد متشکله واکنش PCR..... ۳۲
جدول ۱۱ : ترکیبات و میزان مواد متشکله واکنش کیناز..... ۳۵
جدول ۱۲ : ترکیبات و میزان مواد متشکله واکنش PCR تعیین توالی..... ۳۸
جدول ۱۳ : ترکیبات و میزان مواد متشکله واکنش PCR..... ۴۰
جدول ۱۴ : مشخصات پرایمرهای اختصاصی تاس ماهی ایران شامل نام جایگاه، اندازه کلون بر حسب BP ، شماره دسترسی در بانک ژن، نوع و تعداد ردیفهای تکراری متوالی(MOTIF)، دمای اتصال، توالی پرایمرها و نوع جایگاه که تکثیر می نماید..... ۵۰

جدول ۱۵ : مشخصات پرایمرهای اختصاصی تاس ماهی ایران شامل نام جایگاه، اندازه کلون بر حسب BP ، شماره دسترسی در بانک ژن، نوع و تعداد ردیفهای تکراری متوالی(MOTIF)، دمای اتصال، توالی پرایمرها و نوع جایگاه که درگونه های مختلف ماهیان خاویاری دریای خزرتکثیر می نماید... ۶۱

فهرست اشکال

عنوان صفحه

عکس ۱ :تصویر ژل آگاروز کنترل بستن پلاسمید به باکتری ۳۳
ستون ۱ ، نشانگر BP ۱۰۰، ستون های ۲ الی۶ ،کلنی های پاروپوزه آمریکایی ؛ ستون های ۷ الی۱۱، کلنی های تاس ماهی ایران؛ ستون ۱۱ آب ۳۳
عکس ۲ : تصویر ژل آگاروز DNA مینی پرپ ۳۷
ستون های L1 الی L15 ، DNA مینی پرپ تاس ماهی ایران(نشانگر BP ۱۰۰) ۳۷
عکس ۳ : ستون سفادکس ۳۹
عکس ۴ :تصویر ژل آگاروز کنترل هضم آنزیمی DNA تاس ماهی ایران ۴۳
ستون DNA L1 تاس ماهی ایرانی ، ستون DNA L2 تاس ماهی ایرانی بعد از هضم آنزیمی ۴۳
عکس ۵ :تصویر ژل آگاروز کنترل بستن لینکرها به DNA تاس ماهی ایرانی ستون DNA L1 فیکس (REPAIRED DNA) ، ستون DNA L2 غیر فیکس (UNREPAIRED DNA) ستون L3 آب. ۴۴
عکس ۶ :تصویر ژل آگاروزمحصول PCR کنترل غنی سازی ۴۵
ستون GOLD L1 دی نوکلئوتید تاس ماهی ایرانی ، ستون GOLD : L2 تترانوکلئوتید تاس ماهی ایرانی ۴۵
عکس ۷ :تصویر ژل آگاروز محصول PCR کنترل مراحل شستسو غنی سازی ۴۶
ستونهای L1 الی L8 محلولهای باقی مانده از مراحل شستشو تاس ماهی ایران(نشانگر BP ۱۰۰) ۴۶
عکس ۸ : تصویر فیلم رادیولوژی فیلترهای هیبریداسیون شماره های ۸-۵ . کلنی های دارای میکروساتلیت نقاط سیاه رنگ روی فیلم ظاهر نمودند. ۴۶
عکس۹ : تصویر فیلم رادیولوژی فیلترهای هیبریداسیون شماره های ۱۲-۹ . ..... ۴۷
شکل ۱۰: A -الکتروفروگرام کلون شماره 2H12R که دارای توالی $(CA)_{14}$ در بین نوکلوتید های ۱۳۶ الی ۱۵۴ و B کلون شماره 2H09R که دارای توالی $(CAGA)_6$ در بین نوکلوتید های ۱۴۷ الی ۱۷۱ است ۴۸
شکل ۱۱ - آرایش باند DNA تاس ماهی ایران با استفاده از پرایمر APE-10 ، APE-13 و روش اتورادیوگرافی که جایگاه های اکتاسومیک را تکثیر کرده اند ۵۴
شکل ۱۲ - آرایش باند DNA تاس ماهی ایران با استفاده از پرایمر APE-14 و روش اتورادیوگرافی که جایگاه ه تتراسومیک را تکثیر کرده .تمامی نمونه ها بجز نمونه L14 باند دیسومیک نشان دادند. ۵۵

شکل ۱۳ – آرایش باند DNA تاس ماهی ایران با استفاده از پرایمر APE-22 ، APE-39 ، APE-71 ، APE-55 و روش رنگ آمیزی نیترات نقره که بترتیب جایگاه های پلی سومیک تتراسومیک ، اکتاسومیک ، تتراسومیک و اکتاسومیک را تکثیر کرده اند ۵۶
شکل ۱۴ – آرایش باند DNA تاس ماهی ایران با استفاده از پرایمر APE-81 ، APE-32 و APE-22 و روش رنگ آمیزی نیترات نقره که بترتیب جایگاه های پلی سومیک تتراسومیک ، اکتاسومیک و اکتاسومیک را تکثیر کرده‌اند ۵۷
شکل ۱۵ – آرایش باند DNA تاس ماهی ایران با استفاده از پرایمر APE-57 و روش رنگ آمیزی نیترات نقره که جایگاه مونومورفیک را تکثیر کرده ۵۸
شکل ۱۶ – آرایش باند DNA تاس ماهی ایران با استفاده از پرایمر APE-73 و APE-77 و روش رنگ آمیزی نیترات نقره که بترتیب جایگاه های پلی سومیک اکتاسومیک و تتراسومیک را تکثیر کرده اند. ۵۸
شکل ۱۷ – آرایش باند DNA تاس ماهی ایران با استفاده از پرایمر APE-78 و APE-76 و روش رنگ آمیزی نیترات نقره که بترتیب جایگاه های پلی سومیک تتراسومیک و اکتاسومیک را تکثیر کرده اند. ۵۹
عکس ۱۸: الگوی باند های تولید شده با پرایمر APE-20 در تاس ماهی ایران ، تاس ماهی روس و شیپ که در تاس ماهی ایران و روس جایگاه تتراسومیک و در ماهی شیپ جایگاه مونومورف را تکثیر کرده است. ۶۶
عکس ۱۹ – الگوی باند های تولید شده با پرایمر APE-27 که در تاس ماهی ایران و تاس ماهی روس جایگاه تتراسومیک اما در ماهی شیپ، ازون برون و فیل ماهی جایگاه دیسومیک را تکثیر کرده است. ۶۸
عکس ۲۰ – الگوی باند های تولید شده با پرایمر APE-32 که در تاس ماهی روس جایگاه اکتاسومیک و در ماهی شیپ، مونومورف اما در ماهی ازون برون و فیل ماهی جایگاه دیسومیک را تکثیر کرده است. ۶۹
عکس ۲۱ – الگوی باند های تولید شده با پرایمر APE-66که در تاس ماهی روس جایگاه تتراسومیک و در ماهی شیپ، مونومورف را تکثیر کرده است ۷۰
عکس۲۲– الگوی باند های تولید شده با پرایمر APE-30 و APE-32که در تاس ماهی روس جایگاه تتراسومیک و در ماهی شیپ، جایگاه دیسومیک را تکثیر کرده است ۷۰
عکس۲۳– الگوی باند های تولید شده با پرایمر APE-51 و APE-78که در ماهی ازون برون و فیل ماهی جایگاه های دیسومیک را تکثیر کرده اند ۷۱

خلاصه :

تاس ماهی ایران (Acipenser persicus) یک گونه با ارزش تجاری در جنوب دریای خزر است . به منظور مدیریت پایدار ذخایرتاس ماهی ایران ، نیاز به شناسایی جمعیت ها ، ساختار جمعیتی و همچنین وضعیت حفاظتی آنها در زیستگاه طبیعی شان داریم. همچنین برای توسعه یک برنامه حفاظتی برای تاس ماهی ایران در دریای خزر نیاز به آگاهی از تنوع ژنتیکی آن داریم که داد های آن با استفاده از نشانگر مولکولی قابل اعتمادی جمع آوری شده باشد. نشانگر ملکولی ریزماهواره یا میکروساتلیت، نشانگر مناسبی برای این مطالعه می باشد. در این تحقیق میکروساتلیت های خاص تاس ماهی ایران شناسایی ، جداسازی و آغازگر های اختصاصی آن بسط (develop) داده شد، . برای این منظور با استفاده از روش جذب بیوتین، کتابخانه DNA تاس ماهی ایران برای دو موتیف میکروساتلیت دی نوکلئوتید شامل (GA, GT) و دو موتیف تترانوکلئوتید (GATA, GACA) غنی سازی شد .پس از کلون در وکتور و باکتری E.coli Dh5ά حدود ۱۸۰۰ کلونی سفید از کتابخانه ژنومی تاس ماهی ایران جدا سازی شد. از روش فیلترهیبریداسیون(Filter Hybridization) برای شناسایی و جداسازی کلنی هایی که محتوی توالی های میکروساتلیت تاس ماهی ایرانی بودند استفاده شدکه در بین آنها ۳۵۰ کلونی مثبت شناسایی و تعیین توالی شدند . در بین توالی ها ۸۱ توالی که کلیه شرایط لازم برای طراحی آغازگر را داشتند شناسایی شد . پس از حذف ۱۳ توالی متشابه ، ۶۸ جفت آغازگر اختصاصی میکروساتلیت تاس ماهی ایران بسط داده شد . آغازگر های اختصاصی تاس ماهی ایرانی با نام Ape-01 الی Ape-81 نامگذاری شدند.کلیه توالی های DNA و آغازگر های اختصاصی میکروساتلیت تاس ماهی ایران در بانک ژن (GenBank) ثبت شد.

آزمایش کارکرد و کارایی آغازگر های اختصاصی میکروساتلیت تاس ماهی با PCR ۲۴ نمونه از DNA تاس ماهی ایران روی ژل پلی آکریل آمید ۶٪ نشان داد که از ۶۸ جفت آغازگر، ۶ آغازگر جایگاه مونومورف یا تک شکلی (monomorphic) ، ۲۰ آغازگر جایگاه چند شکلی تتراسومیک (tetrasomic) ، ۱۸ آغازگر جایگاه چند شکلی اکتاسومیک (octosomic) را تکثیر (amplify) کردند و ۲۴ آغازگر هیچ جایگاهی را تکثیر نکردند یا الگوی باندها ضعیف و مبهم بودند.

آزمایش کارکرد و کارایی آغازگر های اختصاصی میکروساتلیت تاس ماهی در چهار گونه ماهیان خاویاری دریای خزرشامل ازون برون (A. stellatus)، شیپ (A.nudiventris) و فیل ماهی (huso Huso) و تاس ماهی روسی (A. gueldenstaedtii) نیز انجام شد.

در حالی که برای تاس ماهی ایران و تاس ماهی روسی الگوی باندهای حاصل جایگاه های پلی سومیک چهار تایی یا بیشتررا نمایش دادند ، باندهای حاصل از آغازگر ها در ازون برون، شیپ و فیل ماهی جایگاه های چند شکلی دیسومیک(disomic) را نشان دادند. این نشانگرها در مطالعات ژنتیک جمعیت انواع مختلف ماهیان خاویاری دریای خزر مفید و قابل استفاده می باشند.

این گزارش اولین تحقیق از توسعه آغازگرهای ریزماهواره در بین آبزیان ایران و ماهیان خاویاری دریای خزر است.

۱- مقدمه

یکی از روشهای اصولی مدیریت ذخایر شیلاتی ، شناخت جمعیت ها و مدیریت هریک از ذخایر (stock) می باشد. در دریای خزر پنج گونه از ماهیان خاویاری زیست می کنند که بعنوان ذخایر مشترک پنج کشور ساحلی آن محسوب می شود. ماهیان خاویاری دریای خزر در گذشته حدود ۹۰٪ خاویار جهان را تامین می نمودند . در حال حاضر بعلت صید بی رویه ، تخریب زیستگاهها و محلهای تخم ریزی و همچنین آلودگی ها ذخایر آن شدیدا کاهش یافته بطوریکه از سال ۱۹۹۸ کلیه ماهیان خاویاری دریای خزر و سایر گونه های تاسماهیان جهان جزء ضمایم کنوانسیون نظارت بر تجارت گونه های در حال انقراض یا CITES قرار گرفت است Moghim et (Birstein 1997; Pikitch et al., 2005) al., 2006; Pourkazemi, 2006)) . بعلت کاهش تکثیر طبیعی ، بخش عمده ذخایر از طریق تکثیر مصنوعی باز سازی می گردد و سالانه میلیونها بچه ماهی خاویاری از طریق چهار کشور حاشیه خزر شامل ایران ، روسیه ، آذربایجان و قزاقستان به دریای خزر رهاسازی می گردد Abdolhay, and Baradaran Tahori., 2006)). مطالعات مورفولوژیکی و بیولوژیکی در پراکنش هر یک از گو نه های ماهیان خاویاری در دریای خزر نشان داده است که هر گونه از جمعیت های مختلف شمالی میانی و جنوبی دریای خزر تشکیل یافته است . در گذشته هر جمعیت از نژادهای مختلف بهاره و پاییزه که جهت تخم ریزی به رودخانه ها کوچ می کردند تشکیل شده بود

(Berg, 1948; Holcik, 1989) . افزایش فشار صید غیر مجاز منجر به کاهش فوق العاده ذخایر ماهیان خاویاری شده و میزان صید قانونی از ۲۸۵۰۰ تن در سال ۱۹۸۵ به کمتر از ۱۰۰۰ تن در سال ۲۰۱۰ برسد (Ruban, G.I. & Khodorevskaya, R.P., 2011; Rostami, 1961) . اطلاعات بسیار کمی از وضعیت ژنتیکی ذخایر وجود دارد. بنظر می رسد که فشار صید بر روی بعضی از جمعیت ها بیش از حد بوده و

این جمعیت ها نیاز به مراقبت و حفاظت بیشتری داشته باشند ولی بعلت مطالعات محدود و عدم شناخت جمعیت ها ، ذخایر بصورت واحد مد نظر قرار می گیرند و مدیریت می شوند.

تا کنون برای شناخت جمعیت ها علاوه بر مطالعه خصوصیات مورفولوژیکی و مریستکی پنج گونه ماهیان خاویاری دریای خزر مطالعات ژنتیک مولکولی با ستفاده از روش Alloszyme ، mtDNA ، RAPD و Direct sequencing صورت گرفته است(عطایی،۱۳۸۱ .1997 .Rezvani ,1996 .Pourkazemi) Khoshkholgh et al., 2011) و در بعضی گونه ها جمعیت های متفاوت و مارکر مولکولی برای تمایز آنها معرفی گردیده است.

در سه دهه اخیر نشانگر ملکولی ریز ماهواره ها یا (Microsatellites) مورد توجه بسیاری از محققین قرار گرفت . ریز ماهوارک ها که اطلاعات کاملی از هر فرد (اثر انگشت) بدست می دهند به ابزار اصلی در ژنتیک جمعیت مبدل شد و کاربرد آنها در ژنتیک ماهیان و بی مهره گان آبزی روند رو به رشدی دارد. علت اصلی کاربرد این نشانگر، قدرت آن در حل مشکلات بیولوژیکی و تجزیه و تحلیل‌های جمعیتی و همچنین مطالعات اکولوژیکی می‌باشد. تنوع زیاد، قابلیت رتبه‌دهی آسان، همبارز بودن و پراکندگی یکنواخت در سراسر ژنوم از دلائل عمده کاربرد وسیع این نشانگر محسوب می‌شود (O'Reilly and Wright., 1995; Avise et al., 1987; Selkoe & Toonen, 2006). اما مشکل اصلی در استفاده از ریزماهواره ها شناسایی و جداسازی آنها است. تعیین توالی برای ساخت وطراحی نشانگر مورد نیاز است که انجام آن مستلزم صرف وقت وهزینه زیادی است.

تا کنون مطالعات محدودی در ژنتیک جمعیت ماهیان خاویاری در دریای خزر با استفاده از نشانگر ریزماهواره انجام گرفت (خوش خلق۱۳۸۵، صفری ۱۳۸۵، نوروزی ۱۳۸۶، پورکاظمی ۱۳۸۸، Chakmehdouz et al, 2011; Moghim et al, 2009). در تمامی این مطالعات روش Cross species بکار گرفته شد و از پرایمرهایی که برای سایر گونه های ماهیان خاویاری طراحی شده استفاده شد . تاکنون

هیچ تحقیقی در جهت شناسایی و جداسازی ریزماهواره ها و متعاقب آن توسعه و تولید پرایمرهای اختصاصی ریزماهواره در ماهیان خاویاری دریای خزر انجام نشده و این اولین مطالعه در نوع خود می باشد.

از بین پنج گونه ماهیان خاویاری که در آبهای ساحلی ایران زیست می کنند و توسط صیادان صید می شوند، تاس ماهی ایران (A.persicus) بیشترین فراوانی را دارد . تاس ماهی ایران مهم ترین گونه اقتصادی در آبهای ایران بشمار می رود و در دهه ۹۰-۱۳۸۰ بطور میانگین بیش از ۶۹ درصد خاویار ایران را تشکیل داد .

تاس ماهی ایرانی در دریای خزر دارای جمعیت ها و گروه های بیولوژیک بسیاری است که شناسایی تنوع جمعیت درون گونه ای آن را بسیار پیچیده و مشکل نموده است (Perevaryukha,2002) . از طرف دیگر بعلت کاهش تکثیر طبیعی، ذخایر این گونه عمدتا از طریق تکثیر مصنوعی بازسازی می گردد. در سالهای ۹۰-۱۳۷۵ بیش از ۲۰۰ میلیون بچه ماهی این گونه از مراکز تکثیر مصنوعی ایران به رودخانه های حاشیه جنوبی دریای خزر رها سازی شد. بدین جهت بمنظور مدیریت بهینه در تکثیر و پرورش تاس ماهی ایرانی داشتن اطلاعات از تنوع ژنتیکی آن حیاتی است. مهمترین هدف مدیریت ذخایر در دراز مدت، کنترل درون آمیزی (Inbreeding) و جلوگیری از کاهش رشد که بواسطه آن ایجاد می گردد است.

متاسفانه تا کنون هیچگونه نشانگر و معیار ژنتیکی برای انتخاب مولدین برای تکثیر مصنوعی وجود ندارد و هیچ مطالعه ای در خصوص نحوه توارث صفات از والدین به فرزندان در تاس ماهی ایرانی انجام نشده است .این طرح در نظر دارد توالی ریزماهواره های تاسماهی ایران را شناسایی و پرایمرهای خاص آن را تولید و معرفی کند. استفاده از نتایج این بررسی می تواند گامی مهم و موثر در جهت شناسایی و تمایز جمعیت ها و ذخایر ژنتیکی تاسماهی ایران باشد.

۱-۱ مروری بر منابع :

۱-۱-۱ تاس ماهی ایران:

نخستین بار بورودین (Borodin) در سال ۱۸۹۷ پس از اجرای برخی مطالعات ریخت شناسی و زیست شناسی در رود کورا و اورال , تاس ماهی ایرانی را بین سایر ماهیان خاویاری دریای خزر تحت عنوان Acipenser persicus Borodin, 1897. نامگذاری و یک گونه مستقل اعلام نمود (Berg, 1948) .

در بیشتر تالیفات ماهی شناسان و پژوهشگران ، تاس ماهی ایرانی را در رودخانه ولگا به نام " تاس ماهی با تخمریزی تابستانی" و یا " تاس ماهی آخر بهار " نام برده اند و آن را تاس ماهی روسی که در تابستان تخمریزی می کند نام می بردند. اما مطالعات بیوشیمیایی و مقایسه آنتی ژن های سرم خون تاس ماهی با تخمریزی تابستانی و تاس ماهی روسی در رودخانه ولگا آشکار ساخت که تاس ماهی با تخمریزی تابستانی زیرمجموعه تاکسونومیک تاس ماهی روسی به شمار نمی آید، بلکه همان گونه تاسماهی ایرانی میباشد که برای تخم ریزی در اواخربهار یا تابستان به رودخانه ولگا مهاجرت می کند (بلیایوا ۱۹۸۹) . مطالعات بیوشیمیایی نشان داد که تاس ماهی ایرانی در سرم خون خود دارای سه ترکیب آنتی ژنی اختصاصی است که در سرم خون تاس ماهی روسی مشاهده نمی گردد (Vacsei and Artyukhin,2001; Lukianenko et al.,1974 Cited by Holcik, 1989)

در سالهای ۸۸-۱۹۸۴ بررسیهای ژنتیکی و بیوشیمیایی روی آنتی ژنهای گلبولهای قرمز , مولکولهای پروتئین سرم خون ، خاویار و عدسی چشم پنج گونه ماهیان خاویاری که در سواحل ایران در دریای خزر صید شده بود توسط کیوان انجام گرفت که نتایج حاصله به شرح زیر بوده است .

بررسیهای ژنتیکی : بررسی پلی مرفیسم ژنتیکی آنتی ژنهای سطحی گلبولهای قرمز و آلوآگلوتینن و هتروآگلوتنین سرم خون روی بیش از دو هزار قطعه از پنج گونه از ماهیان خاویاری رود کوچ سواحل ایران در دریای مازندران به منظور تعیین فرکانس گروههای خونی جهت تفکیک گونه ها و تنوع

جمعیتی درون گونه ای به عمل آمد. نتیجه این تحقیقات نشان داد که کلیه این گونه ها فاقد گروه خون می باشند و پلی مرفیسم ژنتیکی روی گلبولهای قرمز خود ندارند و این امر باید مربوط به نزدیکی اجدادی زیاد بین آنها باشد (کیوان ۱۳۸۲).

بررسیهای بیوشیمیایی : - بررسی تفاوتهای کیفی و قطعه ی باندهای پروتئینی حاصله از الکتروفورز روی پروتئین های سرم خون این پنج گونه از ماهیان خاویاری روی صفحات سلولز و پلی اکریلامید به عمل آمد ولی پلی مرفیسم یک پروتئین به نام ترانسفرین بین سایر پروتئین ها در نزد افراد هر یک از این گونه ها مانع تفکیک آنها از طریق تفاوت تعداد باندهای پروتئینی رسوب کرده سرم روی نوارهای مربوط به الکتروفورز هر یک از گونه ها گردید. بر عکس چنین به نظر رسید که ادامه بررسی پلی مرفیسم پروتئین ترانسفرین نزد افراد هریک از گونه ها بتواند به عنوان یک شاخص جدید خونی به وجود تنوع جمعیتی درون گونه ای هریک از این گونه ها در شمال و جنوب و شرق و غرب دریای خزر کمک نماید .

- بررسیهای ایمنولوژیک روی پروتئینهای سرم خون این ماهیان با کاربرد آنتی سرم (حاصله از تزریق سرم خون هریک از این گونه ها به خرگوشها) با انجام آزمایشهای ایمن پرسی پی تیشن و ایمونوالکتروفورز دو بعدی حاکی از وجود یک همگنی آنتی ژنیک زیاد و نزدیکی اجدادی بین این گونه ها بوده است .

- از الکتروفورز پروتئین های محلول چکیده از عدسی چشم این ماهیها روی صفحات سلولز و پلی اکریلامید چنین نتیجه حاصل گردید که تفاوتهایی بین انواع پروتئین های مزبور در بین گونه ها نسبت به هم وجود دارد که این تفاوت ها در تعداد باندها کمتر ولی بیشتر به مقدار پروتئین های باندهای مشابه در نزد گونه ها مربوط می شوند .

-نهایتا بررسیهایی که از طریق ایزوالکتریک فوکوسینگ مولکولهای پروتئین خاویار (ائوسیت ها) روی ژل پلی آکریلامید انجام گرفت نشان داد به این طریق بخوبی خاویارها و گونه ماهی مربوط به هر خاویار را و از جمله تاس ماهی ایران را می توان تفکیک نمود (keyvan et al.,1987). بدین ترتیب کیوانفر در سال ۱۹۸۷ دو گونه تاسماهی ایرانی و تاسماهی روسی را از همدیگر تفکیک نمود.

بررسیهای ریخت شناسی یا مرفوبیولوژیک تاس ماهی روسی (چالباش) و تاس ماهی ایرانی (قره برون) در جهت رد یا قبول استقلال گونه ای قره برون از چالباش با کاربرد روشهای شمارشی و اندازه ای , در سالهای ۷۲-۱۳۷۱ در سواحل ایران درجنوب دریای خزر نیز توسط نصری چاری اجرا گردید. اختلاف معنی دار بین ۲۲ پارامتر در سطح ($p<0.01$) مشاهده شدکه بیانگر جدایی این دو گونه از یکدیگر و استقلال هر کدام است.نتایج آن به شرح زیر می باشد:

از ۲۶ شاخص بررسی شده روی نمونه های تاس ماهیهای ایرانی و روسی بین ۲۴ شاخص مشابه در این دو ماهی (۹۲ درصد) از نظر آماری تفاوت عمده یا معنی دار مشاهده گردیده است . بین دو شاخص دیگر یعنی شعاع باله مخرجی غیر منشعب و عمق سر تفاوت عمده یا معنی داروجود نداشته است

از ۲۴ تفاوت عمده شناخته شده در شاخصهای تاس ماهیهای ایرانی ۱۳ مشخصه (۵۲ درصد) دارای تفاوت خیلی بیشتر از ۱۱ شاخص (۴۸ درصد) دیگر بوده اند. تفاوت بین دو شاخص (فاصله بین قاعده سیبیلکها تا لبه غضروفی دهان و فاصله بین انتهای پوزه تا قاعده سیبیلکها ۳۳ درصد بزرگتر و سه شاخص (پهنای پوزه نسبت به طول کل ، درازای بین انتهای پوزه تا قاعده سیبیلکها نسبت به طول کل، و پهنای پوزه در قاعده سیبیلکها نسبت به طول کل تقریبا ۲۰ درصد کوچکتر از شاخصهای مشابه در نزد تاس ماهی روسی می باشند.

مطالعات ژنتیک مولکولی با استفاده از روش mtDNA, Allozyme و RAPD و همچنین Direct sequencing برروی تاسماهیان‌دریای خزر صورت گرفته است (قرایی۱۳۸۰ ،قاسمی۱۳۸۲ ، شعبانی ۱۳۸۴،

(Pourkazemi, 1996; Rezvani, 1997) و در بعضی از گونه‌ها جمعیت‌های متفاوت و مارکر مولکولی برای تمایز آن معرفی گردیده است..

رضوانی با استفاده از روش RAPD بر روی DNA و انجام آزمایشهای الکتروفورتیک SSCP نشان داده شد که تمام گونه های ماهیان خاویاری جنوب دریای مازندران (به جز تاس ماهی ایرانی) از نظر مارکرهای ژنتیکی از هم مجزا و متمایز می باشند (Rezvani, 1997).

پورکاظمی و همکاران (۲۰۰۰) بر اساس مطالعه ژن ND5 مستقر بر روی ژنوم میتوکندری تاس ماهی ایرانی و روسی نشان داد که این دو گونه حدود یک میلیون سال پیش منشعب شده اند.

قرائی (۱۳۸۰) تشخیص ملکولی در گونه تاس ماهی ایرانی و تاس ماهی روسی با استفاده از روش RAPD انجام داد . نتایج نشان داد که فاصله ژنتیکی بین این دو گونه بیش از ۰/۵ می باشد و تاس ماهی ایرانی بعنوان یک گونه مستقل از تاس ماهی روسی قابل تفکیک می باشد. در حالی که مطالعات مورفولوژیک و ژنتیک مولکولی Ruban et al, (2011) اعتبار وجود تاس ماهی ایران به عنوان یک گونه مستقل را پشتیبانی نمی کند.

گونه یا زیرگونه بودن تاسماهی ایرانی در بین کارشناسان و محققین همچنان مورد بحث است و هر زمان نتایج جدیدی در این رابطه ارائه می شود.اما اهیت اقتصادی این ماهی در آبهای ساحلی ایران از دیر باز بر همگان معلوم است .

تاسماهی ایرانی (A. persicus) بومی آبهای ایران بوده و نام Persicus یا ایرانی بهمین دلیل به این گونه اطلاق شد. در گذشته و حال بیشترین فراوانی را در آبهای ایران داشته و دارد (Rostami. 1961, Berg 1948 , Holcik 1989, Moghim et al., 2006) . در دهه ۹۰-۱۳۸۰ بیش از ۶۵٪ خاویار ایران را خاویار تاس ماهی ایران تشکیل داد. اجازه صید و بهره‌برداری تاسماهی ایران در بین پنج کشور ساحلی دریای خزر فقط به کشور ایران داده شد.

تاس ماهی ایران بومی آبهای خزر جنوبی است و در گذشته برای تخم ریزی به رودخانه های سفید رود , تجن , گرگانرود در ایران و کورا , لنکران و آستارا در آذربایجان مهاجرت می کرد همچنین به رودخانه های ولگا , اورال , سامور , ترک نیز مهاجرت تخم ریزی دارد. اما زیستگاه اصلی آن خزر جنوبی بویژه آبهای ایران و رودخانه های منتهی به آن است . مطالعات بیولوژیک , مورفولوژیک و ژنتیکی صورت گرفته نشان می دهد که تاس ماهی ایران از جمعیتها و نژادهای مختلف تشکیل شده است . جمعیت آن به دو نژاد بهاره و پاییزه که از نظر زمان ورود به رودخانه برای تخم ریزی با هم متفاوت می باشند تقسیم می شود. نژاد بهاره را بر اساس وجود دو آنتی ژن خاص از نژاد پاییزه می توان تشخیص داد (Pervaryukha and Geraskim,1995).

در سفید رود دو گروه بهاره , شناسایی شده است که یکی از گروهها در ماههای فروردین تا خرداد و دیگری در شهریور ماه جهت تخم ریزی به این رودخانه مهاجرت می کنند (Rostami,1961).

جمعیت تاس ماهی ایرانی در رودخانه کورا به چهار گروه بیولوژیک تقسیم می شودکه عبارتند از : نژاد اوایل بهار , نژاد اواخر بهار , نژاد زمستانه , نژاد بهاره مهاجر پاییزه (Gerbilskil , 1950 cited in Holcik, 1989). در جمعیت تاس ماهی ایران در رودخانه ولگا دو گروه بیولوژیک شامل نژاد اوایل بهار و نژاد اواخر بهار و در جمعیت رودخانه اورال نژاد اواخر بهار گزارش شده است.

رضوانی (۱۹۹۷) بر اساس مطالعه توالی DNA گزارش نموده که تاس ماهی ایرانی صید شده در غرب و شرق سواحل ایران در دریای مازندران دارای ساختار ژنتیکی متفاوتی نیستند.

مطالعات عطایی (۱۳۸۲) با استفاده از PCR-RFLP بر روی ناحیه Dloop تاس ماهی ایرانی در منطقه سفید رود , جنوب شرقی و غربی دریای خزر نشان داده که اختلاف معنی داری بین جمعیتهای این مناطق وجود ندارد هرچند که در این بررسی تعداد ۱۸ هاپلوتیپ که ۴ هاپلوتیپ آن از فراوانی بیشتری

برخوردار بوده گزارش شده است . خوش خلق و همکاران (۲۰۱۱) با بررسی توالی میتوکندری در ناحیه کنترل (mitochondrial DNA sequences of the control region) به نتایج مشابه ای دست یافت.

خوش خلق (۱۳۸۶) ، پورکاظمی (۱۳۸۸) و چکمه دوز و همکاران (۲۰۱۱) ژنتیک جمعیت تاس ماهی ایران را با استفاده از نشانگر میکروساتلیت و پرایمرهایی که برای سایر گونه های ماهیان خاویاری توسعه یافته بود مورد مطالعه قرار دادند و نتایج مختلفی را از نظر تفکیک جمعیت تاس ماهی ایران در مناطق مختلف دریای خزر ارائه نمودند.

با توجه به مطالب فوق تاس ماهی ایرانی در دریای خزر دارای جمعیت ها و گروه های بیولوژیک بسیاری است که شناسایی تنوع جمعیتی درون گونه ای آن را بسیار پیچیده و مشکل نموده است . (Perevaryukha,2002)

۲-۱-۱ نشانگرهای ژنتیکی (Genetic Marker)

هر فنو تیپ یا صفت (قابل توارث) موجود زنده که با صفت معادل خود درموجود زنده دیگر تفاوت داشته باشد یک نشانگر محسوب می شود . نشانگرهای ژنتیکی جایگاههای خاص روی یک کروموزم دارند که به عنوان نشانه‌های اختصاصی برای تجزیه و تحلیلهای ژنومی به خدمت گرفته میشوند. در واقع تفاوت موجود بین ردیف DNA کروموزوم در افراد یک جامعه ویا نژاد که از افراد به نتاج آنها منتقل می گردد می‌تواند به عنوان نشانه یا نشانگر ژنتیکی به کار گرفته شود . برای آنکه صفتی بعنوان نشانگر ژنتیکی استفاده شود بایستی حداقل واجد دو ویژگی، متفاوت بودن دربین دو فرد (بروز چند شکلی)، و همچنین قابلیت توارث داشته باشد . نشانگرهای ژنتیکی به عنوان ابزاری برای تهیه نقشه ها ی پیوستگی مولکولی و ارزیابی جایگاههای ژنتیکی چند شکلی در صفات اقتصادی کاربردهای بالقوه ای را در برنامه های اصلاحی حیوان و گیاه پیدا کرده اند.

۳-۱-۱ - تخمین تنوع ژنتیکی بااستفاده از نشانگرهای ژنتیکی

تخمین ترکیب ژنتیکی افراد، مجموعه های ژنتیکی و قرابت بین آنها از گذشته های دور معمول بوده است و بیشتر براساس صفات مرفولوژیک واخیرا با استفاده از نشانگرهای پروتئینی مانند ایزوزایم ها صورت گرفته است . گرچه این نشانگرها و روشهای متناظر تخمین تنوع ژنتیکی در جای خود بسیارمفیدوسودمند است ، اما اخیرا استفاده از نشانگرهای ملکولی DNA ، تفاوتهای ژنتیکی را بیشتر مشهود ساخته که این تفاوتها تحت تاثیر محیط و اثراتی همچون پلیوترپی و اپیستازی و دوره رشد حیوانی نبوده و امکان آگاهی دقیق و کافی از تنوع ژنتیکی در سطح DNA را فراهم می سازد (قره یاضی، ۱۳۷۵).

۴-۱-۱ - نشانگرهای مولکولی

هر گونه تفاوت در ترتیب نوکلئوتیدی DNA که از والدین به نتاج قابل انتقال باشد به عنوان نشانگر مولکولی به کار گرفته می شود و به دو دسته نشانگرهای مبتنی بر پروتئین ومبتنی برDNA تقسیم می شوند .

۵-۱-۱ - نشانگرهای پروتئینی

برخی از تفاوتها در ترتیب نوکلئوتیدی DNA بین دو موجود ممکن است که به صورت پروتئین هایی با اندازه های مختلف بروز کند که از طریق بیوشیمیایی قابل آنالیز و مطالعه است . این نشانگرها را نشانگر پروتئینی می گویند که به دو نوع آنزیمی و غیر آنزیمی تقسیم می شوند مطالعات ابتدائی برای شناسایی جمعیتهای ماهی با استفاده از مارکرهای غیر آنزیمی مثل هموگلوبین و ترافسفرین بود که به سرعت به سمت پروتئینهای آنزیمی تمایل پیدا کرد (Smithies,1995) . آنزیم های موجود در هر فرد

ممکن است دارای بیش از یک فرم مولکولی باشند . فرم های مولکـولی متفـاوت یـک آنـزیم در یـک فرد ایزوزایم می نامند. ساختمان اولیه ایزوزایم ها ازاین جهـت متفاوتنـد کـه بـه وسـیله ژنهـای متفـاوت کدگذاری می شوند و در نتیجه چنین ساختمان مولکولی متفاوت یک آنزیم که دارای فعالیت آنزیمـی (کاتالیزوری) یکنواخت و مشخص هسـتند را اصـطلاحا ایـزوزایم گوینـد محصـولات ایـزوزایم دوالـل متفاوت در یک لوکوس به عنوان آلوازیم شناخته میشوند.به عبارت بهتر آلوزایمهـا بـه زیـر گروهـی از ایزوزایم ها اطلاق می شوند که از اللهای مختلف یک لوکوس معین ایجاد می شوند هنگامی که دوالـل از یک لوکوس بوجود می آیند ، شکلهای مختلف الکتروفورتیکی هنوز نقش هـای معینـی را ایفـاءمـی کنند . پروتئین های حاصل از این اللها تحت عنـوان آلـوازیم شـناخته مـی شـوند (Carvalho and Hauser, 1995)

از عیوب نشانگرها ی پروتئینی می توان به نیار بـه مقـدار زیـادی نمونـه تـازه یـا تـازه فریزشـده (کشـتن موجود زنده) پلی مورفیسم پائین و محـدودیت روشـهای رنـگ آمیـزی ، مشـکل بـودن آنـالیز داده هـا بخصوص در پلی پلو ئیدها اشاره کرد (Ferguson et al. , 1993: Ferguson et al. , 1995).

۶-۱-۱ – نشانگر DNA

تفاوتهای موجود در سطح DNA که هیچ گونه تظاهری ندارند ، نه صفت خاصی را کنترل می کنند و نه در ردیف اسیدهای آمینه رشته های پلی پلوئیدی تاثیر بر جا می گذارند در واقع نشانگرهای DNA چنـد شکلی موجودات را در سطح DNA تعیین می کنند. این نشـانگرها ژنوتیـپ موجـودات را توصـیف مـی کنند و در نتیجه توالیهای کد کننده و غیر کد کننده را در بر می گیرد . بررسی اینگونه تفاوتهاکـه فقـط از طریق تجزیه و تحلیل مستقیم DNA امکان پذیر است و به آنها نشانگرهای مولکـولی در سـطح DNA گویند (جوانروح علی آباد، ۱۳۸۱).

فراوانی بالا، هم بازر بودن اکثر این نشانگرها ، امکان به کار گیری آنها در تمام مراحل زندگی حتی دوران جنینی ، عدم تاثیر از شرایط محیطی، امکان استفاده از نرم افزارهای رایانه ای مختلف در آنالیز داده ها ، قدرت تمایز بالای این نشانگرها، نمایان ساختن تفاوت بین ترتیب های غیر کننده علاوه براختلاف موجود در ترتیبهای کد کننده از مزایای این نشانگرها میباشد. این نشانگرها به دو دسته مبتنی بر PCR وغیر مبتنی برPCR تقسیم می شوند . انواع مختلفی از این نشانگرها ، با تفاوت های بسیاری از لحاظ تکنیکی ، روش تولید ، نحوه کاربرد و امتیاز بندی و تجزیه و تحلیل و تفسیر نتایج به سرعت ابداع گردیدند و تحولی عظیم در اطلاعات تنوع ژنتیکی ایجاد کرده اند و به عنوان ابزارهای ضروری در مطالعات تکاملی ، نقشه برداری ژنی و ایجاد اهداف بیولوژیک، در آمده اند (دانشور آملی،۱۳۸۳). در ۳۰ سال گذشته توجه به نشانگرها ی DNA افزایش پیدا کرده ، در ابتدا DNA میتوکندریائی و سپس باپیشرفت تکنیکهای مولکولهای به سمت DNA هسته ای سوق پیدا کرد (Ferguson et al.,1995).

۱-۶-۱-۱ – ماهواره ها (Satellites)

DNA ماهواره‌ای زمانی مطرح گردید که معلوم شد در سانتریفیوژ کلرید سزیم، بخش کوچکی از DNA کل، باند ماهواره‌ای تشکیل می دهد که از باند ژنومی اصلی جدا قرار می گیرد که این بخش کوچک دارای توالیهای ساده ای هستند که کمتر از ۵۰۰ جفت باز دارند و هزاران یا میلیونها بار تکرار می شوند بعدها انواع دیگری از DNA ماهواره ای با واحدهای تکراری بسیار کوتاهتر در زمان توالی یابی ژن انسولین انسانی کشف گردیدکه تحت عنوان minisatellite ها شناخته می شوند و شامل واحدهای تکراری ۶۴-۱۵ جفت باز می باشند. سومین گروه ریز ماهواره یا میکرو ساتلیت ها میباشند که تحت عناوین Simple Tandem Repeat (STR) یا (Simple Sequence Repeat) (SSR) شناخته می شوند و توالیهای تکراری DNA هستند که دارای نگاره مرکزی یا موتیف تکرار شونده‌ای به طول یک تا شش

جفت باز می‌باشند دو گروه اخیربنام (VNTR(Variable Number Tandem Repeat نیز شناخته می شوند(O'Reilly and Wright,1995).

۲-۶-۱-۱ - نشانگرهای ریز ماهواره

ریزماهواره‌ها کوتاهترین ترتیبات متوالی (۱ تا ۶ جفت بازی) می‌باشند که تعداد واحد تکرارشونده در هر محل از تنها چند باز تا حدود ۳۰ باز متفاوت است. از کشف آنها بیش از ۲۰ سال می‌گذرد. تکرارهای AT معمولترین ریزماهواره‌ها در تمامی ژنوم‌ها می‌باشند. ریزماهواره‌ها بسیار فراوان بوده و در سرتاسر ژنوم منتشرمی‌باشند. گفته می‌شود که در گونه‌های ماهی ریزماهواره‌ها تقریبا هر ۱۰kbp، یکبار رخ می‌دهند و این در حالی است که ماهوارکها هر ۱۵۰۰kbp بوقوع می‌پیوندند. این امر باعث می‌شود که در مطالعات مربوط به نقشه یابی ژنومی، ریزماهواره‌ها بسیار کارآمدتر باشند. به نظر می‌رسد که هر ژنی حداقل یک ریزماهواره داشته باشد که در یک اینترون۱ یا در نواحی ۳َ یا ۵َ کنار ردیف کُدکننده قرار گرفته‌اند. توزیع ریزماهواره‌ها در سرتاسر ژنومهای یوکاریوتی کم و بیش یکنواخت است و لیکن در نواحی کُدکننده و احتمالاً در تلومرها کمتر یافت می‌شوند. اسامی مختلفی برای شرح ردیفهای تکراری متوالی بکار برده شده‌اند که از آن جمله می‌توان به تکرارهای ردیفی ساده (SSR) و تکرارهای متوالی کوتاه (STR) اشاره نمود. برای پرهیز از سردرگمی، امروزه اصطلاح ریزماهواره بعنوان بهترین تعریف برای این نوع ردیف‌ها پذیرفته شده است (Tautz, 1989).

واژه ریزماهواره در سال ۱۹۸۵توسط Jeffery مطرح گردید و مفهوم آن توالیهای کوتاه تکرار شونده در ژنوم موجودات می‌باشد. در دو دهه گذشته نشانگرهای ریزماهواره بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند. علت اصلی کاربرد این نشانگر، قدرت آن در حل مشکلات بیولوژیکی و تجزیه و تحلیل‌های جمعیتی

[1]Intron

و همچنین مطالعات اکولوژیکی می‌باشد. تنوع زیاد، قابلیت رتبه‌دهی آسان، همبارز بودن و پراکندگی یکنواخت در سراسر ژنوم از دلائل عمده کاربرد وسیع این نشانگر محسوب می‌شود (صفری، ۱۳۸۵).

فراوانی ریز ماهواره‌ها متفاوت و بستگی به اندازه ژنوم دارد. برای مثال برآورد شده که فراوانی ریزماهواره در ژنوم انسان به طور متوسط ۱۰ برابر ژنوم گیاهان است و توزیع ریزماهواره‌ها نه تنها در گونه‌های مختلف متفاوت است بلکه در درون یک ژنوم و در بین کروموزومهای مختلف نیز متفاوت است. از لحاظ توزیع و سازماندهی ریزماهواره‌ها در ژنوم‌ها با نقشه‌های ژنتیکی و فیزیکی مشخص شدکه ریزماهواره‌ها در یک ناحیه جمع نشده و به طور یکنواخت در نواحی مختلف کروموزوم توزیع شده‌اند. اما با روش هیبریداسیون فلورسنت و هیبریداسیون در ژل، مشخص شد که این توالی‌ها در برخی از قسمت‌های کروموزوم تجمع دارند. به طور کلی توالیهای مونو نوکلئوتیدی (poly A/T) فراوانی بیشتری نسبت به (poly C/G) دارند. آنها در نواحی اینترون و درون ژنی فراوانی بیشتری دارند. در ژنوم انسان نیز poly A/T فراوانی بیشتری دارد، اما این نوع ریزماهواره به دلیل بی‌ثباتیش در واکنش PCR نشانگر مناسبی نیست (Rico et al., 1996) .

Beckman and Weber در سال ۱۹۹۲ اعلام کردند که بالاترین نوع تکرار در دی‌نوکلئوتیدی به صورت CA/CT در ژنوم انسان و پستانداران می‌باشد اما در ژنوم گیاهان تکرارهای GA و AT بیشتر از تکرارهای CA می‌باشد. تکرارهای تری نوکلئوتیدی در همه نواحی ژنوم با فراوانی قابل توجهی مشخص شده‌اند و معمولی‌ترین آنها تکرارهای ATT و CAG می‌باشند این توالیها بیشتر در اگزون حضور دارند و در نواحی دیگر کمتر دیده می‌شوند. تکرارهای ترانوکلئوتیدی در اگزون‌ها وجود ندارند و تکرارهای پنتانوکلئوتیدی در همه پستانداران به اندازه فراوانی تکراری تری‌نوکلئوتید در اینترون‌ها و نواحی درون ژنی وجود دارند و این توالی تکراری در اگزون‌ها تنوع وسیعی را نشان می‌دهد (بنابازی, ۱۳۸۱).

میکروستلایت‌ها در ژنوم انسان هر ۳۰ کیلو باز, ژنوم سالمون هر ۱۲ کیلو باز, ژنوم کاد هر ۷ کیلو باز, ژنوم قزل آلای قهوه‌ای هر ۲۳ کیلو باز و ژنوم زنبور هر ۴۷ کیلو باز وجود دارند و طول توالی میکروساتلیت‌ها در ژنوم موجودات خونسرد بیشتر از ژنوم سایر موجودات است (Rico et al, 1996).

۱-۲ -۶-۱-۱ - اشکال مختلف ریزماهواره‌ها

گفتیم که ریزماهواره‌ها ردیف‌هایی هستند که پشت سر هم تکرار می‌شوند و اندازه واحد تکرارشونده بین ۱ تا ۶ جفت باز می‌باشد. ریزماهواره‌ها بر اساس ترتیب توالی و شکل و ساختارشان به چهارگروه تقسیم‌بندی می‌شوند:

۱ـ ریزماهواره‌های کامل[۲]: در این گروه یک واحد کامل ریزماهواره پشت سر هم و بدون هیچ تداخلی دیده می‌شود (مانند GTGTGTGTGTGT).

۲ـ ریز ماهواره‌های ناقص[۳]: در این گروه در درون واحدهای ریزماهواره‌ای یک یا دو نوکلئوتید غیر ریزماهواره‌ای مشاهده می‌شود که در ساختمان آن ایجاد تداخل می‌کند (مانند GTGTGTCGTGTGT).

۳ـ ریز ماهواره‌های گسیخته[۴]: در این گروه تعداد کمی جفت باز که بیش از دو نوکلئوتید هستند و با ساختمان تکراری توالی جور نیستند باعث گسیختگی ریزماهواره‌ای می‌شوند (مانند GTGTGTCCCGTGTGT).

۴ـ ریز ماهواره‌های مرکب یا ترکیبی[۵]: در این گروه نیز دو ساختار یا بیش از آن پشت سر هم و یا یکی در درون دیگری قرار گرفته است (مانند GTGTGT GCGCGCGC) (Hansen, 2004).

۲-۲ -۶-۱-۱ - چندشکلی[۶] در ریزماهواره‌ها

---

[2]Perfect microsatellite
[3]Imperfect microsatellite
[4]Interrupted microsatellite
[5]Compound microsatellite

تنوع تعداد واحدهای تکرار شونده درریز ماهواره، چند شکلی بسیار بالای آنها را سبب می‌گردد. که این تنوع خود ناشی از نرخ بالای جهش در این نشانگرهاست که یکی از خصوصیات مهم ریزماهواره‌ها می‌باشد. میزان جهش در این جایگاهها $۱۰^{-۹}$ تا $۱۰^{-۱۰}$ جهش در هر نسل است و با بلند شدن رشته ریزماهواره‌ای میزان جهش به مراتب افزایش می‌یابد. وجود چنین ناپایداری‌های قابل توارث در جایگاههای ریزماهواره آنها را تبدیل به ابزاری سودمند برای مطالعات ژنتیکی و تکاملی کرده است بررسی‌های شجره‌ای در انسان نرخی حدود $۱۰^{-۳}$ جهش در هر لوکوس در هر نسل را نشان داده است ولی این نرخ در مگس سرکه نسبتاً پایین و حدود ۶×۱۰^{-۶} می‌باشد. عواملی همچون تعداد و نوع تکرار ردیف کناری و نوترکیبی بر میزان جهش ریز ماهواره‌ای مؤثر می‌باشد با توجه به میزان جهش بالا دو نوع مکانیسم برای این جهش‌ها پیشنهاد شده است:

- لغزش[۷] رشته مکمل در طی فرآیند تکثیر: بر اساس این نظریه در خلال نسخه برداری نسخه جدید DNA سنتز شده می‌تواند به شکل غیرعادی قرار گیرد ولی به دلیل ساختار تکرار شده DNA میکروستلایت‌ها اکثر بازهای دو رشته‌ای جدید هنوز به صورت جفت شده باقی می‌مانند و تنها یک ساختار حلقه‌ای کوچک به صورت جفت نشده باقی مانده و درصورتی که سنتز DNA ادامه پیدا کند. تعداد تکرارها در رشته جدید تغییر خواهد کرد و از اینرو لغزش نسخه برداری منجر به ایجاد یک سری از آلل‌ها با اندازه متفاوت (تعداد تکرارهای متفاوت) در افراد جمعیت می‌شود (عرفانی مقدم، ۱۳۸۲).

- کراسینگ اور نابرابر[۸] :کراسینگ اور بین کروموزومهای همولوگ در مرحله میوز انجام می‌شود که به طور ناقص با هم جفت می‌شوند، کراسینگ اور نامتعادل موجب حذف شدگی در یک مولکول و

---

[6]Polymorphism
[7]Slippage
[8]Unequalcrossing- over

اضافه شدن در مولکولی دیگر و متعاقب آن باعث انبساط و انقباض آرایه‌ها می‌گردد (Goldsteine et al., 1998).

افزایش تعداد واحدهای ریزماهواره، کاهش طول تکرار (دی نوکلئوتیدی نسبت به ترانوکلئوتیدی) و کاهش تعداد CG نواحی مجاور واحدها، باعث افزایش میزان جهش می‌گردند. همچنین بررسی‌ها نشان داده میزان جهش در نرها نسبت به ماده‌ها بیشتر است (نوروزی، ۱۳۸۶).

۳-۲-۶-۱-۱ - تکامل ریزماهواره‌ها

به منظور برآورد میزان تنوع در جمعیت و فاصله ژنتیکی از داده‌های ریزماهواره و همچنین برای توصیف تنوع ژنتیکی در جایگاههای ریزماهواره‌ای از دو مدل اساسی جهش آللی نامحدود (IAM)[9] و جهش مرحله‌ای (SMM)[10] استفاده می‌شود. Crow در سال ۱۹۶۴ جهت درک تحقیقات در سطح مولکولی جمعیت‌ها مدل IAM را پیشنهاد می‌کنند که پیش بینی می‌کنند که جهش تنها به حالت آللی جدید می‌انجامد و همیشه آلل‌هایی در جمعیت به وجود می‌آید که قبلا وجود نداشته و این حالات می‌توانند به هر تعداد واحد تکرار شوند (مانندGT) رخ دهد. بر عکس در مدل SMM که توسط Kimura و Ota درسال ۱۹۷۳ به عنوان یک تئوری در مبحث ژنتیک جمعیت معرفی گردید، پیش بینی می‌کند که جهش به صورت اضافه شدن یا حذف یک واحد تکرار شونده (مانندGT) رخ می‌دهد. این بدان معنی است برخی از جهش‌ها آلل‌هایی را تولید خواهند کرد که از قبل وجود داشته‌اند. اهمیت استفاده از مدلی که بهتر با داده‌های ریزماهواره‌ای هم خوانی داشته باشد در این است که این کار موجب خواهد شد که برآوردهای دقیق‌تری از اندازه جمعیت و وقایع ساختاری آن به دست آوریم. البته مدل‌های دیگری مانند مدل دو مرحله‌ای و مدل K آللی نیز وجود دارد و هرآلل یک احتمال ثابت تغییرپذیری به طرف هریک ۱-K حالت آلل دیگر است (Rico et al., 1996).

[9] Infinite Allele Model (IAM)
[10] Step Mutation Model (SMM)

مطالعات اولیه بر روی مدلهای جهش حاکی از آن است که SMM میزان تنوع مشاهده شده در جایگاههای ریز ماهواره‌ای را دقیقتر پیش بینی می‌نماید. بررسی انواع ترتیب‌های ریزماهواره‌ای نشان می‌دهد که تغییر پذیری جایگاههای سه یا چهار نوکلئوتیدی در مقایسه با جایگاههای دونوکلئوتیدی و ماهوارک‌ها شباهت بیشتری با SMM دارند (Hansen, 2004).

۴-۲ -۶-۱-۱- مزایای ریزماهواره‌ها

این نشانگرها دارای مزایای متعددی بشرح ذیل می باشد:

۱ـ دارای توارث همبارز می باشند و از توارث ساده مندلی تبعیت می کنند . یعنی می توان افراد هتروزیگوت را از هموزیگوت به راحتی تفکیک نمود.

۲ـ در ژنوم موجودات به فراوانی یافت می شوند و پراکندگی آنها نیز در سطح ژنوم موجودات عالی یکنواخت می باشد .

۳ـ چند شکل بالائی دارند ، علاوه بر این توانائی آنها در تشخیص میان افراد ، در صورت استفاده از ترکیبی از جایگاهها ، این تکنیک را در مطالعه جریان ژنی و تعیین هویت بسیار توانمند ساخته است .

۴- مقدار بسیار کمی DNA نیاز دارند و به وسیله PCR قابل تکثیر هستند.

۵- امتیاز دهی آنها آسان و دقیق است.

۶ـ قابلیت استفاده آغازگرهای (primer) یک گونه در گونه‌های بسیار نزدیک دیگر وجود دارد.

(O'Reilly and Wright., 1995).

۵-۲ -۶-۱-۱- معایب ومشکلات ریزماهواره ها

از محدودیتها و مشکلات کار با ریزماهواره ها می توان به موارد زیر اشاره کرد :

۱-۵-۲ -۶-۱-۱- تعیین توالی: یکی از مشکلات ریز ماهواره ها که در واقع مشکل عملی وابتدائی آنهاست ، تعیین توالی برای ساخت وطراحی آغازگر مورد نیاز است ودر ابتدا باید این عمل انجام شود که انجام آن مستلزم صرف وقت وهزینه زیادی است.

۲-۵-۲ -۶-۱-۱- اشتباهات آلل خوانی :

این اشتباهات در اثر لغزش DNA پلیمراز رخ می دهد ، که منجر به تولید باندهای پهن و متعددی می گردد که همچون سایه در اطراف باند اصلی قرار گرفته و این باندها را باندهای نارسا می نامند و گفته می شود که در اثر حوادث Sllipage درطول PCR بوجود میاید. این باندها معمولاً وضوح کمتر از باندهای اصلی دارند ومی توان از آنها صرفنظر کرد، اما اگر با فرآورده‌های مربوط به یک فرد هتروزیگوت هم پوشانی داشته باشد . آنگاه تشخیص این دو باند مشکل می شود O'Reilly and (Wright.,1995). می توان چند روش را برای رفع این مشکل به کار برد ، برای مثال انتخاب جایگاههایی با واحدهای تکرار چهار نوکلئوتیدی مناسب است زیرا با توجه به فاصله بیشتر بین آنهادر این جایگاه‌ها تعیین آلل ساده‌تر و نارسائی کمتر است ، یا می توان از جایگاههای دو نوکلئوتیدی به همراه کاهش اندازه فرآورده‌هاحدود ۱۲۰جفت باز استفاده کرد ، زیرا اندازه کوچک آلل ها به لحاظ فیزیکی سبب میگردد تا صحت تعیین آلل ها افزایش یافته و نارسایی کمتر شود ، هر چند که میزان تغییر پذیری قابل تشخیص نیز کاهش می یابد و در روش دیگر می توان برای افزایش دقت از چندین نشانگر اندازه برای ژل ها استفاده کرد ، ضمناً می توان از برنامه هایی مانند ژنوتایپر که جهت تشخیص باندهای نارسا طراحی شده‌اند استفاده کرد.

۳-۵-۲ -۶-۱-۱- ایجاد آللهای صفر:

آللهای صفر اللهایی هستند که ضعیف تکثیرشوند ویا پس از تکثیر وتفکیک قابل رویت نباشند .وجود جهش درتوالیهای مجاورریز ماهواره ها (Flanking) از اتصال اغازگر جلوگیری کرده ودر نتیجه هیچ

فراورده ای در PCR تولید نمی شود .البته کیفیت پایین DNA استخراجی وجهش در درون ترتیب مورد تکثیر نیز میتوانند باعث ایجاد اللهای صفر شوند. وجود اللهای خنثی موجب برآورد نادرست هتروزیگوسیتی در داخل یک جمعیت میگردد (Hansen,2004).

۴-۵-۲ -۶-۱-۱- همو پلاسی اندازه :

چند شکلی و تغییرات مشاهده شده در ریزماهواره‌ها ، ناشی از تغییرات طول قطعات تکثیر شده است . دو آلل در صورتی از همه لحاظ یکسان هستند که بدون جهش از آلل اجدادی یکسان ایجاد شده باشند . دو آلل ممکن است اندازه یکسان و یا حتی توالی یکسان داشته ولی از یک جد مشترک نباشند که هموپلاسی اندازه نامیده می شوند.آنها ممکن است از یک آلل ولی با یک تاریخ متفاوت ایجاد شده باشند. بی توجهی به هموپلاسی اندازه منجر به برآورد رو به پایین زمان انشعاب واقعی بین جمعیتها خواهد شد. این پدیده ممکن است از طریق مقایسه توالی دو آلل هم اندازه مشخص می شود(Hansen,2004).

۶-۲ -۶-۱-۱- حفاظت شدگی مایکروستلایتها

۱-۶-۲-۶-۱-۱-تولد و مرگ مایکرو ستلایتها

در اولین مطالعات توسط (Mesier et al., 1996) حفاظت شدگی یک لوکوس مایکروستلایتی تترا نوکلئوتیدی درون یک ژن بین همه انواع گونه های میمون و گونه انسان نشان داده شده و از روی تغییرات توالیهای میان آنها (در اثر جهش) مدلی برای پیدایش یا تولد و تکامل مایکروستلایتها ارائه گردید . در همین راستا (Taylor et al., 1999) از بررسی توالیها لوکوس مایکروستلایت در گونه های مختلف نتیجه گرفتند که در مرحله ای خاص از انتهای چرخه تکاملی مایکروساتلایتها ، انقطاع در

توالیهای تکراری در یک مرحله و حذف شدن بخشهای بزرگتر تکرار در مرحله بعد اتفاق می افتد و ایشان این مرحله را مرگ مایکروستلایتها نام نهادند (عرفانی مقدم،۱۳۸۲).

۲-۶-۲-۶-۱-۱-میکرو ستلایتهای بسیار حفاظت شده

Rico و همکاران (۱۹۹۶) حفاظت شدگی لوکوسهای میکرو ساتلایتی را به مدت ۴۷۰ میلیون سال میان گونه های ماهی نشان داده اند . مشابه آن (Fitzsimmons et al., 1995) چنین حالت پایدار را به مدت ۳۰۰ میلیون سال میان گونه های لاک پشت دریایی ثابت کردند. (Ezenwa et al., 1995) حفاظت شدگی ۲۷ لوکوس تری نوکلوتیدی از دو گونه زنبور میان ۲۷ گونه دیگر از خانواده زنبورها که حداکثر ۱۴۴ میلیون سال پیش از آنها انشقاق یافته را بررسی کردند و ثابت نمودند که میان فاصله سیستماتیک و دو فاکتور حفاظت شدگی محل پرایمر ها و هتروزیگوسیتی (پلی مورفیسم) ایجاد شدهو نسبت آشکاری وجود دارد . حفاظت شدگی یک لوکوس مایکروساتلایتی را در کوسه هائی که تخمین زده میشد یک میلیارد سال قبل انشقاق یافته باشند توسط (Martin et al., 2002) بررسی و عمری معادل ۲۵۰ میلیون سال برای آنها پیشنهاد کردند.

در میان پستانداران نیز تحقیقاتی انجام شده است به طور مثال آشکار شده است که ۴۳ لوکوس مایکروساتلایتی از میان ۷۰ لوکوس جدا شده از گاو در بز حفاظت شده اند و می‌توانند تکثیر یابند (عرفانی مقدم ، ۱۳۸۲).

۷-۲ -۶-۱-۱- کاربرد ریز ماهواره ها

هم اکنون در انسان هزاران نشانگر ریز ماهواره وجود دارد که توزیع متراکمی در هر بخش از کروموزم دارند و هر روز بر تعداد این نشانگرها افزوده می شود و به کمک آنها نقشه های مربوط به تک تک ژنها به سرعت مکان یابی می شود . این نشانگرها برای تعیین و حل بسیاری از ناهنجاریهای ژنتیکی در

انسان باارزش بوده وشناسائی بسیاری از بیماریهای زیانبار را در انسان تسریع می کند . برای مثال در برخی از سرطانها افزایش یا کاهش طول ریزماهواره های سلول به میزان زیادی اتفاق می افتد که این تغییرات به راحتی قابل تشخیص است . چنین نقشه هایی در سایر موجودات نیز در حال تهیه هستند و اساس نقشه های جایگاههای کنترل کننده صفات کمی را تشکیل می دهند . از موارد دیگر کاربرد ریز ماهواره ها ، استفاه در انگشت نگاری DNA و در مطالعات مربوط به تعیین هویت ، مسائل حقوقی ، قضایی ، جنایی و دیرین شناسی و همچنین کاربرد آنها در تشخیص ژنوتیپها و تمایز بین افراد می باشد . مطالعات مربوط به بررسی روابط خویشاوندی ، آزمون انساب و تعیین اصالت در انسان و حیواناتی مثل اسب که اصیل بودنشان و از اهمیت زیادی برخوردار است ، بسیار مورد توجه می باشد . چنین مطالعاتی برای مدیریت جمعیتهای اهلی و درک الگوهای آمیزشی در حیات وحش مفید می باشد . به عنوان مثال در صنعت گاو گوشتی با افزایش نگرانی مصرف کنندگان از مصرف گوشتهای آلوده به جنون گاوی کارشناسان مایلند تا منشاء گوشتهای آلوده موجود در بازار را داشته و لکه مربوطه را شناسایی کنند تا دقیقا نمونه گوشت مشکوک را به جمعیت خاصی منتسب نمایند . بررسی رفتارهای تولید مثلی، شناسایی ساختار جمعیت های گیاهی و جانوری از دیگر کاربردهای ریز ماهواره ها می باشد وراثت دو والدینی و همبارزی ریز ماهواره ها این نشانگر ها را برای بررسی روابط بین افراد و تجزیه و تحلیل شجره و شناسایی والدین مناسب کرده است.

خصوصیات مایکروستلایتها همچنین باعث استفاده از این نشانگرها در آبزی پروری و مدیریت شیلاتی در مطالعات ساختار جمعیتی، تشخیص نژادهای پرورشی از طبیعی، ارزیابی رابطه ژنتیکی والدین با فرزندان، تشخیص ژینوژنر ، پلی‌پلوئیدی، تشخیص دورگه ها و ارزیابی تکاملی گردیده است (Adams and Hutching, 2003).

۲- مواد و روشها :

در این تحقیق از روش کار Hamilton et al.(1999) که بر اساس روش کار Armor et al.(1994) و Kandpal et al.(1994) تهیه شده با پاره ای تغییرات و اصلاحات استفاده شد .

از ۳ نمونه بافت باله دمی تاس ماهی ایران که از صید تجارتی ماهیان خاویاری از آبهای ایران در دریای خزر جمع آوری شده بود ، DNA با استفاده از کیت Dneasy (ساخت شرکت Qiagen)استخراج شد. پس از تعیین کمیت و کیفیت DNA بوسیله فلومتر و روی ژل آگارز ، یک نمونه DNA که کمیت و کیفیت بهتری داشت (نمونه با غلظت ۵۱۵ ng/ml) برای ادامه کار انتخاب شد.

۲-۱- هضم آنزیمی (Restriction Enzyme Digest)

از آنزیم RsaI برای هضم استفاده شد. محلولهای NEB Buffer و BSA (Bovine serum albumin)که باعث افزایش سرعت واکنش می شود نیز در این هضم آنزیمی استفاده شد. محلول هضم به شرح جدول ۱ تهیه شد. واکنش هضم در دمای $38\,c^{o}$ در آنکوباتور در طول شب انجام شد.

نتیجه هضم با الکتروفورز DNA روی ژل آگارز ۱/۴٪ با ۱۰۰ ولت بمدت ۳۰ دقیقه و رنگ آمیزی اتیدیوم بروماید کنترل شد.

جدول ۱: ترکیبات و میزان مواد متشکله محلول هضم آنزیمی DNA تاس ماهی ایران

DNA	10µl
NEB Buffer	5µl
BSA	0.5µl
Rsa I	2µl

Water	32.5µl

۲-۲- هضم و حذف فسفر (Dephosphorylation)

قطعات DNA پس از هضم در دو انتها دارای فسفر می باشند . بمنظور جلوگیری از اتصال خود به خودی آنها به یکدیگر حذف فسفرها ضرورت دارد . برای این منظور از آلکالین فسفات میگو SAP (Shrimp alkaline phosphate) استفاده شد . مواد به شرح جدول ۲ با هم مخلوط شد و در انکوباتور ۳۷°c به مدت ۲۰ دقیقه قرار گرفت .

جدول ۲: ترکیبات و میزان مواد متشکله محلول هضم و حذف فسفر رشته DNA تاس ماهی ایران

Digested DNA	45µl
SAP	2µl
Restriction enzyme buffer	0.5µl
Water	2.5µl
	50 µl

سپس برای از بین رفتن آنزیم اضافی و جلوگیری از فعالیت آن ، محلول فوق را به مدت ۲۰ دقیقه در انکوباتور با حرارت °c ۶۵ قرار داده شد.

۲-۳- بستن لینکرها (Linkers ligation) :

لینکرها محل مناسب برای اتصال پرایمرها را در PCR و همچنین اتصال به Vector را در مراحل بعدی ایجاد می کنند. در این تحقیق از لینکر SNX دو رشته ای استفاده شد. برای تهیه لینکر مواد به شرح جدول ۳ با هم مخلوط شد و در دستگاه ترمال سایکلر بمدت یک دقیقه در °c ۹۰ حرارت قرار داده شد. سپس دمای مخلوط به آرامی در مدت ۱۲ دقیقه تا درجه حرارت اطاق (°c ۲۰) پایین آورده شد .

جدول ۳: ترکیبات و میزان مواد متشکله تهیه لینکر SNX

SNX Forward primer (10µM)	100µl
SNX reverse primer (10µM)	100µl
NaCl (5M)	5µl

محلول لینکرهای دو رشته ای تولید شده با مواد به شرح و میزان جدول ۴ مخلوط شد. سپس 20µL محلول فوق به DNA دی فسفره شده مرحله قبل اضافه شد . لینکرها به DNA در درجه حرارت اطاق در طول شب متصل شدند.

جدول ۴: ترکیبات و میزان مواد متشکله محلول بستن لینکرها به رشته DNA تاس ماهی ایران

DNA	20µl
Double strand SNX linkers	15µl
DNA Ligase buffer (10x)	2µl
(Enzyme)	2µl
(5mM)	1µl

XmnI

r ATP

۴-۲- ترمیم قطعات DNA (Nick repair)

برای ترمیم شکاف باقی مانده بین انتهای '3 لینکر و '5 قطعه دی فسفرلیت شده DNA از Taq DNA polymerase استفاده شد. این عمل بوسیله واکنش PCR بدون پرایمر انجام شد. در این واکنش Taq DNA polymerase نقش ترمیم کننده رشته DNA را دارد و برای تکثیر و افزایش طول رشته DNA به کار نمی رود .

مواد به شرح و میزان جدول ۵ را با هم به یک تیوپ که بنام fix نامگذاری شده اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه در حرارت c°۷۲ در دستگاه ترمال سایکلر قرار داده شد و سپس برای چند ثانیه سانتریفیوژ شد.

جدول ۵: ترکیبات و میزان مواد متشکله محلول ترمیم رشته DNA تاس ماهی ایران

Linker ligated DNA fragment	5 µl
ABgene 2x PCR master mix (2.0 mM $MgCl_2$)	12.5 µl
BSA (Bovin Serum Albumin 250µg/ml)	2.5 µl
Water	5 µl

برای کنترل موفقیت ترمیم رشته DNA و صحت عملیات از واکنش PCR استفاده شد. در این آزمایش از DNA لینکردار فیکس شده، DNA لینکردار غیر فیکس شده ، DNA اولیه نمونه تاس ماهی ایران و آب خالص برای واکنش استفاده شد. (نمونه آب برای کنترل اینکه در طول اجرا کار آلودگی داشته ایم اضافه می کنیم). مواد برای هر واکنش به شرح جدول ۶ آماده شد و به ۴ µl از DNA فوق الذکر در هر میکروتیوپ اضافه شد .

برنامه حرارتی PCR شامل ۴۰سیکل : $94^{\circ}c$ به مدت ۴۵ ثانیه، $60^{\circ}c$ به مدت ۴۵ ثانیه ، $72^{\circ}c$ به مدت ۴۵ ثانیه، نگهداری در $4^{\circ}c$. محصول PCR روی ژل آگارز ۱/۴٪ با نشانگر 100 bp ران شد

۵-۲- غنی سازی (Enrichment)

برای غنی سازی از روش Kandpal et al., (1994) استفاده شد. در این روش از پروب های بیوتین دار و دانه های استرپتویدین (Biotin - labeled oligos and streptavidin beads) استفاده می شود.

جدول ۶: ترکیبات و میزان مواد متشکله محلول PCR کنترل ترمیم رشته DNA تاس ماهی ایران

Water	36.0 µl
2X Abagene	50.0 µl
SNX Forward Primer	5.0 µl
SNX Reverse Primer	5.0 µl

در انتهای فرآیند قطعات DNA ای که حاوی میکروساتلیت هستند و به اولیگونوکلوتید ها وصل شده اند بوسیله آهن ربا جدا می شوند.

در این تحقیق کتابخانه DNA تاس ماهی ایران برای دو موتیف میکروساتلیت دی نوکلئوتید شامل (GA, GT) و دو موتیف ترانوکلئوتید (GATA, GACA) غنی سازی شد .

۱۰۰ میکرولیتر از محلول DNA لینکردار فیکس شده و غیر فیکس شده با استفاده از کیت QIAquick PCR purification kit طبق دستورالعمل کیت شستشو شد . با این شستشو آنزیم ها، محلولهای مختلف و مواد اضافی حذف شد.

۱-۵-۲- تهیه اولیگونوکلوتید های بیوتین دار(Prepare Biotinylated Oligos prob)

دو پروب دی نوکلوتیدی و ترا نوکلوتیدی بشرح جدول ۷ در دو تیوپ آماده شد :

۲-۵-۲- هیبریداسیون DNA با پروب های بیوتین دار

برای هیبریداسیون DNA با پروب های بیوتین دار مواد به شرح و میزان جدول ۸ را به یک تیوپ مخلوط شد. برای اتصال پروبها به DNA ، محلول تیوب ها را در ماشین ترمال سایکلر به مدت یک دقیقه در $95^{\circ}c$ و سپس در $20^{\circ}c$ به مدت ۱۲ دقیقه حرارت داده شد.

جدول ۷: ترکیبات و میزان مواد متشکله محلول پروب بیوتین دار

Dinuclotid oligos		Tetranuclotid oligos	
biotin-GA_{15} (100 mM	20 µl	biotin-$GATA_5$ (100mM)	20 µl
biotin-GT_{15} (100 mM)	20 µl	biotin-$GACA_5$ (100mM)	20 µl
H2o	60 µl	H2O	60 µl

جدول ۸: ترکیبات و میزان مواد متشکله محلول هیبریداسیون DNA ت با پروب بیوتین دار

6x SSC , 0.1% SDS	70 µl
DNA (Fixed or Unfixed)	25 µl

Biotinylated microsateilite prob mix 5 µl

۳-۵-۲- آماده سازی Dbeads

در این مرحله از محصولی بنام Magnesphere magnetic separation products ساخت شرکت promega که درآن از خاصیت آهن ربایی جهت جداسازی مواد استفاده بعمل آمده، استفاده شد.

در فاصله زمانی که هیبریداسیون DNA و پروپ ها انجام می شود Dbeads در سه مرحله با محلول TBST شستشو و آماده شد. سپس در دو تیوپ Dbeads آماده شده را با DNA هیبرید شده با پروپ های دی نوکلوتید و تترا نوکلوتید ترکیب شد

مقدار ۳۰۰ میکرولیتر از محلول TBT و ۵۰ میکرولیتر از Dbeads را به هر یک از تیوپ ها که حاوی ۱۰۰ میکرولیتر DNA غیرفیکس بودند اضافه شد و به مدت ۱۰ دقیقه در درجه حرارت اطاق نگهداری شد تا خوب مخلوط شوند. سپس تیوپ را روی آهن ربا گذاشته شد تا دانه های Dbeads که به قطعات DNA غنی شده متصل شده از محلول جدا شوند و محلول آنرا خارج می کنیم. در ادامه رسوب سه مرتبه با TBT شستشو شد. بدین ترتیب که پس از افزودن محلولTBT تیوپ روی آهن ربا قرار داده شد و محلول داخل تیوپ با پیپت خارج شد. در ادامه شستشو سه مرتبه دیگر با ۴۰۰ میکرولیتر محلول TBST تکرار شد و بوسیله آهن ربا جداسازی شد.

همچنین شستشو را با ۴۰۰ میکرولیتر از محلول 0.2X SSC, 0.1% SDS ۳ مرتبه انجام شد . در تمام مراحل شستشو محلول جداسازی شده را جهت کنترل مراحل شستشو نگهداری می کنیم .

در آخرین مرحله ۱۰۰ میکرولیتر از محلول TLE به تیوپ ها اضافه می کنیم و به آرامی تکان می دهیم و تیوپ را در ماشین ترمال سایکلر با حرارت$^{\circ}$c ۹۵ به مدت ۵ دقیقه حرارت می دهیم . سپس به روی یخ انتقال می دهیم. مجدداً روی آهن ربا می گذاریم محلول آن ها را جدا و نگهداری می کنیم و

رسوب را بیرون می ریزیم .این محلول ها DNA غنی شده و محصول نهایی (Gold) است که برای کلون کردن مورد استفاده خواهد بود.

قبل از اجرا کلونینگ برای کنترل صحت مراحل شستشو و عدم شستشو DNA مورد نظر، محلولهای نگهداری شده از مراحل مختلف شستشو PCR شد ، برای مقایسه PCR با آب مقطر و DNA های غنی شده نیز انجام شد. نوع ومقدار مواد استفاده شده در واکنش زنجیره ای پلیمراز به شرح جدول ۸ بود.

برنامه حرارتی PCR شامل :۴۰ سیکل :c ° ۹۴ به مدت ۴۵ ثانیه، c°۶۰ به مدت ۴۵ ثانیه، c°۷۲ به مدت ۴۵ ثانیه نگهداری در c ° ۴ بود. محصول PCR روی ژل آگارز ۱/۴ ٪ با نشانگر bp ۱۰۰ ران شد و همچنین توسط فلومتر اندازه گیری شد. میزان غلظت DNA در محلول غنی شده دی نکلوتید و ترانوکلوتید به ترتیب ng/ml ۲۱ و ۱۷ بود.

جدول ۸: ترکیبات و میزان مواد متشکله واکنش PCR با DNA غنی شده تاس ماهی ایران

DNA (Gold Di or Tetra)	2µl
2X Abgene	25 µl
SNX forward	2.5 µl
SNX reverse	2.5µl
Water	18µ l

محصولات PCR که مناسب بود، بوسیله کیت Qia quick PCR purification طبق دستور العمل کیت شستشو شد.

۶-۲- کلونینگ

کلونینگ شامل دو مرحله انتقال DNA به پلاسمید و انتقال پلاسمید به باکتری بود.

۱-۶-۲- انتقال به پلاسمید (T Vector ligation)

از کیت PGEM-T شرکت Promega که vector آن pUC19 است استفاده شد. از نسبت ۱: ۳ وکتور به DNA استفاده شد . از محصول PCR تهیه شده از DNA غنی شده دی و ترانوکلوتید تاس ماهی ایران برای انتقال به پلاسمید به شرح جدول ۹ استفاده شد. سپس طبق دستور العمل کیت در طول شب در یخچال ۴°c گذاشته شد تا انتقال صورت پذیرد .

جدول ۹ : ترکیبات و میزان مواد متشکله واکنش انتقال به پلاسمید

2x ligation buffer	5µl
T- vector (50 ng/ml)	1µl
DNA	3µl
T4 ligase	1µl
	10µl

۲-۶-۲- انتقال به باکتری: Bacterial transformation

در این مرحله E.coli شرکت Invitrogen به نام Dh5ά بکار برده و از شوک حرارتی برای انتقال استفاده شد. به هر تیوپ که دارای 10µl DNA در vector بود، مقدار ۹۰ µl محلول TLE 1x (0.1mM EDTA , ph=8.0) اضافه شد. سپس ۵ میکرولیتر از محلول بالا را به یک تیوپ ۱/۵ میلی لیتری روی یخ انتقال داده شد و به آن ۱۰۰ میکرولیتر از سلول باکتری (Dh5ά Competent Cell) اضافه گردید و به مدت ۳۰ دقیقه روی یخ نگهداری شد. سپس با استفاده از شوک حرارتی ، وکتور وارد سلول باکتری شد. شوک حرارتی بمدت ۴۵ ثانیه در حرارت °c ۴۲ بود که در یک انکوباتور با جریان آب گرم انجام شد. تیوپ ها در انکوباتور برای ۴۵ ثانیه نگه داشته و بلافاصله به روی یخ انتقال داده شد .پس از دو دقیقه ۹۰۰ µl از محلول غذایی soc به هر تیوپ اضافه شد و داخل انکوباتور ۳۷°c که دارای حرکت (shaker) با سرعت rpm ۲۲۵ بود ، به مدت یک ساعت گذاشته شد تا باکتری رشد کند.

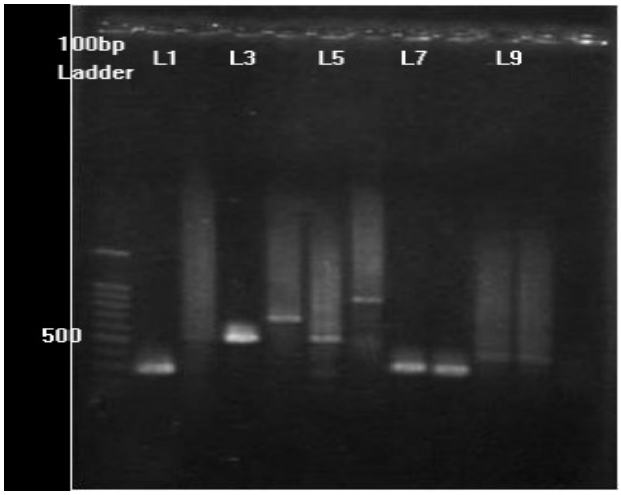
در این فاصله به پتری دیش ها مقدار ۴۰ میکرولیتر Xgel در کنار شعله اضافه و در سطح آن پخش شد. پس از یک ساعت به هر پطری ۲۰۰ میکرولیتر از محلول حاوی باکتری را انتقال داده در سطح آن در کنار شعله پخش شد . پتری دیش ها تا روز بعد در انکوباتور $37\ ^{\circ}c$ گذاشته تا باکتری ها رشد کنند. (روش آماده سازی پطری دیش LB+Ampicilin در ضمیمه آورده شده است) .

۳-۶-۲- کنترل ورود پلاسمید به باکتری :

برای کنترل ورود پلاسمید به باکتری تعدادی از کلنی های سفید PCR شد. برای این منظور از پطری دیش های مختلف Di سه کلنی سفید و از پطری دیش های Tetra دو کلنی سفید با خلال دندان استریل برداشته و به داخل تیوپ ۱/۵ میلی لیتری حاوی آب مقطر منتقل شدند. سپس تیوپ ها را به مدت ۲ دقیقه در داخل آب در حال جوش (روی هیتر برقی) قرار داده تا DNA آنها خارج شد. سپس محلول PCR با برنامه حرارتی ۴۰ سیکل : $94^{\circ}c$ به مدت ۴۵ ثانیه ، $60^{\circ}c$ بمدت ۴۵ ثانیه ، $72^{\circ}c$ به مدت ۴۵ ثانیه، نگهداری در $4^{\circ}c$ انجام شد. نوع ومقدار مواد استفاده شده در واکنش زنجیره ای پلیمراز به شرح جدول ۱۰ بود. محصول PCR روی ژل ۱/۴٪ ران شد (عکس ۱) . وجود باندها روی ژل اجراء درست Ligation را تایید نمود.

جدول ۱۰ : ترکیبات و میزان مواد متشکله واکنش PCR

Water	15
2x master mix	25
Primer (SNX.F)	5
DNA	5



عکس ۱ :تصویر ژل آگاروز کنترل بستن پلاسمید به باکتری

ستون ۱ ، نشانگر bp ۱۰۰، ستون های ۲ الی۶ ،کلنی های پاروپوزه آمریکایی ؛ ستون های ۷ الی۱۱، کلنی های تاس ماهی ایران؛ ستون ۱۱ آب .

۷-۲- هیبریداسیون (Colony Hybridization)

کلنی های دارای پلاسمید که به رنگ سفید هستند جدا و کشت شدند. برای کشت به cc ۱۰۰ محلول LB brot مقدار ۲۰۰ میکرو لیتر محلول آمپی سیلین اضافه شد و سپس مقدار µl ۱۴۰ از آن را به هر کدام از چاهک های پلیت فالکون ۱۰ میلی لیتری (۱۲×۸ چاهک) اضافه شد. با هر خلال دندان یک کلنی سفید به داخل یک چاهک انتقال داده شد. برای تکثیر کلنی ها پلیت را در طول شب در انکوباتورc° ۳۸ گذاشته شد.

روز بعد به هر چاهک مقدار µl۶۰ کلیسرول ۵۰٪ اضافه شد و برای نگهداری دراز مدت پلیت های فالکون در فریزرc° ۸۰- قرار داده شدند. از روش فیلترهیبریداسیون(Filter Hybridization) برای شناسایی و جداسازی کلنی هایی که محتوی توالی های میکروساتلیت تاس ماهی ایرانی بودند استفاده شد. که شامل مراحل زیر بود :

۱-۷-۲- آماده سازی فیلتر :

از کاغذ فیلتر ویژه تراوا که دارای سوراخهای ریز (۰/۴۵ میکرون) می باشد برای رشد باکتری ها استفاده شد. مواد غذایی و آمپی سیلین از سوراخهای فیلتر عبور کرده و در اختیار باکتری برای رشد قرار می گیرد.

از محلول LB agar با آمپی سیلین بعنوان محیط کشت استفاده شد. فیلتر به اندازه قوطی ها بریده و بوسیله پنس داخل قوطی روی محیط کشت جامد شده گذاشته شد .

۲-۷-۲- انتقال کلنی (Colony Transfer)

از یک انتقال دهنده که تعداد ۱۲×۸ میله دارد (به تعداد چاهک های پلیت فالکون) برای انتقال کلنی ها از پلیت فالکون به فیلتر استفاده شد. قوطی ها در طول شب در انکوباتور^{c} ۳۷ قرار گرفت تا باکتری ها رشد کنند.

۳-۷-۲- لیز کردن کلنی (Colony Lysis)

برای واسرشته کردن DNA باکتری هایی که روی فیلتر رشد کرده اند مراحل زیر را انجام شد. ابتدا پوسته باکتری (membrane) را که از جنس لیپید است بوسیله محلول دیترجنت SDS هضم شد. سپس واسرشته کردن DNA دو رشته ای (denaturing) از طریق شیمیایی در محلول هیدروکسید(PH=13) انجام شد. در محلول خنثی سازی(neutralizing) PH خنثی شد و در محلول نمکی SSC غلظت را برای مرحله هیبریدیزاسیون آماده شد .

۴- ۷-۲- هیبریداسیون اولیه (Colony pre-Hybridization)

پس از خشک شدن فیلترها، آنها را داخل لوله دستگاه آون هیبریدیزاسیون(Hybridization oven) می گذاریم درهر لوله چهار فیلر را قرار می دهیم و برای هر فیلتر ۱۰ میلی لیتر از محلول هیبریداسیون را که قبلاً آماده کرده ایم داخل لوله می ریزیم. به مدت ۲ ساعت با دمای$^{\circ}$c ۴۸ روی دستگاه می گذاریم . روش تهیه محلول هیبریداسیون در ضمیمه آورده شده است .

۵-۷-۲- واکنش Kianase (Kinase Reaction)

از فسفر ایزوتوپ ^{32}P برای نشاندار کردن میکروساتلیت کلنی ها استفاده شد که با تهیه محلول پلی کیناز(poly kianase) انجام شد. . برای تهیه این محلول مواد به شرح و میزان جدول ۱۱ را با هم مخلوط کرده سپس در ترمال سایکلر با با برنامه حرارتی$^{\circ}$c ۳۷ به مدت ۳۰ دقیقه و $^{\circ}$c ۹۰ برای ۲ دقیقه قرار داده شد .

جدول ۱۱ : ترکیبات و میزان مواد متشکله واکنش کیناز

Oligo $(GA)_{10}$	0.5 µl
Oligo$(GT)_{10}$	0.5 µl
Oligo$(GATA)_5$	0.5 µl
Oligo$(CATA)_5$	0.5 µl
Water	0.2 µl
Poly Nucleotide Kinase	0.2 µl
PNK Buffer (10X)	0.50 µl
^{32}P ATP	2.1 µl

۶-۷-۲- هیبریداسیون نهایی

بعد از طی ۲ ساعت پیش هیبریدیزاسیون وارد مرحله هیبریداسیون می شویم. محلول Poly Kianase را که آماده شده را با ۱۰ میلی لیتر محلول هیبریدیزاسیون مخلوط می کنیم و داخل لوله های آون هیبریداسیون می ریزیم و در طول شب می گذاریم تا فعالیت جابجایی و انتقال^{32}P انجام شود.

۷- ۷-۲-شستشو فیلتر ها

برای حذف پروب (prob) اضافی فیلتر ها در حرارت c° ۳۸ شستشو شد . دستورالعمل ساخت محلول های شستشو (Wash soulutions) در ضمیمه آورده شده.

لوله های دستگاه آون هیبریداسیون را خارج می کنیم . محلول هیبریداسیون لوله ها را درون ظرف مخصوص نگهداری محلول های رادیواکتیو تخلیه می کنیم سپس لوله ها را به وسیله محلول شستشو اول تا نیمه پر می کنیم و داخل دستگاه هیبریداسین می گذاریم.حرارت دستگاه را روی c° ۳۸ تنظیم می کنیم. بعد از ۱۵ دقیقه محلول را تخلیه و با محلول شستشوی اول مجددا پر می کنیم و ۱۵ دقیقه دیگر شستشو می دهیم. سپس فیلتر ها را از لوله هیبریداسیون خارج می کنیم و داخل یک ظرف پلاستیکی که حدودا یک لیتر از محلول شماره ۲ درون آن ریخته شده ، قرار می دهیم و به مدت یک ساعت داخل انکوباتور c° ۳۸ که دارای حرکت(Shaker) است می گذاریم تا شستشوی نهایی انجام شود .

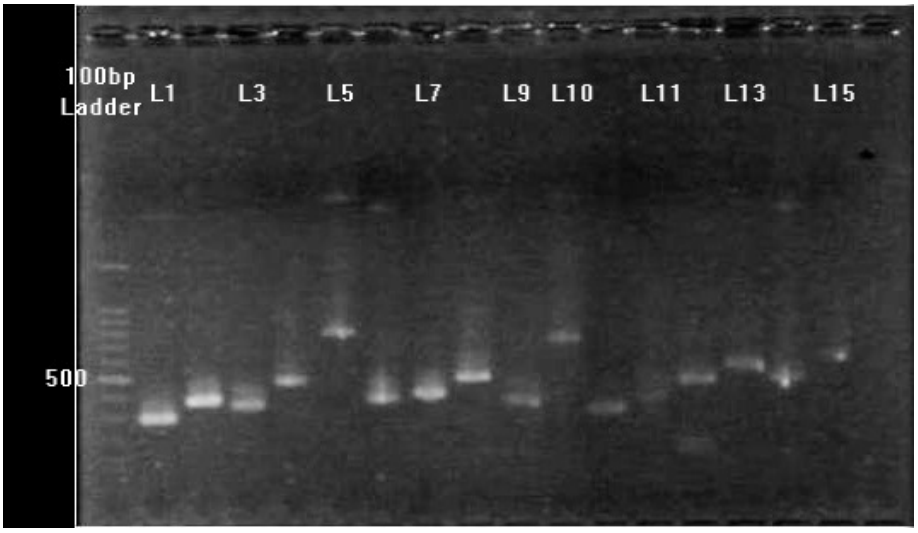
بعد از یک ساعت فیلتر ها رااز ظرف پلاستیکی خارج می کنیم و پس از شستشو با آب مقطر روی کاغذ خشک کن داخل انکوباتور به مدت ۳ ساعت گذاشتیم تا کاملاً خشک شد. با دستگاه شمارشگر گایگر میزان رادیواکتیو فیلترها اندازه گیری و ثبت شد.

فیلتر ها را روی یک کاغذ خشک کن چسبانده و روی فیلم رادیولوژی داخل قاب عکس رادیولوژی قرار داده شد . فیلم رادیولوژی پس از ۲۴-۱۰ ساعت با قرار دادن در محلول های ویژه ظهور ظاهر شد. پس از ظهور کلنی هایی که دارای میکروساتلیت بودند بواسطه اثر اشعه رادیواکتیو روی فیلم بصورت نقاط سیاه رنگ مشخص می شود. کلنی های دارای توالی میکروساتلیت ثبت و در تیوپهای فالکون ۱۵ میلی لیتری کشت شدند. مدت زمان اپتیمم برای کشت ۱۶-۱۲ ساعت و حرارت c° ۳۷ بود.

۸-۲- تعیین توالی (Sequence positive insert)

۱ - ۸-۲- جداسازی DNA پلاسمید باکتری کلنی های مثبت:

از کیت Miniprep DNA Purification System Promega طبق دستور العمل کیت برای استخراج DNA پلاسمید استفاده شد. مقدار DNA استخراج شده تمامی کلنی ها بوسیله فلومتر اندزه گیری و ثبت شد. آنهایی که میزان DNA کمتر از 40ng/ml داشتند مجدداً کشت شدند. پس از PCR اندازه باند تمام نمونه های DNA روی ژل آگاروز ۱/۴٪ بطور تقریب تعیین و ثبت شد (عکس ۲).



عکس ۲ : تصویر ژل آگاروز DNA مینی پرپ

ستون های L1 الی L15 ، DNA مینی پرپ تاس ماهی ایران(نشانگر ۱۰۰ bp)

۲- ۸-۲- واکنش تعیین توالی (Automated Sequencing Reactions)

برای تعیین توالی DNA پلاسمید که از کلنی های مثبت با کیت مینی پرپ جداسازی شده بودند، از کیت (ABI PRISM BigDye terminator cycle sequencingready reaction kit) و دستگاه ABI 377 Automated DNA Sequencer (PE Applied Biosystems , Weiterstadt, Germany) استفاده شد. برای تعیین توالی ابتدا PCR واکنش تعیین توالی به شرح جدول ۱۲ برای هر نمونه آماده شد.

جدول ۱۲ : ترکیبات و میزان مواد متشکله واکنش PCR تعیین توالی

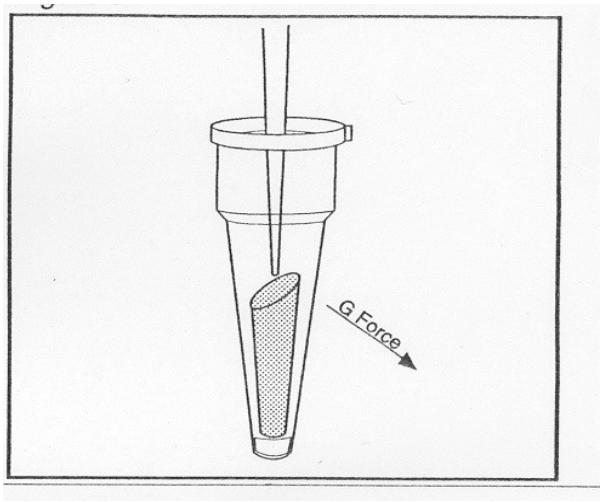
Better Buffer dilution/enhancer	5.0 µl
Template DNA (≈150 ng)	up to5.8 µl
Water	(5.8 µl – [template]) µl
Primer M13(1.0 µM)	3.2µl
Terminator ready mix	1µl
Total	15.0µl

پلیت PCR را داخل دستگاه ترموسایکلر می گذاریم برنامه حرارتی شامل $^{\circ}$c ۹۶ به مدت یک دقیقه؛ ۹۹ سیکل :$^{\circ}$c ۹۶ به مدت ۱۰ ثانیه ؛ $^{\circ}$c ۵۰ به مدت ۵ ثانیه ؛ $^{\circ}$c ۶۰ به مدت ۴ دقیقه، نهایتاً $^{\circ}$c ۶۰ ، به مدت ۴ دقیقه و نگهداری در $^{\circ}$c۴.

از روش Spin Column برای تصفیه واکنش تعیین توالی استفاده شد. باقیمانده و مازاد Terminator ready mix را که به DNA متصل نشده ، شستشو و خارج شد.

بدین منظور یک تیوپ ۲ میلی لیتری برای هر نمونه در نظر می گیریم. ته یک تیوپ ۰/۵ میلی لیتری را با سوزن سوراخ می کنیم. ته تیوپ ۰/۵ میلی لیتری Glass bead می ریزیم و روی سوراخ را می پوشانیم. سپس مقدار ۵۰۰ میکرولیتر از Sephadex داخل تیوپ می ریزیم و تیوپ را داخل تیوپ ۲ میلی لیتری می گذاریم و به مدت ۲ دقیقه با سرعت 400rpm سانتریفوژ می کنیم.

پس از سانتریفوژ و خارج شدن آب ،ستون سفادکس مانند شکل۳ باید جدا از دیواره باشد و مراقب باشیم که ستون سفادکس نشکند .



عکس ۳: ستون سفادکس

سپس تیوپ ۰/۵ میلی لیتری را داخل تیوپ ۱/۵ میلی لیتری جدید می گذاریم. محصول PCR را بوسیله پیپت روی ستون سفادکس خالی می کنیم . دقت می کنیم که سر پیپت به ستون سفادکس نخورد و محصول DNA دقیقا روی ستون تخلیه شود. به مدت ۴ دقیقه با سرعت 400rpm سانتریفوژ می کنیم. حدود ۱۵ میکرولیتر محلول DNA در ته تیوپ ها جمع خواهد شد.

تیوپ ۱/۵ میلی لیتری را داخل وکیوم درایر می گذاریم تا آب محلول کاملاً خشک شود. سپس به هر تیوپ Deionized formamide (جهت جدا کردن دو رشته DNA و جلوگیری از اتصال مجدد آنها بهم) و Blue Dexteran اضافه می کنیم. برای چند ثانیه سانتریفوژ وسپس ورتکس می کنیم تا DNA خوب حل شود. به مدت ۲ دقیقه در انکوباتور با آب $96^{\circ}c$ می گذاریم تا واسرشته شود و سریع روی یخ منتقل می کنیم و در دستگاه ABI 377 ران می کنیم .روش کار تهیه ژل و کار با دستگاه ABI 377 در ضمیمه آورده شده است.

۹-۲- طراحی پرایمر میکروساتلیت (Primer design)

توالی بدست آمده با نرم افزار Edite view مورد بررسی قرار گرفت. DNA تاس ماهی ایران در حد فاصل توالی لینکرهای SNX که توالی آنها (5´ CTA AGG CCT TGA TCG CAG AAG C 3´ و 3´ GAT TCC GGA ACT AGC GTC TTC G 5´) است شناسایی و جدا شد. پرایمرهای جدید با در نظر گرفتن کلیه موارد ضروری طراحی مانند مقدار GC حدود ۵۰٪ باشد، بعد از پرایمر باید حداقل ۲۰ باز تا شروع میکروساتلیت وجود داشته باشد، درجه حرارت TM جفت پرایمرها مشابه یا نزدیک هم باشند و . . . با استفاده از نرم افزار mac vector 9.0 (Oxford Molecular) یا Primer3 (http://www.genome.wi.mit.edu/cgi-in/primer/primer3.cgi) طراحی و ارائه شد.

۱۰-۲-آزمایش کارایی و شرایط بهینه کارکرد پرایمرها (Primer optimization)

درجه حرارت بهینه وکارکرد پرایمر ها با واکنش PCR با ۲۴ نمونه از DNA تاس ماهی ایران که از باله بوسیله کیت Qiagen DNeasy Tissue Kit (Qiagen, Valencia, CA) استخراج شد، با استفاده از دستگاه PCR Gradiant (Quanta Biotech Ltd, Surrey, United Kingdom) ، درجه حرارتهای Annealing c° ۵۴ الی c ° ۶۶ آزمایش شد و شرایط بهینه PCR بدست آمد. و دمای اتصال (annealing) تعیین شد. ترکیبات بکار برده شده در واکنش PCR به شرح جدول ۱۳ بود .

شرایط دمایی شامل واسرشتن اصلی در c° ۹۵ بمدت ۵ دقیقه ؛ ۴۰ سیکل: واسرشتن در c° ۹۵ بمدت ۳۰ ثانیه ، اتصال(Annealing) در c° ۵۴ الی c° ۶۶ بمدت ۳۰ ثانیه ، بسط (extension) در c° ۷۲ بمدت ۳۰ ثانیه ؛ بسط نهایی c° ۷۲ بمدت ۵ دقیقه؛ نگهداری در c° ۴.

جدول ۱۳ : ترکیبات و میزان مواد متشکله واکنش PCR

Water	5.3 µl
Buffer	1 µl

$MgCl_2$	0.4µl
dNTP	0.2µl
Forward Primer (10nM)	1.0 µl
Reverse Primer(10nM)	1.0 µl
Taq	0.1 µl
DNA (1-10 ng)	1.0 µl

الکتروفورز دردستگاه BIO-RAD gel sequencer با بلندی ۳۸ سانتیمتر و ژل پلی آکریل آمید دینیچر ۶٪ بمدت ۱ الی ۳ ساعت در 1500 X volts/cm انجام شد و رنگ آمیزی به روش نیترات نقره انجام گرفت (An et al, 2009).

پرایمر های Ape_01 الی Ape_18 از روش رادیو لیبلینک (Radiolabeling Techniques) مورد بررسی قرار گرفتند. در این روش با استفاده از واکنش Poly kinase یک پرایمر با فسفر رادیواکتیو (^{32}P) نشانگذاری شد و با استفاده از ژل پلی اکریل امید (PAGE) بوسیله اتورادیوگرافی باند ها ظاهر و تعیین اندازه شد.

۱۱-۲- تفسیر باندها

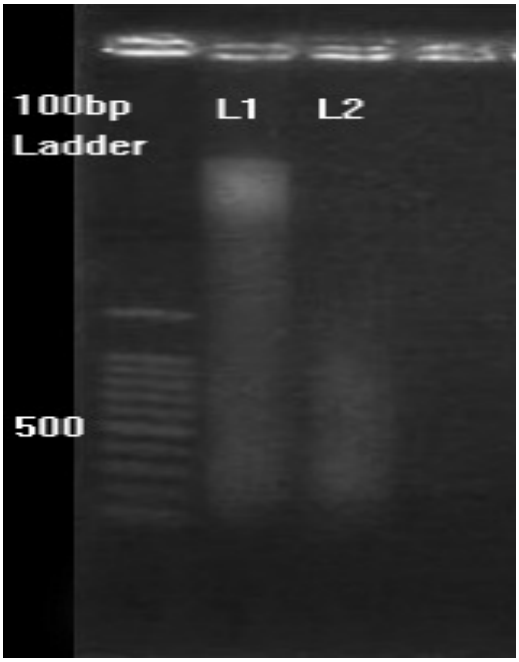
تفسیر نتایج تکثیر جایگاه میکروساتلیت توسط پرایمرهای اگر تمام نمونه های مورد بررسی فقط یک باند هم اندازه روی ژل نشان دادند، جایگاه مونومورف (monomorphic) اطلاق شد.در صورتی که یک یا دو باند در هر نمونه مشاهده می شد جایگاه دیسومیک (disomic) و مواردی که بعضی از نمونه ها سه تا چهار باند ظاهر می کردند تتراسومیک (tetrasomic) و اگر بیش از چهار باند در یک نمونه شمارش می شد جایگاه اکتاسومیک (octosomic) تفسیر می شد. اگر باندها محو و نامشخص بودند جایگاه ضعیف (weak) و در حالتی که الگوی باندها نامشخص و نامفهوم بود و تفسیر آنها مشکل، جایگاه نامفهوم (ambiguous) نامیده شد.

۱۲-۲- آزمایش کارایی وکارکرد پرایمرهای اختصاصی میکروساتلیت تاس ماهی ایران در چهار گونه ماهیان خاویاری دریای خزر

برای تعیین امکان استفاده از پرایمرهای اختصاصی تاس ماهی ایران در سایر گونه های ماهیان خاویاری و آیا اینکه پرایمرهای اختصاصی تاس ماهی ایران جایگاه های هومولوگ را در سایر ماهیان خاویاری تکثیر (Amplifiy) می کنند از روش Cross species آزمایش PCR در چهار گونه تاس ماهی روسی (A.Guldenstadtii) ، فیل ماهی (Huos.huso) ، اوزون برون (A.stellatus) و شیپ (A.nudiventris) انجام شد . از صیدگاه های ماهیان خاویاری نمونه باله چهار گونه ماهیان خاویاری جمع آوری و در الکل ۹۵٪ نگهداری شد. DNA با استفاده کیت استخراج شد. شرایط دمایی نوع و مقدار مواد PCR و ژل الکتروفورزیس مشابه تاس ماهی ایران بود. پرایمرهای Ape-19 الی Ape-81 در هر گونه با سه تا شش نمونه مورد مطالعه قرار گرفت. .

۳- نتایج و بحث :

DNA تاس ماهی ایران با آنزیم Rsa I هضم شد . مشاهده نتیجه عمل هضم روی ژل آگاروز نشان داد که آنزیم Rsa I کاملا DNA تاس ماهی را هضم نمود (عکس ۴) . قطعات DNA با اندازه ۱۰۰۰ bp – ۱۰۰ تراکم زیادی داشت در حالی که DNA قبل از هضم تراکم قطعات با اندازه های بزرگتر از bp ۱۵۰۰ بیشتر است. با توجه به این نتایج مشخص گردید مرحله هضم آنزیمی با موفقیت انجام شده و این مرحله باتمام رسیده است .

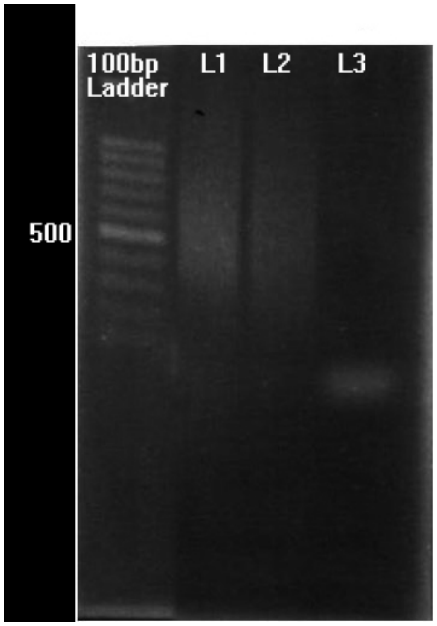


عکس ۴ :تصویر ژل آگاروز کنترل هضم آنزیمی DNA تاس ماهی ایران

ستون DNA L1 تاس ماهی ایرانی ، ستون DNA L2 تاس ماهی ایرانی بعد از هضم آنزیمی

بستن لینکر و ترمیم شکاف DNA تاس ماهی در قطعات کوچکتر DNA با اندازه ۸۰۰bp–۲۵۰ بیشتر انجام شد (عکس ۵) . در تصویر ژل آگاروز مشاهده میشود که در ستون های ۱ و ۲ که DNA اسمیر

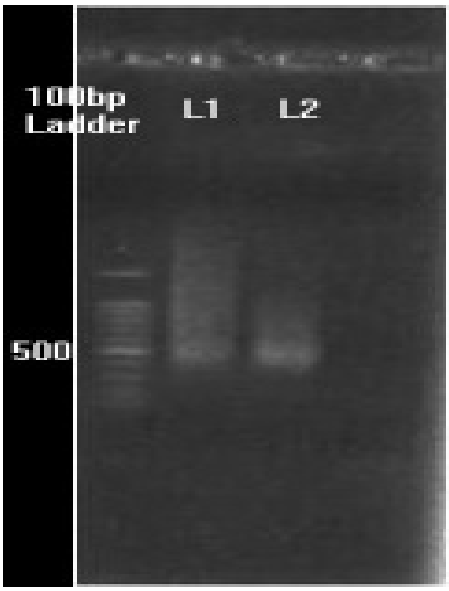
مشاهده می شود ستون ۳ که آب بجای DNA در واکنش PCR استفاده شد و برای کنترل عدم آلودگی بکار رفته است در 100bp باند تشکیل شد که به دلیل وجود لینکر که از جنس DNA است که به مسترمیکس PCR اضافه شده ، این باند تشکیل شده است ، که دلالت بر اجراء صحیح و اتمام این مرحله دارد.



عکس ۵ :تصویر ژل آگاروز کنترل بستن لینکرها به DNA تاس ماهی ایرانی ستون L1 DNA فیکس (Repaired DNA) ، ستون L2 DNA غیر فیکس (Unrepaired DNA) ستون L3 آب.

DNA غنی سازی شده برای تکرار های میکروساتلیت و محلول باقی مانده از مراحل مختلف شستشو PCR شد. بررسی نتایج مراحل غنی سازی پس از الکترفورز روی ژل آگاروز نشان داد که DNA در اندازه های حدود bp ۵۰۰ به میزان زیاد و تراکم بالا وجود دارد (عکس ۶). همچنین ژل الکترفورز محلول های شستشو نشان داد که تراکم قطعات DNA با اندازه بیشتر از 500bp بیشتر است (عکس۷). بنابراین شستشو درست انجام شده بود. با توجه به این نتایج مراحل غنی سازی و شستشو صحیح انحام

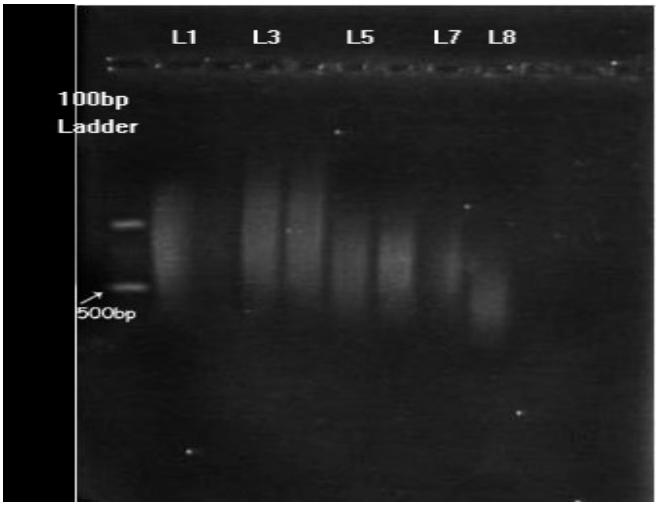
شده و بنابراین DNA غنی سازی شده برای تکرارهای دی و ترانوکلوتیدی برای کلون نمودن مناسب بودند.



عکس ۶ :تصویر ژل آگاروزمحصول PCR کنترل غنی سازی

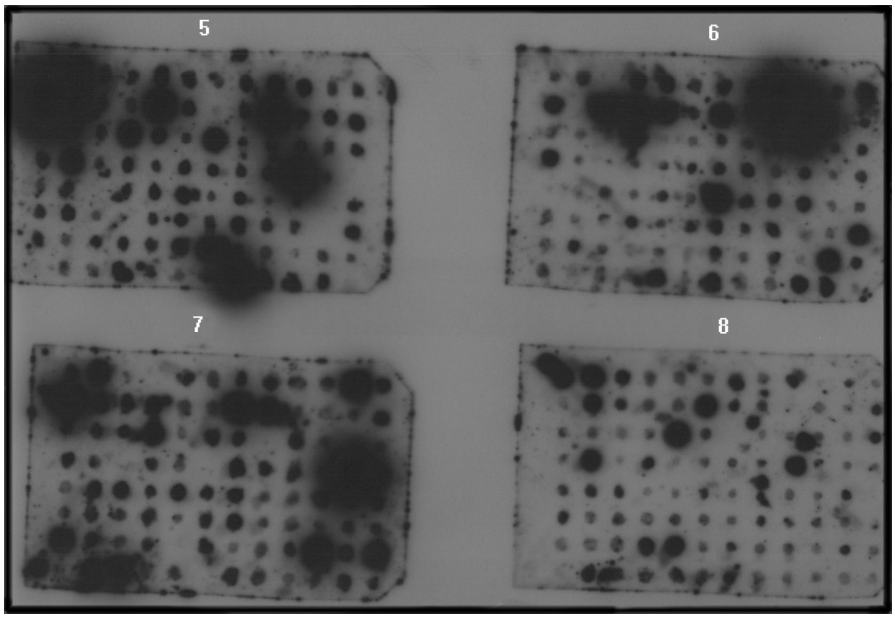
ستون L1 gold دی نوکلئوتید تاس ماهی ایرانی ، ستون L2 : gold تترانوکلئوتید تاس ماهی ایرانی

در دو مرحله کلونینگ پلاسمیدهایی که با موفقیت وارد سلول E. coli شده بودند تعداد ۱۸۰۰ کلنی سفید رنگ (مثبت) تولید کردند که پس از فیلتر هیریداسیون ۳۵۰ کلنی که دارای توالی میکروساتلیت بودند برای توالی یابی انتخاب گردیدند (عکس۹ – ۸).



عکس ۷ :تصویر ژل آگاروز محصول PCR کنترل مراحل شستسو غنی سازی

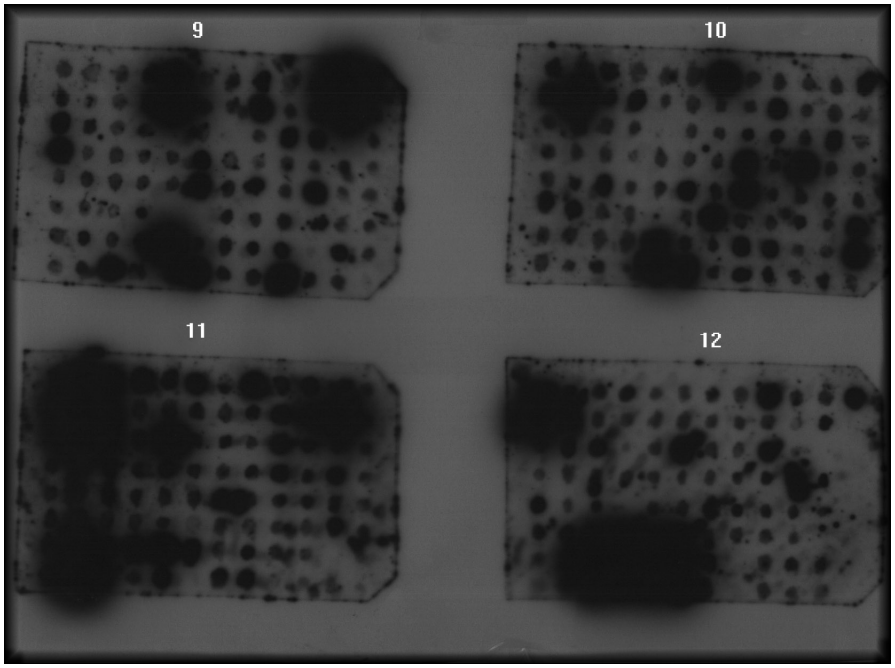
ستونهای L1 الی L8 محلولهای باقی مانده از مراحل شستشو تاس ماهی ایران(نشانگر ۱۰۰ bp)



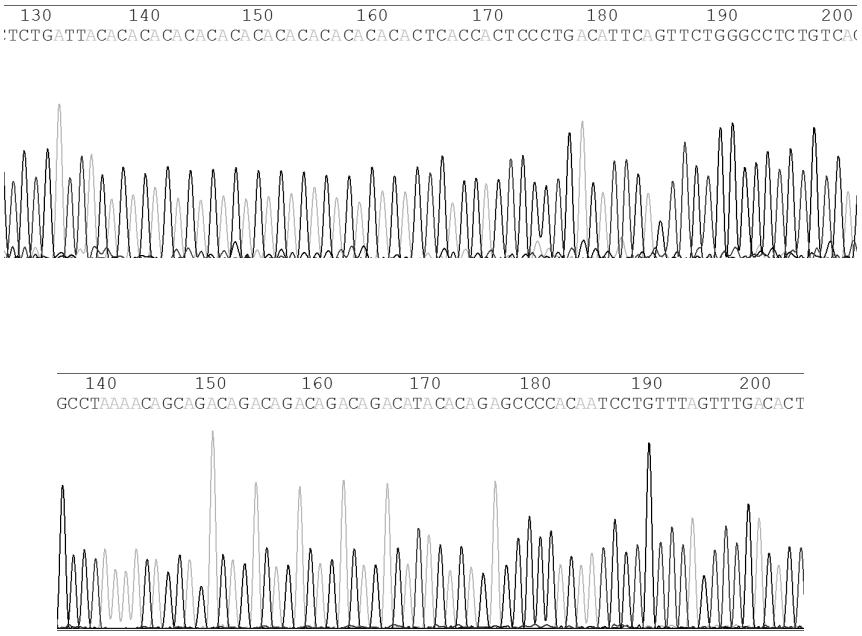
عکس ۸: تصویر فیلم رادیولوژی فیلترهای هیبریداسیون شماره های ۸-۵ . کلنی های دارای میکروساتلیت نقاط سیاه رنگ روی فیلم ظاهر نمودند.

میکروساتلیت های تاس ماهی ایرانی شامل ۳۸ میکروساتلیت دای مریک (Dimeric) ، ۲۶ ترامریک (Tetremeric) و یک پنتامریک بودند. ۵ ریز ماهواره مرکب یا ناقص و بقیه ریزماهواره‌های کامل بودند (عکس ۱۰).

در بین توالی ها ۸۱ توالی که کلیه شرایط لازم برای طراحی پرایمر را داشتند شناسایی شد . پس از حذف ۱۳ توالی متشابه ، ۶۸ پرایمر اختصاصی میکروساتلیت تاس ماهی ایران طراحی شد. پرایمرهای



عکس۹: تصویر فیلم رادیولوژی فیلترهای هیبریداسیون شماره های ۱۲-۹ .



شکل ۱۰: A –الکتروفروگرام کلون شماره 2h12r که دارای توالی $(CA)_{14}$ در بین نوکلوتید های ۱۳۶ الی ۱۵۴ و B کلون شماره 2h09r که دارای توالی $(CAGA)_6$ در بین نوکلوتید های ۱۴۷ الی ۱۷۱ است

اختصاصی تاس ماهی ایرانی با نام Ape-01 ا لی Ape-81 نامگذاری شدند.کلیه توالی ها و پرایمر اختصاصی میکروساتلیت تاس ماهی ایران در بانک ژن (GenBank) ثبت شد. شماره دسترسی EU483155, EU531732- EU531745 و JF773767–JF773817, JF781300 است (ضمیمه ۱). نام جایگاه، اندازه کلون بر حسب bp ، شماره دسترسی در بانک ژن، نوع و تعداد ردیفهای تکراری متوالی(motif)، دمای اتصال و توالی پرایمرها در جدول ۱ آورده شده است.

از ۶۸ جفت پرایمرها ی اختصاصی میکروساتلیت تاس ماهی ایرانی ، ۵۸ جفت (۸۵٪) آمپلی فای شدند و تولید باند کردند . ۲۱ جایگاه پلی مورفیک تتراسومیک ، ۱۸ جایگاه اکتاسومیک بودند و ۶ جایگاه منو مورفیک بودند . ۱۳ جایگاه تکثیر شد ولی باند ها مبهم و نامفهوم بودند(عکس ۱۷– ۱۱). هیچکدام

از پرایمرها ی اختصاصی میکروساتلیت تاس ماهی ایرانی جایگاه دیسومیک در این گونه را تکثیر نکرد.

چون هیچکدام از جایگاه دیسومیک نبودند آزمون تعادل هاردی وینبرگ و عدم پیوستگی در این جایگاه ها انجام نشد.

نتایج مطالعه امکان استفاده از پرایمرهای میکروساتلیت تاس ماهی ایران در چهار گونه از ماهیان خاویاری دریای خزر نشان داد که این پرایمرها هومولوگ هستند و امکان استفاده از آنها در سایر گونه ها وجود دارد (جدول ۲).

تاس ماهی روسی: از ۴۶ جفت پرایمرهای میکروساتلیت مطالعه شده ، ۳۲ جفت (۸۳٪) تکثیر شد و باند ایجاد کردند که از بین آنها ۲۵ جایگاه (۵۴٪) پلی مورف یا چند شکلی و ۷ جایگاه مونومورف بودند. ۸ جایگاه هیچ باندی تولید نکرد و در بقیه جایگاه ها آرایش باند ها مبهم بود.

در بین ۲۵ جایگاه پلی مورف یا چند شکلی، ۱۷ جایگاه تتراسومیک و ۷ جایگاه اکتاسومیک بودند در حالی که یک جایگاه دیسومیک (Ape-77) بنظر می رسید..

اوزون برون از ۴۹ جفت پرایمرهای میکروساتلیت بررسی شده ، ۳۹ جفت (۸۴٪) تکثیر شد و باند ایجاد کردند در بین آنها ۲۷ جایگاه (۶۹٪) پلی مورف یا چند شکلی و ۷ جایگاه مونومورف بودند. ۱۰ جایگاه هیچ باندی تولید نکرد و در بقیه جایگاه ها آرایش باند ها مبهم بود. در اوزون برون تمامی جایگاه های پلی مورف دیسومیک بودند .

شیپ: از ۴۶ جفت پرایمرهای میکروساتلیت بررسی شده ، ۳۹ جفت (۸۵٪) تکثیر شد و باند ایجاد کردند که از بین آنها ۱۸ جایگاه (۳۷٪) پلی مورف یا چند شکلی و ۱۱ جایگاه مونومورف بودند. ۷

جایگاه هیچ باندی تولید نکرد و ۸ جایگاه ها آرایش باند ها مبهم بود. در ماهی شیپ نیز تمامی جایگاه های پلی مورف دیسومیک بودند

جدول 14 : مشخصات پرایمرهای اختصاصی تاس ماهی ایران شامل نام جایگاه، اندازه کلون بر حسب bp ، شماره دسترسی در بانک ژن، نوع و تعداد ردیفهای تکراری متوالی(motif)، دمای اتصال، توالی پرایمرها و نوع جایگاه که تکثیر می نماید.

Prime	Repeat type and length	primer sequences (5' to 3')	GenBank accession no.	Product size (bp)	Anneling temp.	Inferred Ploidy level
Ape-01	$(CAGA)_{14}$	F:CAATGTCACAAACACACACAGCG R:TTTCTCTCCAGTTCGTCAGATGC	JF773767	171	56	Tetrasomic
Ape_02	$(GT)_{13}$	F:CAAACATACCGTTCTGTGGGAC R:CGTCCTGCTGAAGAAGGTAAATATC	JF773768	123	60	octosomic
Ape_03	$(CAGA)_{14}$	F:CAATGTCACAAACACACACAGCG R:GCAGAAAAACCAGCCCACAGTC	JF773769	141	60	Tetrasomic
Ape_04	$(CA)_{10}$	F:GATAAAGGCACGACGCTACAACTAC R:CATCTCAACCTGACAAATACCGTG	JF773770	119	54	octosomic
Ape_05	$(CAGA)_{6}$	F:ACTGAACCATTGGAGTATTGAGGC R:ACAGTAAACGCACACCAACAAGG	JF773771	137	60	Tetrasomic
Ape_06	$(CAGA)_{15}$	F:AAACCTTCAGAGAGAGAGGGAGCG R:GCAGAAAAACCAGCCCACAGTC	JF773772	239	60	octosomic
Ape_07	$(CT)_{12}$	F:CACAATTCACAGTCAGGGCTGTC R:TGCCACAATTCACAGTCAGGG	JF773773	253	-	ambiguous
Ape_08	$(CT)_{41}$	F: AGCCCCTGTGTCTGTCTGTTTG R:GGAAATTCTTTGGTGTGTGTGGG	JF773774	164	-	ambiguous
Ape_09	$(CT)_{35}$	F:GATCAGCTCCAGTTTGCAGTGC R:GGAGATAGATTCGTTCTGCCAAGTC	JF773775	299	-	ambiguous
Ape_10	$(CAGA)_{13}$	F:AGGGAGCGACAAACTTACTCCTG R:GCAGAAGCACAGCAATGTGAAATC	JF773776	275	64	octosomic
Ape_11	$(CAGA)_{7}$	F:AACCATTGGAGTATTGAGGCACTG R:ACAGTAAACGCACACCAACAAGG	JF773777	133	54	octosomic
Ape_12	$(CT)_{13}$	F:GCCTTCAACATTCTCCTTATTGAGG R:CGTTACGAAAACAAGTGTTCTTGCC	JF773778	112	54	octosomic
Ape_13	$(CTGT)_{13}$	F:TCGCAGAAAAACCAGCCCAC R:AAACCTTCAGAGAGAGAGGGAGCG	JF773779	233	64	octosomic
Ape_14	$(GA)_{22}$	F:ATTTCGTGTCTGTCCTTAATTGGTG R:GTAAATCTCACAATGTCCGTGGC	JF773780	164	60	Tetrasomic
Ape_15	$(CT)_{64}$	F:TTCCTGTTGCCAGACATTTTAACAC R:TCCTTAATTGGTGAAATTCATACCG	JF773781	175	-	no amplify
Ape_16	$(GA)_{13}$	F:AATGGAGAGAGAGAGAGAGGGAGTG R:AAGTCTTACAAAACCCGTGGTGG	JF773782	230	60	Tetrasomic
Ape_17	$(CTGT)_{15}$	F:TCGCAGAAAAACCAGCCCAC R:GCATTTCGGAGAAACCTTCAGAG	JF773783	248	60	octosomic
Ape_18	$(GA)_{14}$	F:CGCAGAAGCACTAAAAGTCAAAGTC R:GGAAGATTTCAGAGAGCAGCACTC	JF773784	202	64	Tetrasomic
Ape-19	$(CA)_{14}$	F:GGGGTTAGAAAGCACAGATGA R:CAAGGTGGCACAGTGGACTA	EU483155	172	56	octosomic
Ape_20	$(GACA)_{5}$	F:CACTGCCTGCTGCCTAAAAC R:ACTGTGGGGCTCTGTCTGTC	EU531732	176	64	tetrasomic

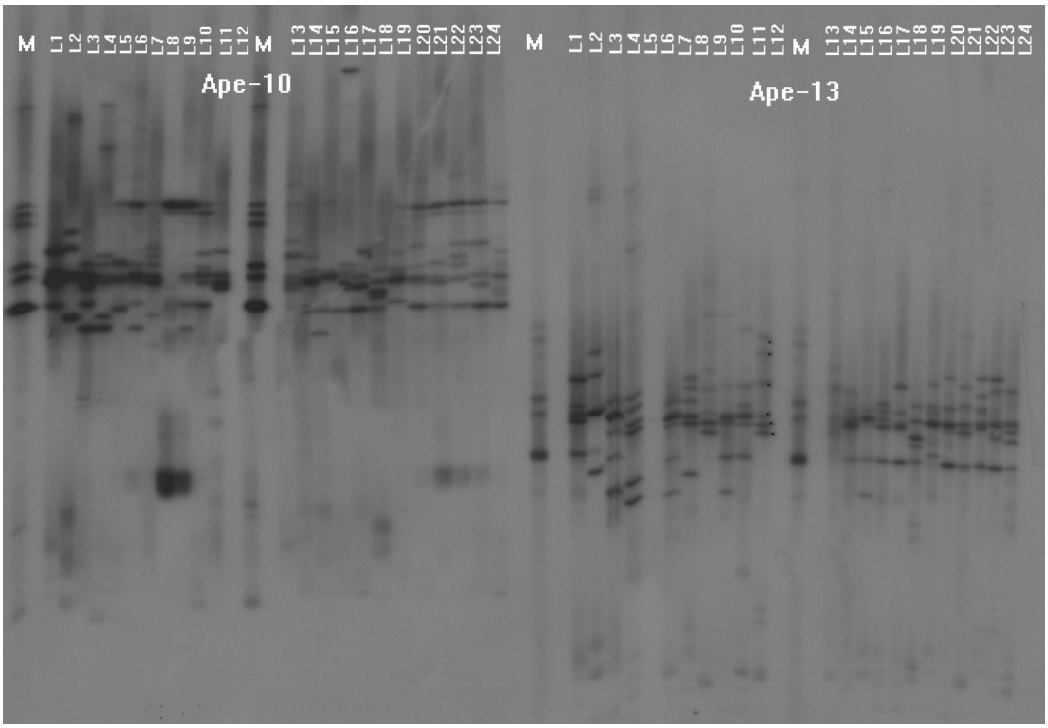
ادامه جدول ۱۴

Prime	Repeat type and length	primer sequences (5' to 3')	GenBank accession no.	Product size (bp)	Anneling temp.	Inferred Ploidy level
Ape_21	$(GACA)_5$	F:GGAGACAGACGAGGGAGAGA R:ATTCGGGACGTGAGACACAT	EU531733	397	61	Tetrasomic
Ape_22	$(GTCT)_{14}$	F:CAGAAAAACCAGCCCACAGT R:GAGAGAGAGGGAGCGACAAA	EU531734	245	67	octosomic
Ape_23	$(CA)_{25}$	F:CCTGCCACACCTACACAGAC R:GCGCATGCCTACAACAATTT	JF781300	177	-	no amplify
Ape_24	$(CA)_{14}$	F:TGAACACAAAACACGGGACA R:TAAGGCCTTGATCGCAGAAG	EU531735	237	-	no amplify
Ape_25	$(GAGAG)_5$	F:CCCGTGTCTGTCTGTCTGTTT R:ATCTCAGCCAGGAAGAACGA	EU531736	159	60	Tetrasomic
Ape_26	$(GA)_{38}$	F:GAGAGAGAGGGAGCGACAAA R:CAGAAAAACCAGCCCACAGT	EU531737	225	47	tetrasomic
Ape_27	$(GA)_{38}$	F:AACGAGTCCATGCTGGAGAG R:CCCCGTGTCTGTTTGTTTGT	EU531738	171	56	Tetrasomic
Ape_28	$(CTGT)_{10}$	F:CTCAGACCCGTGAGACACAA R:GCATTTCGGAGAAACCTTCA	EU531739	192	47	Tetrasomic
Ape_29	$(GT)_{15}$	F:TGAACACAAAACACGGGACA R:CGCACACACACGCACATA	EU531740	215	55	Mono
Ape_30	$(GT)_{11}$	F:AGGGCTACCTCCAGCTGTGT R:TCGCTCCTCAGACTCTGGAC	EU531741	172	57	Tetrasomic
Ape_31	$(CT)_{26}$	F:GCCCCTGTGTCTGTCTGTTT R:CGTGTGTGAGCGAGATAGGA	EU531742	189	-	no amplify
Ape_32	$(GACA)_{15}$	F:CAAAGAGAGAGGGAGCGACA R:CAGAAAAACCAGCCCACAGT	EU531743	227	65	octosomic
Ape_33	$(CTAT)_9$	F:TGCTGATCTAACCATTTCTTTGC R:AAGGCACACCATCTTTGTCC	EU531744	190	57	tetrasomic
Ape_34	$(CA)_{10}$	F:CCACCACCCTCCCACAATA R:GGGCAAATTGACTGCTTGAT	EU531745	162	52	Mono
Ape-35	(GACA)6	F: ACTGCCTGCTGCCTAAAACA R: CTAAGGCCTTGATCGCAGAA	JF740087	231	-	ambiguous
Ape-36	(CTGT)5	F: TAGCACTGGGAACAGAAGCA R: AAAGCTCCAACACATGGACA	JF740088	240	60	no amplify
Ape-38	(GTCT)6	F: GTGCGTGTGTGTGTGTGTGT R: GTGTGACAGTGAAGCGGAGA	JF773785	352	58	no amplify
Ape-39	(GA)36	F:GGAAGGGGAGAGAGAGAACG R: GCGCTGTATTGTGGTGACTG	JF773786	269	65	Tetrasomic
Ape-40	(CA)18	F: CCGCAAACACACATACGC R: GCGCTCTCGTAGACTGTGC	JF773787	250	-	ambiguous
Ape-42	(CT)18	F: CGTGCCCACTGTTTTACCTT R: TTGGATTCTAGGACGGTTGG	JF773788	254	58	no amplify
Ape-43	(CT)25	F: GCCCCTGTGTCTGTCTGTTT R: GCATGTCTTTTTCCAAAGTGAA	JF773789	180	62	no amplify
Ape-46	(GA)27	F: TGTGCCACAATTCACAGTCA R: CAGAGAGAGTCAGCGGGTCT	JF773790	245	64	octosomic
Ape-47	(GA)34	F: ATCTCAGCCAGGAAGAACGA R: GCCCCTGTGTCTGTCTGTTT	JF773791	180	56	octosomic

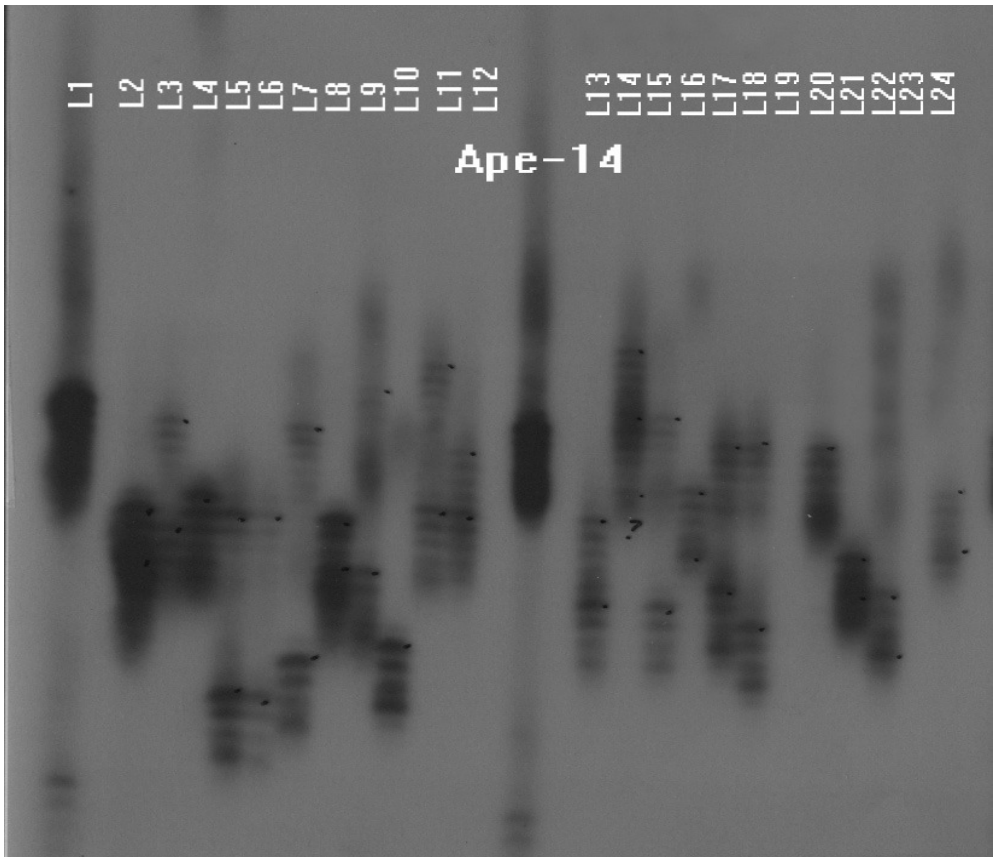
Prime	Repeat type and length	primer sequences (5' to 3')	GenBank accession no.	Product size (bp)	Anneling temp.	Inferred Ploidy level
Ape-48	(GA)32	F: TGTGCCACAATTCACAGTCA R: CCACGTTTATTAACCCAAATCAA	JF773792	201	-	ambiguous

ادامه جدول ۱۴

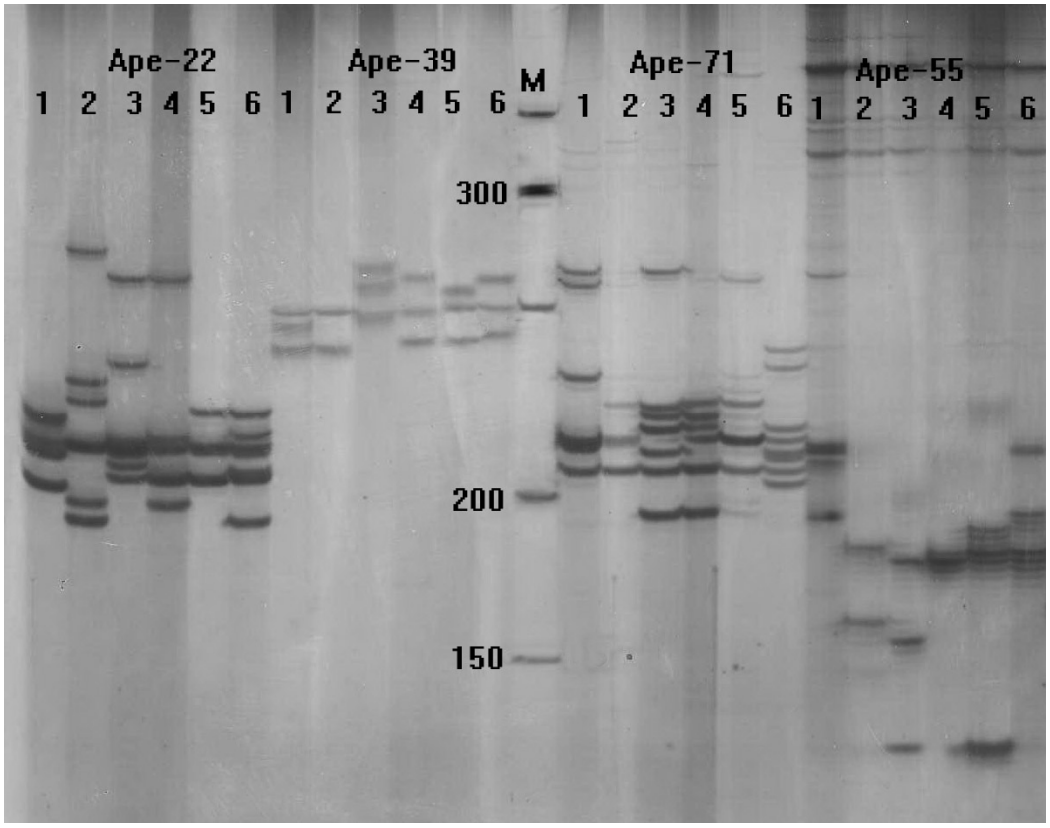
Prime	Repeat type and length	primer sequences (5' to 3')	GenBank accession no.	Product size (bp)	Anneling temp.	Inferred Ploidy level
Ape-49	(GA)38	F: ATCTCAGCCAGGAAGAACGA R: GCCCCTGTGTCTGTCTGTTT	JF773793	188	64	Octosomic
Ape-50	(CA)24	F: CCTGCTGCTGTATAAACTATGGA R: CGGACTGTGTGTCTGTCTGTC	JF773794	249	65	Mono
Ape-51	$(GA)_{18}G2(GA)_{19}$	F: ATCTCAGCCAGGAAGAACGA R: CCCGTGTCTGTCTGTCTGTTT	JF773795	189	60	Tetrasomic
Ape-52	(CAGA)6	F:CACTGCCTGCTGCCTAAAAC R: TATTAACCCATCGGCTCCAC	JF773796	151	55	no amplify
Ape-53	(CA)14	F: CGCACACACACGCACATA R: ACGGCACTATACGCCAAAAT	JF773797	196	60	ambiguous
Ape-55	(GA)25	F: ATCTCAGCCAGGAAGAACGA R: CCCGTGTCTGTCTGTCTGTTT	JF773798	165	58	Tetrasomic
Ape-56	(CA)11	F: TCGTCCTGCTGAAGAAGGTAA R: CGTTCTGTGGGACAGTGAGA	JF773799	146	60	Tetrasomic
Ape-57	(CA)15	F: CCATGCACACGCACTAGTTT R: ATTGTCATGCCCGTTTCAGT	JF773800	218	58	Mono
Ape-58	(CA)28	F: GGACTCCAGAGACAGTGCAA R: GGACACGCATAGGTGCTTCT	JF773801	155	-	ambiguous
Ape-59	(CA)11	F: CGTCCTGCTCAAGAAGGTAAA R: CGTCCTGCTCAAGAAGGTAAA	JF773802	110	-	no amplify
Ape-60	(CT)25	F: TTCAGGGATCCTGTCTCCAG R: GGGGAGCAGTCACAAAGAGT	JF773803	231	-	ambiguous
Ape-62	$(CA)5[(C_2)(CA)_2]4$	F: GACTTCGCCTACAGCAGCTC R: TAGGAACCGGACACGCATAG	JF773804	385	60	octosomic
Ape-63	(GGCA)6	F: GCACTTTGTTCAGGCAGACA R: GACAGGAGGAAATGCTGGAA	JF773805	360	54	Mono
Ape-64	(CAGA)12	F: GAGAGAGGGAGCGACAAACTT R: TAGCTGAGTGGGTGTGGATG	JF773806	213	56	Mono
Ape-65	(GA)17CA (CAGA)9(GA)6	F: TTGAACCTTCCACATCCTGA R: CCCAAGGACCTACAGTCTGC	JF773807	154	-	ambiguous
Ape-66	(GTCT)14	F: CAGAAAAACCAGCCCACAGT R: GAGAGAGAGGGAGCGACAAA	JF773808	225	-	ambiguous
Ape-68	(GACA)5	F: AGTTCGCACTGTAGGGATTCA R:TTCGCAATTAAGGTTAAAAAGACA	JF773809	300	-	ambiguous
Ape-70	(CA)11	F: AGTGACCCCTCTCTCCCACT R: GTCAGGGTCAGGGTCTGTGT	JF773810	166	60	Tetrasomic
Ape-71	(GACA)15	F: GAGAGAGAGGGAGCGACAAA R: CAGAAAAACCAGCCCACAGT	JF773811	296	58	octosomic
Ape-73	(GACA)7G2(CAGA)6	F: GAGAGAGAGGGAGCGACAAA R: CAGAAAAACCAGCCCACAGT	JF773812	221	60	Octosomic
Ape-76	(GACA)15	F: GAGAGAGAGGGAGCGACAAA R: CAGAAAAACCAGCCCACAGT	JF773813	225	61	Octosomic
Ape-77	(GA)28	F: ATCTCAGCCAGGAAGAACGA R: CCCGTGTCTGTCTGTCTGTTT	JF773814	171	60	Tetrasomic
Ape-78	(CAGA)6	F: CACTGCCTGCTGCCTAAAAC R: TATTAACCCATCGGCTCCAC	JF773815	151	60	Tetrasomic
Ape-80	(CTGT)14	F: GGGGTTCAGGAGGCTTTCTA R: GCACTTTGTTCAGGCAGACA	JF773816	228	-	Ambiguous
Ape-81	(GA)28	F: GGTTCCAATGTATCAGGCAAA R: GCCGAGCAGCTCCATTAG	JF773817	152	60	Tetrasomic



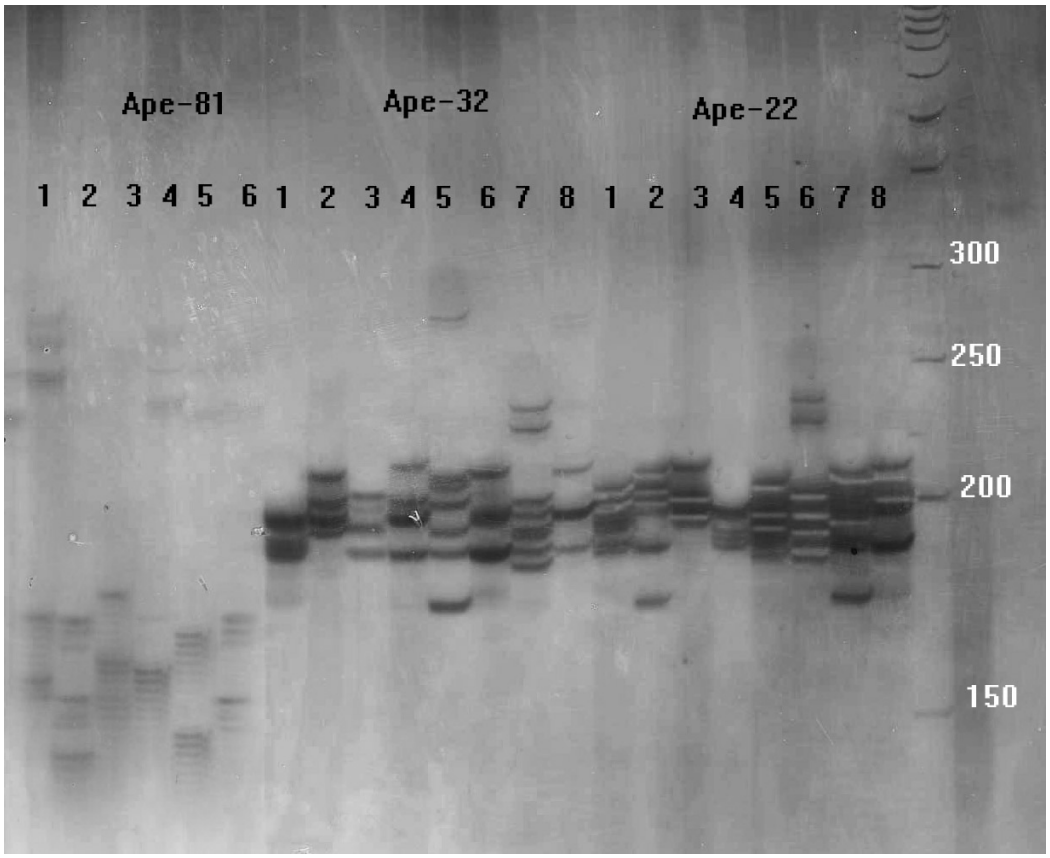
شکل ۱۱ – آرایش باند DNA تاس ماهی ایران با استفاده از پرایمر Ape-10 ، Ape-13 و روش اتورادیوگرافی که جایگاه های اکتاسومیک را تکثیر کرده اند .



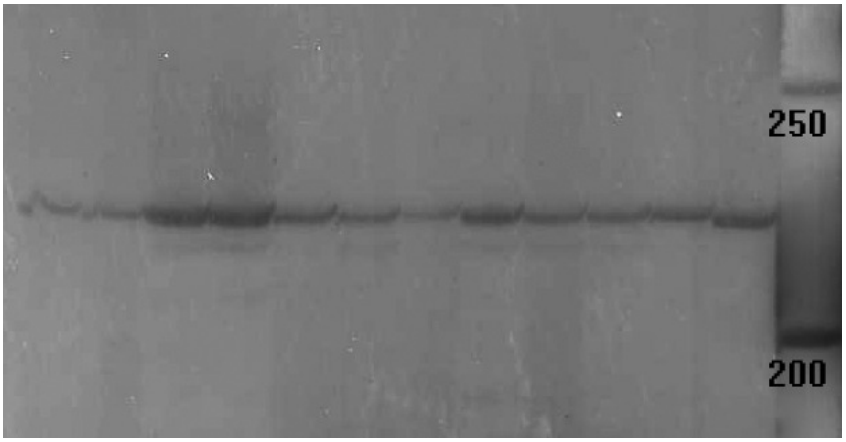
شکل ۱۲ – آرایش باند DNA تاس ماهی ایران با استفاده از پرایمر Ape-14 و روش اتورادیوگرافی که جایگاه ه تتراسومیک را تکثیر کرده .تمامی نمونه ها بجز نمونه L14 باند دیسومیک نشان دادند.



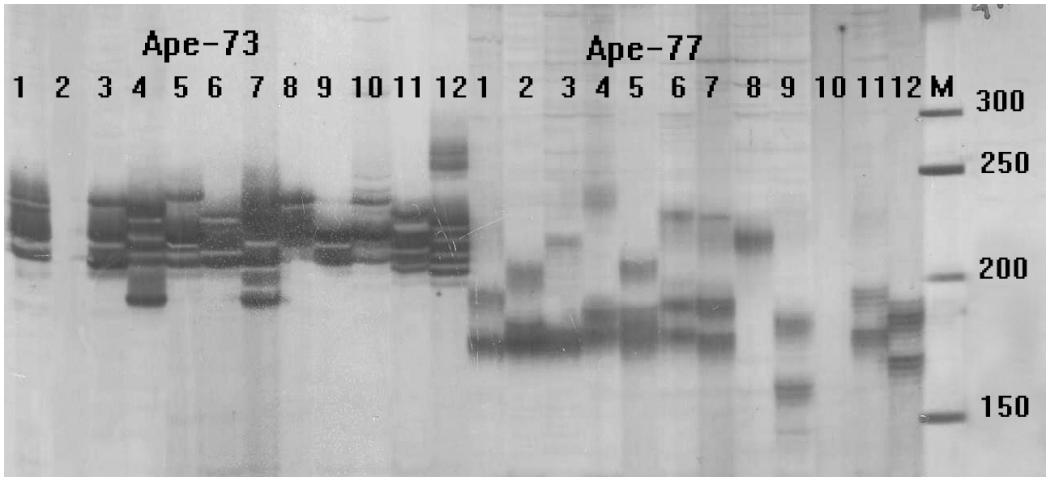
شکل ۱۳ – آرایش باند DNA تاس ماهی ایران با استفاده از پرایمر Ape-22 ، Ape-39 ، Ape-71 ، Ape-55 و روش رنگ آمیزی نیترات نقره که بترتیب جایگاه های پلی سومیک تتراسومیک ، اکتاسومیک ، تتراسومیک و اکتاسومیک را تکثیر کرده اند .



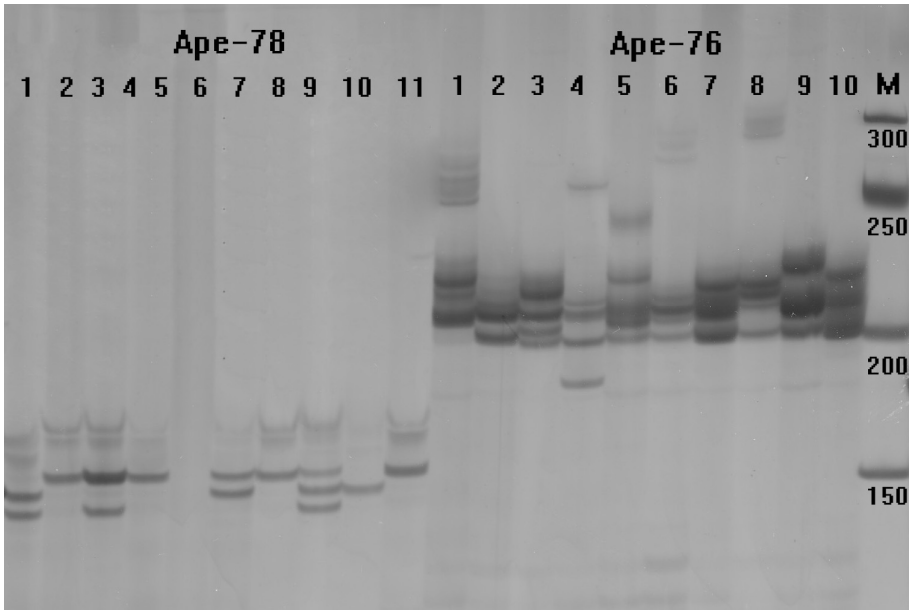
شکل ۱۴ – آرایش باند DNA تاس ماهی ایران با استفاده از پرایمر Ape-81 ، Ape-32 و Ape-22 و روش رنگ آمیزی نیترات نقره که بترتیب جایگاه های پلی سومیک تتراسومیک ، اکتاسومیک و اکتاسومیک را تکثیر کرده‌اند .



شکل ۱۵ – آرایش باند DNA تاس ماهی ایران با استفاده از پرایمر Ape-57 و روش رنگ آمیزی نیترات نقره که جایگاه مونومورفیک را تکثیر کرده .



شکل ۱۶ – آرایش باند DNA تاس ماهی ایران با استفاده از پرایمر Ape-73 و Ape-77 و روش رنگ آمیزی نیترات نقره که بترتیب جایگاه های پلی سومیک اکتاسومیک و تتراسومیک را تکثیر کرده اند.



شکل ۱۷ – آرایش باند DNA تاس ماهی ایران با استفاده از پرایمر Ape-78 و Ape-76 و روش رنگ آمیزی نیترات نقره که بترتیب جایگاه های پلی سومیک تتراسومیک و اکتاسومیک را تکثیر کرده اند.

در گونه فیل ماهی از ۴۹ جفت پرایمرهای میکروساتلیت مطالعه شدکه ۲۹ جفت (۸۳٪) از آن ها تکثیر شد و باند ایجاد کردند در بین آنها ۱۸ جایگاه (۶۹٪) پلی مورف یا چند شکلی و ۱۱ جایگاه

(۲۴٪) مونومورف بودند. ۸ جایگاه هیچ باندی تولید نکرد و در بقیه جایگاه ها آرایش باند ها مبهم بود. الگوی باندها در جایگاه های پلی مورف فیل ماهی دیسومیک بودند .

الگوی باندهای میکروساتلیت در گونه های مختلف که توسط پرایمرهای تاس ماهی ایران تولید شده در اشکال ۱۸ الی ۲۳ آمده است.

جدول ۱۵ : مشخصات پرایمرهای اختصاصی تاس ماهی ایران شامل نام جایگاه، اندازه کلون بر حسب bp ، شماره دسترسی در بانک ژن، نوع و تعداد ردیفهای تکراری متوالی(motif)، دمای اتصال، توالی پرایمرها و نوع جایگاه که درگونه های مختلف ماهیان خاویاری دریای خزرتکثیر می نماید.

Prime	Repeat type and length	primer sequences (5' to 3')	GenBank accession no.	Product size (bp)	A. gueldenstaedtii	A. stellatus	A. nudiventris	H. huso
Ape-19	$(CA)_{14}$	F:GGGGTTAGAAAGCACAGATGA R:CAAGGTGGCACAGTGGACTA	EU483155	172	octosomic	ambiguous	disomic	disomic
Ape_20	$(GACA)_5$	F:CACTGCCTGCTGCCTAAAAC R:ACTGTGGGGCTCTGTCTGTC	EU531732	176	tetrasomic	disomic	mono	disomic
Ape_21	$(GACA)_5$	F:GGAGACAGACGAGGGAGAGA R:ATTCGGGACGTGAGACACAT	EU531733	397	week	week	week	ambiguous
Ape_22	$(GTCT)_{14}$	F:CAGAAAAACCAGCCCACAGT R:GAGAGAGAGGGAGCGACAAA	EU531734	245	octosomic	disomic	mono	disomic
Ape_23	$(CA)_{25}$	F:CCTGCCACACCTACACAGAC R:GCGCATGCCTACAACAATTT	JF781300	177	ambiguous	disomic	Ambiguous	ambiguous
Ape_24	$(CA)_{14}$	F:TGAACACAAAACACGGGACA R:TAAGGCCTTGATCGCAGAAG	EU531735	237	ambiguous	disomic	Ambiguous	ambiguous
Ape_25	$(GAGAG)_5$	F:CCCGTGTCTGTCTGTCTGTTT R:ATCTCAGCCAGGAAGAACGA	EU531736	159	tetrasomic	disomic	Disomic	mono
Ape_26	$(GA)_{38}$	F:GAGAGAGAGGGAGCGACAAA R:CAGAAAAACCAGCCCACAGT	EU531737	225	tetrasomic	mono	mono	disomic
Ape_27	$(GA)_{38}$	F:AACGAGTCCATGCTGGAGAG R:CCCCGTGTCTGTTTGTTTGT	EU531738	171	tetrasomic	disomic	disomic	mono
Ape_28	$(CTGT)_{10}$	F:CTCAGACCCGTGAGACACAA R:GCATTTCGGAGAAACCTTCA	EU531739	192	no amply	disomic	no amply	disomic
Ape_29	$(GT)_{15}$	F:TGAACACAAAACACGGGACA R:CGCACACACACGCACATA	EU531740	215	tetrasomic	mono	disomic	ambiguous
Ape_30	$(GT)_{11}$	F:AGGGCTACCTCCAGCTGTGT R:TCGCTCCTCAGACTCTGGAC	EU531741	172	tetrasomic	disomic	disomic	ambiguous

ادامه جدول ۱۵:

Prime	Repeat type and length	primer sequences (5' to 3')	GenBank accession no.	Product size (bp)	A. gueldenstaedtii	A. stellatus	A. nudiventris	H. huso
Ape_31	$(CT)_{26}$	F:GCCCCTGTGTCTGTCTGTTT R:CGTGTGTGAGCGAGATAGGA	EU531742	189	_	mono	_	mono
Ape_32	$(GACA)_{15}$	F:CAAAGAGAGAGGGAGCGACA R:CAGAAAAACCAGCCCACAGT	EU531743	227	octosomic	disomic	mono	disomic
Ape_33	$(CTAT)_9$	F:TGCTGATCTAACCATTTCTTTGC R:AAGGCACACCATCTTTGTCC	EU531744	190	tetrasomic	disomic	Disomic	disomic
Ape_34	$(CA)_{10}$	F:CCACCACCCTCCCACAATA R:GGGCAAATTGACTGCTTGAT	EU531745	162	_	mono	_	mono
Ape-35	(GACA)6	F: ACTGCCTGCTGCCTAAAACA R: CTAAGGCCTTGATCGCAGAA	JF740087	231	mono	disomic	mono	disomic
Ape-36	(CTGT)5	F: TAGCACTGGGAACAGAAGCA R: AAAGCTCCAACACATGGACA	JF740088	240	ambiguous	disomic	ambiguous	no amplify
Ape-38	(GTCT)6	F: GTGCGTGTGTGTGTGTGTGT R: GTGTGACAGTGAAGCGGAGA	JF773785	352	tetrasomic	mono	disomic	mono
Ape-39	(GA)36	F:GGAAGGGGAGAGAGAGAACG R: GCGCTGTATTGTGGTGACTG	JF773786	269	ambiguous	mono	Ambiguous	mono
Ape-40	(CA)18	F: CCGCAAACACACATACGC R: GCGCTCTCGTAGACTGTGC	JF773787	250	ambiguous	disomic	Ambiguous	disomic
Ape-42	(CT)18	F: CGTGCCCACTGTTTTACCTT R: TTGGATTCTAGGACGGTTGG	JF773788	254	no amplify	no amplify	no amplify	no amplify
Ape-43	(CT)25	F: GCCCCTGTGTCTGTCTGTTT R: GCATGTCTTTTTCCAAAGTGAA	JF773789	180	ambiguous	no amplify	ambiguous	no amplify
Ape-46	(GA)27	F: TGTGCCACAATTCACAGTCA R: CAGAGAGAGTCAGCGGGTCT	JF773790	245	octosomic	no amplify	disomic	mono
Ape-47	(GA)34	F: ATCTCAGCCAGGAAGAACGA R: GCCCCTGTGTCTGTCTGTTT	JF773791	180	tetrasomic	disomic	disomic	disomic

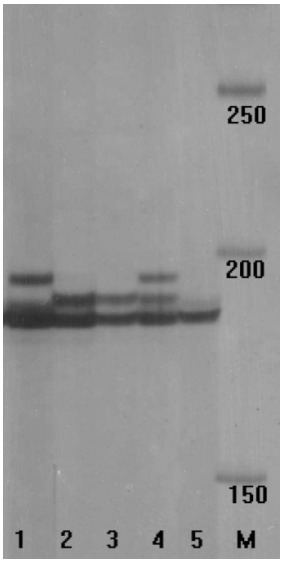
ادامه جدول ۱۵:

Prime	Repeat type and length	primer sequences (5' to 3')	GenBank accession no.	Product size (bp)	A. gueldenstaedtii	A. stellatus	A. nudiventris	H. huso
Ape-48	(GA)32	F: TGTGCCACAATTCACAGTCA R: CCACGTTTATTAACCCAAATCAA	JF773792	201	no amplify	no amplify	no amplify	no amplify
Ape-49	(GA)38	F: ATCTCAGCCAGGAAGAACGA R: GCCCCTGTGTCTGTCTGTTT	JF773793	188	tetrasomic	disomic	Disomic	no amplify
Ape-50	(CA)24	F: CCTGCTGCTGTATAAACTATGGA R: CGGACTGTGTGTCTGTCTGTC	JF773794	249	mono	disomic	mono	mono
Ape-51	$(GA)_{18}G2(GA)_{19}$	F: ATCTCAGCCAGGAAGAACGA R: CCCGTGTCTGTCTGTCTGTTT	JF773795	189	tetrasomic	disomic	disomic	Disomic
Ape-52	(CAGA)6	F:CACTGCCTGCTGCCTAAAAC R: TATTAACCCATCGGCTCCAC	JF773796	151	no amplify	mono	no amplify	mono
Ape-53	(CA)14	F: CGCACACACACGCACATA R: ACGGCACTATACGCCAAAAT	JF773797	196	week	week	week	week
Ape-55	(GA)25	F: ATCTCAGCCAGGAAGAACGA R: CCCGTGTCTGTCTGTCTGTTT	JF773798	165	tetrasomic	disomic	disomic	mono
Ape-56	(CA)11	F: TCGTCCTGCTGAAGAAGGTAA R: CGTTCTGTGGGACAGTGAGA	JF773799	146	octosomic	ambiguous	Tetrasomic	ambiguous
Ape-57	(CA)15	F: CCATGCACACGCACTAGTTT R: ATTGTCATGCCCGTTTCAGT	JF773800	218	_	no amplify	_	no amplify
Ape-58	(CA)28	F: GGACTCCAGAGACAGTGCAA R: GGACACGCATAGGTGCTTCT	JF773801	155	ambiguous	disomic	Ambiguous	disomic
Ape-59	(CA)11	F: CGTCCTGCTCAAGAAGGTAAA R: CGTCCTGCTCAAGAAGGTAAA	JF773802	110	no amplify	no amplify	no amplify	no amplify
Ape-60	(CT)25	F: TTCAGGGATCCTGTCTCCAG R: GGGGAGCAGTCACAAAGAGT	JF773803	231	mono	no amplify	no amplify	no amplify

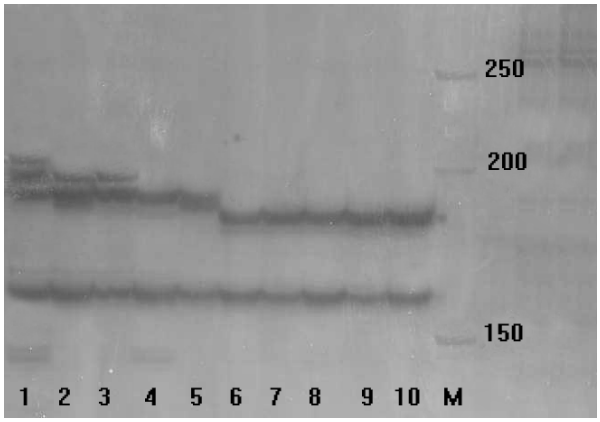
ادامه جدول ۱۵:

Prime	Repeat type and length	primer sequences (5' to 3')	GenBank accession no.	Product size (bp)	A. gueldenstaedtii	A. stellatus	A. nudiventris	H. huso
Ape-62	(CA)5[(C_2)($CA)_2$]4	F: GACTTCGCCTACAGCAGCTC R: TAGGAACCGGACACGCATAG	JF773804	385	tetrasomic	disomic	disomic	disomic
Ape-63	(GGCA)6	F: GCACTTTGTTCAGGCAGACA R: GACAGGAGGAAATGCTGGAA	JF773805	360	tetrasomic	week	mono	Disomic
Ape-64	(CAGA)12	F: GAGAGAGGGAGCGACAAACTT R: TAGCTGAGTGGGTGTGGATG	JF773806	213	mono	disomic	mono	Week
Ape-65	(GA)17CA (CAGA)9(GA)6	F: TTGAACCTTCCACATCCTGA R: CCCAAGGACCTACAGTCTGC	JF773807	154	ambiguous	disomic	Ambiguous	week
Ape-66	(GTCT)14	F: CAGAAAAACCAGCCCACAGT R: GAGAGAGAGGGAGCGACAAA	JF773808	225	octosomic	disomic	mono	Disomic
Ape-68	(GACA)5	F: AGTTCGCACTGTAGGGATTCA R:TTCGCAATTAAGGTTAAAAAGACA	JF773809	300	mono	week	Disomic	disomic
Ape-70	(CA)11	F: AGTGACCCCTCTCTCCCACT R: GTCAGGGTCAGGGTCTGTGT	JF773810	166	mono	disomic	mono	disomic
Ape-71	(GACA)15	F: GAGAGAGAGGGAGCGACAAA R: CAGAAAAACCAGCCCACAGT	JF773811	296	tetrasomic	mono	mono	-
Ape-73	(GACA)7G2(CAGA)6	F: GAGAGAGAGGGAGCGACAAA R: CAGAAAAACCAGCCCACAGT	JF773812	221	octosomic	disomic	mono	no amplify
Ape-76	(GACA)15	F: GAGAGAGAGGGAGCGACAAA R: CAGAAAAACCAGCCCACAGT	JF773813	225	tetrasomic	disomic	disomic	disomic
Ape-77	(GA)28	F: ATCTCAGCCAGGAAGAACGA R: CCCGTGTCTGTCTGTCTGTTT	JF773814	171	disomic	disomic	disomic	ambiguous
Ape-78	(CAGA)6	F: CACTGCCTGCTGCCTAAAAC R: TATTAACCCATCGGCTCCAC	JF773815	151	tetrasomic	disomic	disomic	disomic
Ape-80	(CTGT)14	F: GGGGTTCAGGAGGCTTTCTA R: GCACTTTGTTCAGGCAGACA	JF773816	228	disomic	_	mono	mono

Prime	Repeat type and length	primer sequences (5' to 3')	GenBank accession no.	Product size (bp)	A. gueldenstaedtii	A. stellatus	A. nudiventris	H. huso
Ape-62	$(CA)5[(C_2)(CA)_2]4$	F: GACTTCGCCTACAGCAGCTC R: TAGGAACCGGACACGCATAG	JF773804	385	tetrasomic	disomic	disomic	disomic
Ape-63	(GGCA)6	F: GCACTTTGTTCAGGCAGACA R: GACAGGAGGAAATGCTGGAA	JF773805	360	tetrasomic	week	mono	Disomic
Ape-64	(CAGA)12	F: GAGAGAGGGAGCGACAAACTT R: TAGCTGAGTGGGTGTGGATG	JF773806	213	mono	disomic	mono	Week
Ape-65	(GA)17CA (CAGA)9(GA)6	F: TTGAACCTTCCACATCCTGA R: CCCAAGGACCTACAGTCTGC	JF773807	154	ambiguous	disomic	Ambiguous	week
Ape-66	(GTCT)14	F: CAGAAAAACCAGCCCACAGT R: GAGAGAGAGGGAGCGACAAA	JF773808	225	octosomic	disomic	mono	Disomic
Ape-81	(GA)28	F: GGTTCCAATGTATCAGGCAAA R: GCCGAGCAGCTCCATTAG	JF773817	152	_	ambiguous	_	Ambiguous

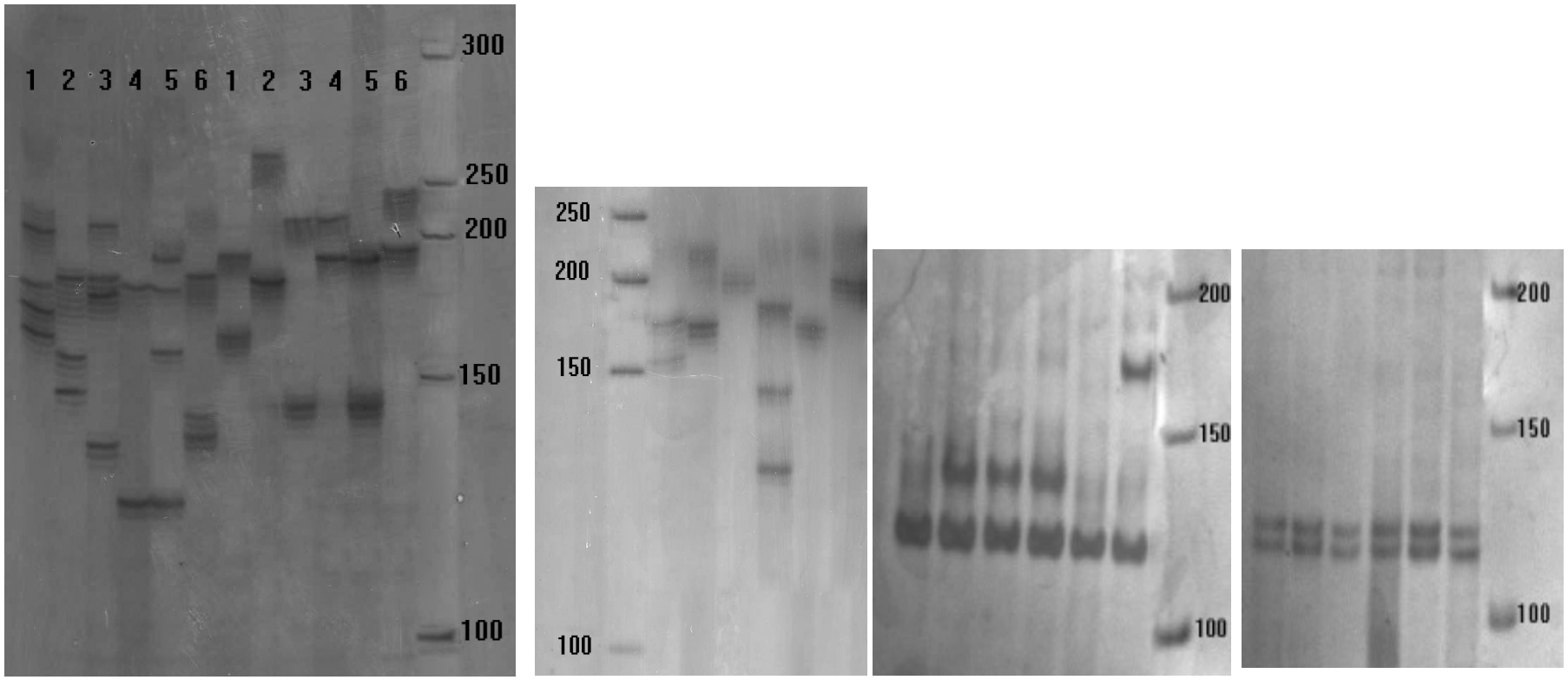


تاس ماهی ایران



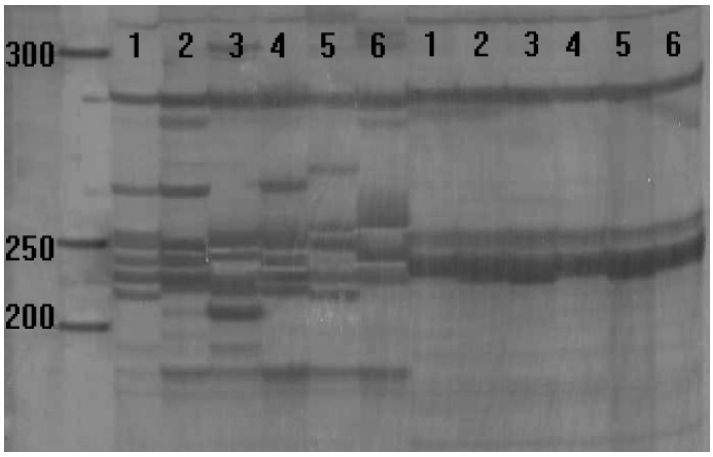
تاس ماهی روس شیپ

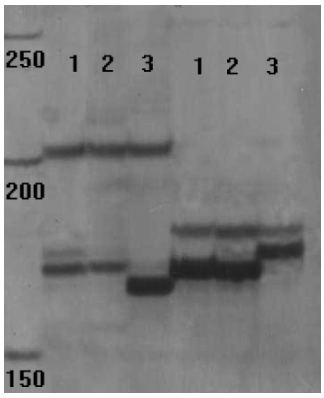
عکس ۱۸: الگوی باند های تولید شده با پرایمر Ape-20 در تاس ماهی ایران ، تاس ماهی روس و شیپ که در تاس ماهی ایران و روس جایگاه تتراسومیک و در ماهی شیپ جایگاه مونومورف را تکثیر کرده است.



تاس ماهی روس　　شیپ　　تاس ماهی ایران　　ازون برون　　فیل ماهی

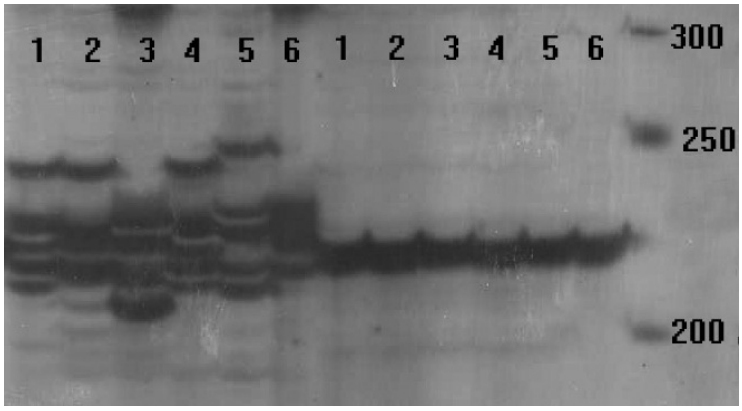
عکس ۱۹ – الگوی باند های تولید شده با پرایمر Ape-27 که در تاس ماهی ایران و تاس ماهی روس جایگاه تتراسومیک اما در ماهی شیپ، ازون برون و فیل ماهی جایگاه دیسومیک را تکثیر کرده است.





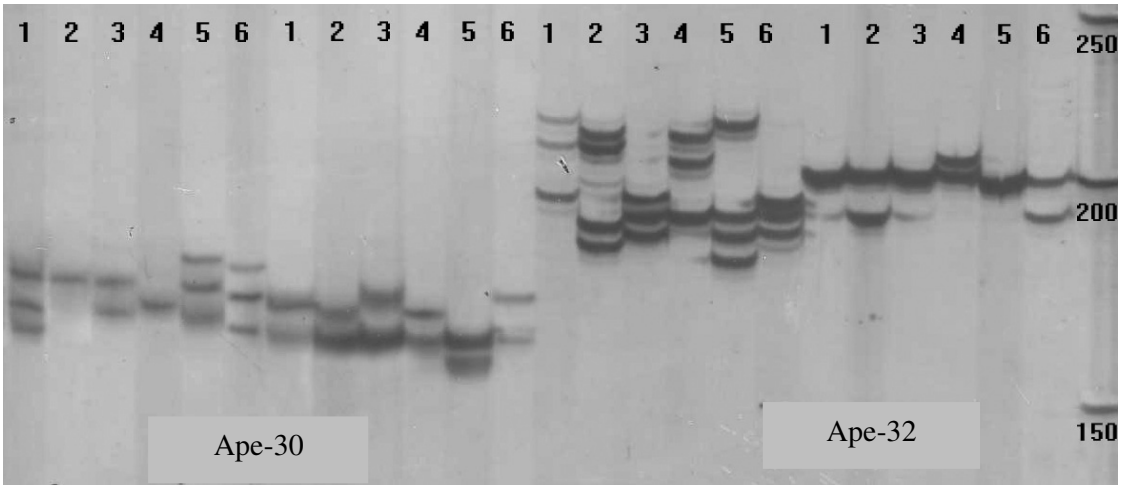
تاس ماهی روس شیپ ازون برون فیل ماهی

عکس ۲۰ – الگوی باند های تولید شده با پرایمر Ape-32 که در تاس ماهی روس جایگاه اکتاسومیک و در ماهی شیپ، مونومورف اما در ماهی ازون برون و فیل ماهی جایگاه دیسومیک را تکثیر کرده است.

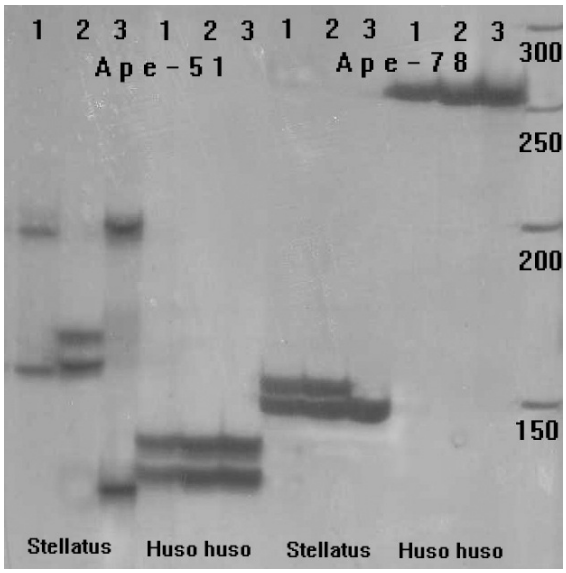


تاس ماهی روس شیپ

عکس ۲۱ – الگوی باند های تولید شده با پرایمر Ape-66 که در تاس ماهی روس جایگاه تتراسومیک و در ماهی شیپ، مونومورف را تکثیر کرده است



عکس۲۲– الگوی باند های تولید شده با پرایمر Ape-30 و Ape-32 که در تاس ماهی روس جایگاه تتراسومیک و در ماهی شیپ، جایگاه دیسومیک را تکثیر کرده است



عکس۲۳- الگوی باند های تولید شده با پرایمر Ape-51 و Ape-78که در ماهی ازون برون و فیل ماهی جایگاه های دیسومیک را تکثیر کرده اند

در سالهای اخیر نشانگر ریزماهواره برای مطالعات ژنتیک جمعیت در آبزیان بویژه ماهیان بسیار مورد استفاده قرار گرفت. اما چون ماهیان خاویاری پلی پلوئید هستند و سطوح مختلفی از پلوئیدی در این ماهیان مشاهده شده (4n, 8n, 16n) ، استفاده از میکروساتلیت ها برای مطالعات جمعیت ماهیان خاویاری با محدودیت ها و مشکلاتی مواجه است. یکی از مشکلات مهم و بالقوه در استفاده از ریزماهواره ها یا میکروساتلیت ها در ماهیان خاویاری وراثت پذیری پلی سومیک (مثلا تتراسومیک یا اکتاسومیک) آنها است. در این صورت میکروساتلیت بعنوان نشانگر بارز مورد استفاده قرار خواهد گرفت . در حالی خصوصیت هم بارز بودن این نشانگر عامل کاربرد وسیع آن است.

Birstein et al. (1997) ماهیان خاویاری را بر اساس میزان DNA سلول شان به گروه های تتراپلوئید و اکتاپلوئید طبقه بندی کرده. Ludwig et al. (2001) با استفاده از آنالیز شش جفت پرایمر میکروساتلیت تاس ماهی دریاچه ای سطوح پلوئیدی را در ماهیان خاویاری مطالعه و تعیین کردند. آنها گونه هایی با حدود ۱۲۰ کروموزم را دیپلوئید، گونه هایی با تعدادتقریبی ۲۵۰ کروموزم را به عنوان گونه های تتراپلوئید و گونه هایی با حدود ۵۰۰ کروموزم را اکتاپلوئید طبقه بندی کردند. در این بررسی در تاس ماهی ایران چهار جایگاه تتراپلوئید و یک جایگاه اوکتا پلوئید مشاهده شد و هیچکدام از جایگاه دای سومیک نبودند .بر این اساس تاس ماهی ایران تتراپلویید (4n) طبقه بندی شد.

پرایمر های میکروساتلیت در بعضی از گونه ها ماهیان خاویاری بسط یافته و طراحی شده ازجمله ماهی پاروپوزه Scaphirhynchus platorhynchus (McQuown et al., 2002) ، تاس ماهی اتلانتیک Acipenser ,

A. transmontanus (Rodzen & May, 2002) ، تاس ماهی سفید oxyrinchus oxyrinchus (King et al., 2001),
. A. fulvescens (May et al., 1997; Welsh et al., 2003) ، تاس ماهی دریاچه ای

May et al.,1997 یازده لوکوس میکروساتلیت با موتیف تری و تترامریک در ذخیره ژنومی تاس ماهی دریاچه شناسایی نمودند و بر روی هشت گونه مختلف آمریکای شمالی از جنس های Acipenser و Scaphirhynchus. شامل تاس ماهی دریاچه (A.fulvescens) ، تاس ماهی پوزه کوتاه (A.brevirostrum) ، تاس ماهی سفید (A.transmuntamus) ، تاس ماهی سبز (A.medirostris)، تاس ماهی خلیج (A.O.desotoi) ، تاس ماهی آتلانتیک (A.oxyrhynchus oxyrhynchus) و دو گونه Scahirhynchus شامل S.albus و S.platorhynchus آزمودندکه از میان آنها هشت پرایمر جایگاه میکروساتلیت را تکثیر کردند. از این هشت جایگاه ، یک جایگاه در همه گونه ها مونومورفیک بوده و هفت جایگاه باقی مانده پلی مورفیک بودند.بدین ترتیب پرایمرهای تاس ماهی دریاچه ای جایگاه های هومولوگ در دو جنس مختلف از خانواده Acipenseridae تکثیر و شناسایی نمود و بدین ترتیب استفاده از پرایمرهای یک گونه برای مطالعه سایر گونه ها امکانپذیر شد.

McQuown et al., 2000 ۱۱۳ پرایمر میکروستلایت در Scahirhynchus platorynchus طراحی کردند. پرایمرهای طراحی شده را بر روی S.albus ، A.transmuntamus ، A.fulvescens و A.medirostris آزمودند. نتایج نشان داد ۹۶ درصد پرایمرها در یک گونه یا بیشتر گونه ها تکثیر شدند. در گونه های Scahirhynchus ، ۹۳ درصد لوکوسها تکثیر شدند و ۷۶ درصد پلی مورفیک بودند. در گونه های Acipenser ، ۸۰-۶۵ درصد لوکوسها تکثیر شدند و ۵۸-۴۲ درصد پلی مورفیک بودند. در جنس Scahirhynchus اکثر جایگاه ها دیسومیک و جنس Acipenser جایگاه ها تتراسومیک یا اکتاسومیک بودند.

Welsh et al., 2003 ۲۵۴ جفت پرایمر برای تاس ماهی دریاچه ای (A.fulvescens) طراحی کردند . پرایمرهای طراحی شده ۱۲۸ جایگاه میکروستلایت در تاس ماهی دریاچه ای و تاس ماهی سبز(A.medirostris) را تکثیر کردند. در هر دو گونه تاس ماهی ۴۸ جفت پرایمر لوکوسهای پلی مورفیک را شناسایی کردند و بعلاوه ۱۴ جفت پرایمر فقط در تاس ماهی سبز به صورت پلی مورفیک تکثیر شدند. در تاس ماهی سفید ۷۹/۱٪ و تاس ماهی سبز ۶۴/۵٪ جایگاهها ، پلی سومیک بودند. این نتایج برآوردی از درجه پلوئیدی و دیپلوئیدی شدن (diploidization) در هریک از این گونه ها را تشان می داد. نکته قابل ذکر در تمام مطالعات فوق نتایج بر اساس تعداد کم نمونه (۶-۳) مورد یررسی قرار گرفت . در صورتی که تعداد نمونه افزایش یابد ممکن است بسیاری از جایگاه ها که دیسومیک مشاهده شده ، تتراسومیک ظاهر شوند.

Welsh and May (2006) گزارش نمودندکه از بین ۲۵۴ جفت پرایمر که برای تاس ماهی دریاچه ای (4n) طراحی و تولید شده بود ، فقط ۹ جفت پرایمر (۳/۵٪) دایسومیک پلی مورف بودند.

Welsh et al., 2006 همچنین با افزودن ۴ جایگاه دیسومیک که در مطالعات دیگر شناسایی شده بودند، مجموعا ۱۳ جایگاه دیسومیک پلی مورف را درتاس ماهی دریاچه ای (4n) شناسایی و برای مطالعات ژنتیک جمعیت این گونه معرفی نمودند.

تا کنون مطالعات محدودی با استفاده از نشانگر ریزماهواره در ژنتیک جمعیت ماهیان خاویاری دریای خزر انجام گرفت (خوش خلق۱۳۸۵، صفری ۱۳۸۵، نوروزی ۱۳۸۶، پورکاظمی ۱۳۸۸، Chakmehdouz et al, 2011; Moghim et al, 2009). در تمامی این مطالعات روش Cross species بکار گرفته شد و تاکنون تحقیقی در زمینه توسعه و معرفی میکروساتلیت اختصاصی ماهیان خاویاری دریای خزر و از جمله تاس ماهی ایران صورت نگرفته است.

خوش خلق (۱۳۸۵) ساختار ژنتیکی تاسماهی ایرانی و تاسماهی روسی دریای خزر را با استفاده از ۴ جفت پرایمر میکروستلایت تاس ماهی دریاچه ای (May et al.,1997) مورد بررسی قرار داد که ۳ جفت از پرایمرها پلی سومیک بودند.

پورکاظمی و همکاران (۱۳۸۸) ساختار ژنتیکی تاسماهی ایرانی را با استفاده از ۸ جفت پرایمر میکروستلایت تاس ماهی دریاچه ای (Welsh and May 2003) مورد مطالعه قرار داد که گروهی از از این پرایمرها پلی سومیک بودند.

نوروزی (۱۳۸۶) ساختار ژنتیک ازون برون دریای خزر را با استفاده از ۱۲ جفت پرایمر میکروستلایت تاس ماهی دریاچه ای و پاروپوزه (May et al.,1997; McQuown et al., 2000) مورد بررسی قرار داد. مطالعه ژنتیک جمعیت فیلماهی و شیپ نیزبا استفاده از پرایمرهای فوق انجام شد (صفری ۱۳۸۵، پورکاظمی ۱۳۸۸).

مقیم و همکاران(۲۰۰۹) برای یافتن جایگاه های دیسومیک در ژنوم تاسماهی ایرانی بمنظوراستفاده در مطالعات ساختارجمعیت ۵۴ جفت پرایمر میکروساتلیت تاس ماهی پاروپوزه را مورد بررسی قرار داد (McQuown et al., 2002) . این پرایمرها جایگاه های پلی سومیک را در تاس ماهی ایران تکثیر نمودند

در این تحقیق برای اولین بار توالی های میکروساتلیت تاس ماهی ایران شناسایی و جداسازی شدند و پرایمرهای اختصاصی گونه تاس ماهی ایران طراحی و تولید (Develop) شدند. اگرچه این پرایمرها جایگاه های پلی سومیک را در تاس ماهی ایران و روس تکثیر نمودند در سایر گونه های مورد بررسی مانند ازون برون، شیپ و فیل ماهی جایگاه های دیسومیک را نشان دادند که این نتایج با سطح پلوئیدی این گونه ها در ارتباط است.

نتایج این تحقیق نه تنها منجر به معرفی یک گروه جدید از پرایمرهای میکروساتلیت برای استفاده در مطالعات ژنتیک جمعیت تاس ماهی ایران شد ، بلکه برای سایر گونه ها ی ماهیان خاویاری دریای خزر

نیز یک گروه تازه از پرایمرهای میکروساتلیت معرفی نمود . اگرچه در مطالعه امکان استفاده از پرایمر های تاس ماهی ایران در سایر گونه های دریای خزر از تعداد محدودی نمونه (۶-۳) استفاده شد ولی جایگاه های پلی مورف تنوع بالایی را نشان دادند .بدین ترتیب از صرف هزینه و وقت برای توسعه پرایمرهای میکروساتلیت در سایر گونه ها نیز جلوگیری بعمل آورد.

به طور کلی توسعه جایگاه های دیسومیک در ماهیان خاویاری تتراپلوییید (2n=250) مانند تاس ماهی ایران و یا سطوح پلوئیدی بالاتر بسیار دشوار و با چالش روبروست .

شاید بتوان از این پرایمرها و الگوی باند های متفاوتی که در گونه های مختلف روی ژل ایجا می کنند برای شناسایی و تفکیک گونه های مختلف دریای خزر منجمله تفکیک تاس ماهی ایران و روس استفاده نمود که احتیاج به مطالعه و بررسی بیشتر دارد.

منابع:

بلیایوا،ن. ولانسکو،آ.د. وایوانوو،و.پ.۱۹۸۹.دریای خزر (ایکتیوفون وذخایر صنعتی)(ترجمه: اصلان پرویز).اکادمی علوم اتحاد شوروی(سابق)کمیته های مربوط به علوم وتکنیک هیات علمی .مربوط به مطالعات وموضوعات دریای خزر.۲۲۵ ص

بنابازی،م.۱۳۸۱..بررسی تنوع ژنتیکی در درون وبین پنج جمعیت گوسفند ایرانی با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره. پایان نامه کارشناسی ارشد علوم دامی .گرایش ژنتیک ودام، دانشکده کشاورزی ، دانشگاه تهران، ۱۳۰ ص.

پورکاظمی، محمد. ۱۳۸۸.گزارش نهایی طرح جامع ارزیابی ساختار ژنتیکی تاسماهیان دریای خزر . موسسه تحقیقات و آموزش شیلات ایران . ۳۱۶ صفحه. ۵۳-۰۰۰۱۰۴۴۱۰۷۱-۸۲

جوانروح علی اباد،ع.۱۳۸۱. بررسی تنوع ژنتیکی شش توده بز بومی ایران بااستفاده ازنشانگرهای RAPD . پایان نامه کارشناسی ارشد علوم دامی ، دانشکده کشاورزی،دانشگاه تهران،۷۴ ص

خوش خلق ، م.، ۱۳۸۵ . بررسی تنوع ژنتیکی تاس ماهی ایران و تاس ماهی روس (A.guldenstaedti و A.persicus) دریای خزر با استفاده از روش میکروستلایت . پایان نامه دکترای تخصصی شیلات. دانشگاه منابع طبیعی گرگان. ۱۵۰ ص .

صفری، م.، ۱۳۸۵. بررسی ساختار جمعیت ماهی شیپ (A.nudiventris) دریای خزر با استفاده از روش ماکروستلایت. پایان نامه کارشناسی ارشد شیلات. دانشگاه منابع طبیعی گرگان. ۱۰۸ ص.

شعبانی، ع . ۱۳۸۴. مقایسه جمعیتهای مولدین ماهی ازون برون (A.stellatus) در بخش شمالی (رودخانه ولگا) و جنوبی دریای خزر با روشهای مولکولی (PCR-RFLP) مورفولوژیکی و برخی از نرماتیوهای تکثیر آن. پایان نامه دکتری شیلات. دانشکده شیلات و محیط زیست ، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. ۱۲۰ ص .

عرفانی مقدم،وحید.۱۳۸۲.حفاظت شدگی وتوانایی ایجاد پلی مورفیسم میکروساتلایتهای EST درتعدادی از گونه های مرتعی خانواده Leguminosae ایران.پایان نامه کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی ،.دانشکده کشاورزی ،دانشگاه صنعتی اصفهان،۱۳۴ص

عطایی،ف.۱۳۸۱.بررسی تنوع ژنتیکی تاسماهی ایرانی(Acipenser persicus)در رودخانه سفیدرودبااستفاده از روش مولکولی PCR-RFLP روی mtDNA واطلاعات مورفولوژیکی. پایان نامه کارشناسی ارشد علوم جانوری،دانشکده علوم پایه،دانشگاه شهیدبهشتی،۱۵۷ ص

قاسمی، ا. ۱۳۸۲. مقایسه تنوع ژتیکی ماهی شیپ (A.nudiventris) در سواحل جنوبی دریای خزر و رودخانه اورال با استفاده از روش (PCR-RFLP). پایان نامه کارشناسی ارشد بیولوژی دریا، دانشکده علوم دریایی. دانشگاه تربیت مدرس، ۷۴ ص.

قرایی،ا،. ۱۳۸۰. تشخیص مولکولی تاس ماهی ایران و تاس ماهی روس با استفاده از روش RAPD . پایان نامه کارشناسی ارشد شیلات. دانشکده منابع طبیعی ، دانشگاه تهران، ۸۱ ص.

قره یاضی، ب. ۱۳۷۵ .کاربرد نشانگرهای DNAدر اصلاح نباتات ایران. ۴-۷ شهریور ،دانشگاه صنعتی اصفهان.

کیوان، الف،. ۱۳۸۲. ماهیان خاویاری ایران. انتشارات شرکت سهامی شیلات ایران، چاپ نقش مهر، ۴۰۰ ص.

نوروزی ، م.، ۱۳۸۶ . بررسی ساختار ژنتیکی ماهی ازون برون(A.stellatus) دریای خزر با استفاده از روش مولکولی میکروستلایت . پایان نامه دکترای تخصصی شیلات. دانشگاه آزاد، واحد علوم و تحقیقات تهران. ۱۶۹ ص .

An, Z.W., Xie, L.L., Cheng, H., Zhou, Y., Zhang, Q., He, X.G., Huang, H.S., 2009.A silver staining procedure for nucleic acids in polyacrylamide gels without fixation and pretreatment. Analytical Biochemistry, 391(1): 77-9.

Adams, B.K.,Hutchings, A.2003.Microgeographic population structure of brook charr : a comparsion of microsatellite and mark-recapture data.Jornal of Fish Biology. 62.517-533.

Armour, J.A., Neumann, R., Gobert, S., Jeffreys, A.J., 1994. Isolation of human simple repeat loci by hybridization selection. Human Molecular Genetics, 3, 599-565.

Avise, J.C., Arnold, J., Ball, R.M., Bermingham, E., Lamb, T., Neigel, J.E. , Reeb, C.A., Saunders, N.C., 1987. Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. Annu. Rev. Ecol. Syst. 18: 489–522.

Berg, L.S. 1948. The freshwater fishes of the USSR and adjacent countries, Vol. 1, Part 1. Akademia Nauk USSR, Moscow & Leningrad (in Russian, English translation published by Israel Program for Scientific Translations, Jerusalem. 505 pp.)

Birstein, V.J., Bemis, W.E., Waldman, J.R., 1997. The threatened status of Acipenseriformes species: a summary. Environ. Biol. Fishes, 48,427–435.

Carvalho, G.R., Hauser, L., 1995. Molecular genetics and the stock concept in fisheries, pp. 55–79 in Molecular Genetics of Fishes, edited by G.R. Carvalho & T.J. Pitcher. Chapman & Hall, London, UK.

Chakmehdouz Ghasemi, Pourkazemi, M., Tavakolli, M., Yarmohammadi, M., Hassanzadeh Saber M, and Baradaran Noveiri S. 2011. "Application of microsatellite markers to determine populations of the Persian sturgeon (Acipenser persicus) in the South of Caspian Sea. Iranian Journal of Fisheries Sciences.10(4) 596-606.

Crow, J.F., 1964.Hardy- Weinberg and language impediments. Genetics 152: 821-825.

Ellegren, H., 2000. Microsatellite mutation in the germ line.Trends Genet. 16, 551-558.

Ferguson, M.M., Bernatchez, L., Gatt, M., Konkle, B.R., Lee, S., Malott M.L., R.S.,McKinley, 1993. Distribution of mitochondrialDNA variation in lake sturgeon (Acipenser fulvescens) from the Moose River basin, Ontario Canada. J. Fish. Biol. 43: 91–101.

Ferguson, A.,Taggart, J. B.,Prodohl, P. A.,Mcmeel, O.,Thompson, C., Stone, C., Mcginnity, P., Hynes, R. A.1995. The application of molcular marker to the study and conservation of fish populations,with special refrence to Salmo. Jornal of Fish Biology.47(Supplement A)103-126.

Fitzsimons, N. N.; Moritz, C. and Moore, S.S., 1995.Conservation and dynamics of microsatellite Loci over 300 million years of marine turtle evolution. Mol. Biol. Evol. 12, 432-440.

Goldsteine, D. B. and C. Schlotterer. 1998. Microsatellite: Evolution and Application. Oxford university press.320 P.

Hamilton, M.B., Pincus, E.L., Fiore, A, D., Fleischer, R.C., 1999. Universal linker and ligation procedures for construction of genomic DNA libraries enriched for microsatellites. BioTechniques, 27, 500–507.

Hansen, M., 2004. Application Of Molcular Markers In Population and Conservation Genetics with Special Emphasis On Fishes. DSc thesis,100pp. Submitted to the Faculty of Natural Sciences,University of Aarhus

Holcik, J., 1989. Freshwater fishes of Europe (Vol I part II). General Introduction to Fishes and Acipenseriformes. Wiesbaden, Aula Verlag, 469 pp.

Kandpal, R.P., Kandpal, G., Weissman, S.M., 1994. Construction of libraries enriched for sequence repeats and jumping clones, and hybridization selection for region-specific markers. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA, 91, 88 -92.

King, T. L., Lubinski, B. A., Spidle, A. P,. 2001. Microsatellite DNA variation in Atlantic sturgeon (Acipenser oxyrinchus) and cross-species amplification in the Acipenseridae. Conservation Genetics 2:103-119.

Keyvanfar, A., Rochu, D., Marneux, M., Herance, N., Fine, J.M., 1987. Différenciation par focalisation isoélectrique des protéines de caviar de quatre espèces et d'une sous-espèce d'esturgeon anadrome de la mer Caspienne. C.R. Acad. Sc. Paris 304 (III), 9, 191–193.

Khoshkholgh, M., Pourkazemi, M., Nazari, S., Azizzadeh Pormehr, L. 2011. Genetic diversity in the Persian sturgeon, Acipenser percicus, from the south Caspian Sea based on mitochondrial DNA sequences of the control region. Caspian J. Env. Sci. 2011, Vol. 9 No.1 pp. 17-25.

Ludwig, A., Belfiore, N.M., Pitra, C., Svirsky, V., Jenneckens, I., 2001.Genome duplication events and functional reduction of ploidy levels in sturgeon (Acipenser, Huso and Scaphirhynchus). Genetics 158, 1203–1215.

May, B., Krueger, C. C., Kincaid. H. L.,1997. Genetic variation at microsatellite loci in sturgeon: primer sequence homology in Acipenser and Scaphirhynchus. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 54(7):1542-1547.

McQuown, E. C., Sloos, B. L., Sheehen, R. J. and May, B.,2000.Microsatellite analysis of genetic variation in sturgeon: New primer sequences for Scaphyrhinchus and Acipenser. American Fisheries Society, 129, 1380-1388.

McQuown, E. G., Gall, A.E., May, B., 2002. Characterization and inheritance of six microsatellite loci in lake sturgeon (Acipenser fulvescens). Transactions of the American Fisheries Society 131: 299-307.

Messier, W., Li, D., Stewart, C.1996.The birth of microsatellite .Nature 381,483.

Moghim, M., Kor. D., Tavakolieshkalak, M., Khoshghalb,. M.B., 2006. Stock status of Persian Sturgeon (Acipenser persicus Borodin, 1897) along the Iranian coast of the Caspian Sea. J. Applied Ichthyology.22, (suppl.1): 99-107.

Moghim, M., Heist, E.J., Tan, S.G., Pourkazemi, M., Siraj, S.S., Panadam, J.M., 2009. Amplification of microsatellite in Persian sturgeon (Acipenser persicus). Iranian Journal of Fisheries Siences. 8(1): 97-102

O'Reilly, P.,Wright, J. M. 1995.The evolving technology of DNA fingerprinting and its application to fisheries and aquaculture. Jornal of Fish Biology .47 (SupplementA) 29-55

Pervaryukha, Y., Geraskin, P.P., 1995. Report on training course on immuno-genetics and electrophoresis. International Sturgeon Research Institute. 90 pp.

Perevaryukha, Yu.N., 2002. Present state of Caspian sturgeon' biodiversity and some problems of their specific identification by molecular genetic methods. The Second National-Regional Symposium on sturgeon. Iran. Rasht. October 26-29, 2002.

Pourkazemi, M.1996. Molcular and Biochemical Genetc Analysis of sturgeon stocks from the south Caspian Sea .Ph.D Thesis.260 pp.School of Biological sciences,university of Wales,Swan Sea.

Rezvani Gilkolaei, S, 1997. Molecular population genetics studies of sturgeon species in the south Caspian Sea. Ph.D. thesis. University of Wales, Swansea.pp.247.

Rico, C., Rico, I.,Hewitt, G. 1996. 470 million years of conservation of microsatellite loci among fish species. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences 263: 549-557.

Rodzen, J. A., May. B., 2002. Inheritance of microsatellite loci in the white sturgeon (Acipenser transmontanus). Genome 45:1064-1076.

Rostami, J., 1961. Biologie et explotation des sturgeons (Acipenserides) (Aspians Narle-Duc) Meuse.France. (in French).

Ruban, G.I., Kholodova, M.V., Kalmykov, V.A. & Sorokin, P.A. 2008.Morphological and Molecular Genetic Study of the Persian Sturgeon. North 48: 891-903.

Ruban, G. I., Kholodova, M. V., Kalmykov, V. a., & Sorokin, P. a. 2011. A review of the taxonomic status of the Persian sturgeon (Acipenser persicus Borodin). Journal of Applied Ichthyology, 27(2): 470-476.

Selkoe, K. A., & Toonen, R. J. 2006. Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. Ecology Letters, 9(5), 615-629.

Tautz, D. 1989. Hyper variability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. Nucleic Acids Research. 17: 6463- 6471.

Taylor, J. S., Durkin, M. H.Breden , F.,1999.The death of a microsatellite :a phylogenetic perespective on microsatellite interruptions.Mol. Bio.Evol.14,220-229.

Vecsei, P., & Artyukhin, E., 2001.Threatened fishes of the world: Acipenser persicus Borodin, 1897 (Acipenseridae). Environmental Biology of Fishes. 61:160.

Welsh, A., Blumberg, M., May, B. 2003. Identification of microsatellite loci in lake sturgeon, Acipenser fulvescens, and their variability in green sturgeon, A. medirostris. Molecular Ecology Notes 3:47-55.

پیوست

GenBank flat file:
LOCUS JF773767 297 bp DNA linear VRT 13-APR-2011
DEFI NITION Acipenser persicus clone Ape-0l microsatellite sequence.
ACCESSION JF773767
VERSION JF773767
KEYWORDS
SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon)
ORGANISM Acipenser persicus
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae;
Acipenser.
REFERENCE 1 (bases 1 to 297)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Siraj,S.S., Panadam,J.M.,
Pourgholam,R., Pourkazemi,M. and Goroghi,A.
TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian
Sturgeon
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 297)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Siraj,S.S., Panadam,J.M.,
Pourgholam,R., Pourkazemi,M. and Goroghi,A.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (03-APR-201 1) Stock Assessment, Caspian Sea Ecology
Institute, P.O. Box961, Sari, Mazandaran48l75-1113, Iran
FEATURES Location/Qualifiers
source 1 .297
/organism=Acipenser persicus”
/mol_type=”genomic DNA”
/clone=”Ape-O1”
repeat_reg ion 1 .297
/rpt_type=tandem
/satellite=”microsatellite”
ORIGIN
1 atttcggaga aaccttcaga gagagaggga gcgacaaact tactcctgag aggagaaaga
61 agaggagaga ggagaggaga ggagaggaga gaggttaatt taacaatgtc acaaacacac
121 acagcgacag acagacagac agacagacag acagacagac agacagacag acagacagac
181 agacacagac actcacttgt agctgtggaa taccatatca ttgactgtgg gctggttttt
241 ctgcgaaggc tgcatctgac gaactggaga gaaaagaaga gatttcacct tgctgtg

LOCUS JF773768 150 bp DNA linear VRT 13-APR-2011

DEFI NITION Acipenser persicus clone Ape-02 microsatellite sequence.

ACCESSION JF773768

VERSION JF773768

KEYWORDS

SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon)

ORGANISM Acipenser persicus

Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;

Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae;

Acipenser.

REFERENCE 1 (bases ito 150)

AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Siraj,S.S., Panadam,J.M.,

Pourgholam,R., Pourkazemi,M. and Goroghi,A.

TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian

Sturgeon

JOURNAL Unpublished

REFERENCE 2 (bases ito 150)

AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Siraj,S.S., Panadam,J.M.,

Pourgholam,R., Pourkazemi,M. and Goroghi,A.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (03-APR-201 1) Stock Assessment, Caspian Sea Ecology

Institute, P.O. Box961, Sari, Mazandaran48l75-1113, Iran

FEATURES Location/Qualifiers

source 1.150

/organism=Acipenser persicus”

/mol_type=”genomic DNA”

/db_xref=”taxon:61 968”

/clone=’Ape-02”

repeat_region 1.150

/rpt_type=tandem

/satellite=”microsatellite”

ORIGIN

1 accacgactg cattcaatgc aatcaaacat accgttctgt gggacagtga gaatcattct

61 gtggggtgtt tttcaatgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgttcaaccc cactgagctt

121 agatatttac cttcttcagc aggacgaatt

LOCUS JF773769 298 bp DNA linear VRT 13-APR-2011
DEFI NITION Acipenser persicus clone Ape-03 microsatellite sequence.
ACCESSION JF773769
VERSION JF773769
KEYWORDS
SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon)
ORGANISM Acipenser persicus
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae;
Acipenser.
REFERENCE 1 (bases 1 to 298)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Siraj,S.S., Panadam,J.M.,
Pourgholam,R., Pourkazemi,M. and Goroghi,A.
TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian
Sturgeon
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 298)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Siraj,S.S., Panadam,J.M.,
Pourgholam,R., Pourkazemi,M. and Goroghi,A.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (03-APR-201 1) Stock Assessment, Caspian Sea Ecology
Institute, P.O. Box961, Sari, Mazandaran48l75-1113, Iran
FEATURES Location/Qualifiers
source 1 . .298
/organism=Acipenser persicus”
/mol_type=”genomic DNA”
/db_xref=”taxon:61 968”
/clone=”Ape-03”
repeat_reg ion 1 . .298
/rpt_type=tandem
/satellite=’microsatellite”
ORIGIN
1 atttcggaga aaccttcaga gagagaggga gcgacaaact tactcctgag aggagaaaga
61 agaggagaga ggagaggaga ggagaggaga gaggttaatt taacaatgtc acaaacacac
121 acagcgacag acagacagac agacagacag acagacagac agacagacag acagacagac
181 agacacagac actcacttgt agctgtggaa taccatatca ttgactgtgg gctggttttt
241 ctgcgagggc tgcatctgac gaaactgana ngaagaaaag agatttcaca tttgctgt

LOCUS JF773770 263 bp DNA linear VRT 13-APR-2011
DEFI NITION Acipenser persicus clone Ape-04 microsatellite sequence.
ACCESSION JF773770
VERSION JF773770
KEYWORDS
SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon)
ORGANISM Acipenser persicus
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae;
Acipenser.
REFERENCE 1 (bases 1 to 263)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Siraj,S.S., Panadam,J.M.,
Pourgholam,R., Pourkazemi,M. and Goroghi,A.
TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian
Sturgeon
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 263)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Siraj,S.S., Panadam,J.M.,
Pourgholam,R., Pourkazemi,M. and Goroghi,A.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (03-APR-201 1) Stock Assessment, Caspian Sea Ecology
Institute, P.O. Box961, Sari, Mazandaran48l75-1113, Iran
FEATURES Location/Qualifiers
source 1 . .263
/organism=Acipenser persicus”
/mol_type=’genomic DNA”
/db_xref=”taxon:61 968”
/clone=”Ape-04”
repeat_reg ion 1 . .263
/rpt_type=tandem
/satellite=’microsatellite”
ORIGIN
1 acaaaaatct tcactaacat acaattgaac aagaactact gcaatctaat caggactgat
61 aaaggcacga cgctacaact acagaattcc actgtatata cacacacaca cacacacgtg
121 tgcagtatta tacatattat ttcttctggg gacacggtat ttgtcaggtt gagatgaact
181 gatgagtttc catcaatgga tattgtgatc ctctcccgct aggagctttt gattcactcg
241 cagtcattaa agccatcgaa atg

LOCUS JF773771 253 bp DNA linear VRT 13-APR-2011
DEFI NITION Acipenser persicus clone Ape-05 microsatellite sequence.
ACCESSION JF773771
VERSION JF773771
KEYWORDS
SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon)
ORGANISM Acipenser persicus
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae;
Acipenser.
REFERENCE 1 (bases 1 to 253)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Siraj,S.S., Panadam,J.M.,
Pourgholam,R., Pourkazemi,M. and Goroghi,A.
TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian
Sturgeon
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 253)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Siraj,S.S., Panadam,J.M.,
Pourgholam,R., Pourkazemi,M. and Goroghi,A.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (03-APR-201 1) Stock Assessment, Caspian Sea Ecology
Institute, P.O. Box961, Sari, Mazandaran48l75-1113, Iran
FEATURES Location/Qualifiers
source 1 . .253
/organism=Acipenser persicus”
/mol_type=”genomic DNA”
/db_xref=’taxon:61 968”
/clone=”Ape-OS”
repeat_reg ion 1 . .253
/rpt_type=tandem
/satellite=”microsatellite”
ORIGIN
1 caccacagct cccagttcac tgaaccattg gagtattgag gcactgcctg ctgcctaaaa
61 cagcagacag acagacagac agacagacac agagccccac aatcctgttc agtctgacac
121 tacaatagaa ttccttgttg gtgtgcgttt actgttgggc aatgtagaga aagtggagcc
181 gatgggttaa taaacccccc ccccctctct acaggggcag gcgaggctaa cttcgacgct
241 ctggactcga acc

LOCUS JF773772 302 bp DNA linear VRT 13-APR-2011
DEFI NITION Acipenser persicus clone Ape-06 microsatellite sequence.
ACCESSION JF773772
VERSION JF773772
KEYWORDS
SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon)
ORGANISM Acipenser persicus
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae;
Acipenser.
REFERENCE 1 (bases 1 to 302)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Siraj,S.S., Panadam,J.M.,
Pourgholam,R., Pourkazemi,M. and Goroghi,A.
TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian
Sturgeon
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 302)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Siraj,S.S., Panadam,J.M.,
Pourgholam,R., Pourkazemi,M. and Goroghi,A.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (03-APR-201 1) Stock Assessment, Caspian Sea Ecology
Institute, P.O. Box961, Sari, Mazandaran48l75-1113, Iran
FEATURES Location/Qualifiers
source 1.302
/organism=’Acipenser persicus”
/mol_type=”genomic DNA”
/db_xref=”taxon:61 968”
/clone=”Ape-06”
repeat_reg ion 1 . .302
/rpt_type=tandem
/satellite=”microsatellite”
ORIGIN
1 atttcggaga aaccttcaga gagagaggga gcgacaaact tactcctgag aggagaaaga
61 agaggagaga ggagaggaga ggagaggaga gaggttaatt taacaatgtc acaaacacac
121 acagtgacag acagacagac agacagacag acagacagac agacagacag acagacagac
181 agacagacac agacactcac ttgtagctgt ggaataccat atcattgact gtgggctggt
241 ttttctgcna gggctgcatc tgacgaaact ganagaagag aagagatttc acattgctgt
301 gc

LOCUS JF773773 411 bp DNA linear VRT 13-APR-2011
DEFI NITION Acipenser persicus clone Ape-07 microsatellite sequence.
ACCESSION JF773773
VERSION JF773773
KEYWORDS
SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon)
ORGANISM Acipenser persicus
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae;
Acipenser.
REFERENCE 1 (bases it o 411)
AUTHORS MoghimM., Heist,E.J., Tan,S.G., Siraj,S.S., Panadam,J.M.,
Pourgholam,R., Pourkazemi,M. and Goroghi,A.
TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian
Sturgeon
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases it o 411)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Siraj,S.S., Panadam,J.M.,
Pourgholam,R., Pourkazemi,M. and Goroghi,A.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (03-APR-2011) Stock Assessment, Caspian Sea Ecology
Institute, P.O. Box96i, Sari, Mazandaran48i75-iii3, Iran
FEATURES Location/Qualifiers
source 1.411
/organism=Acipenser persicus”
/mol_type=”genomic DNA”
/db_xref=”taxon:61 968”
/clone=’Ape-07”
repeat_region 1.411
/rpt_type=tandem
/satellite=”microsatellite”
ORIGIN
1 aattcgcctg cacaccagca ttcagggatc ctgtctccag ctttctgcag ttttaagaag
61 tcttacaaaa ccgtggtgga gaattagaaa ttaatgagca cagcttccgt gactagaggc
121 tttagctgtc ggcaaaatcc atgcagagag agtcagcggg tctcctctct ctctctctct
181 ctctctctgt ntctcnctct ytctctcccc ctmccctctc tctctgtgtg tctctctctc
241 tctctctctc tcttacaccc tctctctctc tctctccatt aaagacttgg cagaacgaat
301 ctatctcctt gtaaaagatc catacatagt gtagattaat cagacgctgc tctggtctct
361 gacagccctg actgtgaatt gtggcacaat tgatagttct gggtgttttg t

LOCUS JF773774 491 bp DNA linear VRT 13-APR-2011
DEFI NITION Acipenser persicus clone Ape-08 microsatellite sequence.
ACCESSION JF773774
VERSION JF773774
KEYWORDS
SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon)
ORGANISM Acipenser persicus
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae;
Acipenser.
REFERENCE 1 (bases 1 to 491)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Siraj,S.S., Panadam,J.M.,
Pourgholam,R., Pourkazemi,M. and Goroghi,A.
TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian
Sturgeon
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 491)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Siraj,S.S., Panadam,J.M.,
Pourgholam,R., Pourkazemi,M. and Goroghi,A.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (03-APR-201 1) Stock Assessment, Caspian Sea Ecology
Institute, P.O. Box961, Sari, Mazandaran48l75-1113, Iran
FEATURES Location/Qualifiers
source 1.491
/organism=Acipenser persicus”
/mol_type=”genomic DNA”
/db_xref=”taxon:61 968”
/clone=”Ape-08”
repeat_reg ion 1 . .491
/rpt_type=tandem
/satellite=”microsatellite”
ORIGIN
1 agttcgcccg agttccctgt ggctttgctg ccatgaaaga cgtgcggacc ggcagccacg
61 aggaccggtg agagtgactc ccagcgccag cccctgtgtc tgtctgtttg ttccacagtg
121 cctgtgtgtg tgtgggtgtc tctgagtctc tctctctctc tctctctctc tctctctctc
181 tctctctctc tctctctctc tctctctctc tctctctctc tctctctctc gcacacacac
241 caaagaattt cccttaaaag aaattgcagt gggtctccaa tccctggcca cctaatgagg
301 cgataccaga gctggcagtt tgtaaatgga ttttcaagga aatttaccca tcaaagtatg
361 caggatattg gcaaatctct ggcaggaaca acagacttac actttgtgca ttaaaaaaaa
421 acactccctt tctttcactg atgatcacaa tgcagctagc taatacatag gcatggacta
481 aatagtgaaa t

LOCUS JF773775 555 bp DNA linear VRT 13-APR-2011
DEFI NITION Acipenser persicus clone Ape-09 microsatellite sequence.
ACCESSION JF773775
VERSION JF773775
KEYWORDS
SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon)
ORGANISM Acipenser persicus
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae;
Acipenser.
REFERENCE 1 (bases 1 to 555)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Siraj,S.S., Panadam,J.M.,
Pourgholam,R., Pourkazemi,M. and Goroghi,A.
TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian
Sturgeon
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 555)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Siraj,S.S., Panadam,J.M.,
Pourgholam,R., Pourkazemi,M. and Goroghi,A.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (03-APR-201 1) Stock Assessment, Caspian Sea Ecology
Institute, P.O. Box961, Sari, Mazandaran48l75-1113, Iran
FEATURES Location/Qualifiers
source 1.555
/organism=Acipenser persicus”
/mol_type=”genomic DNA”
/db_xref=’taxon:61 968”
/clone=”Ape-09”
repeat_reg ion 1 .555
/rpt_type=tandem
/satellite=”microsatellite”
ORIGIN
1 catttcactg ccacatttgc ttaaggataa tacaacttct cagaggtaac attactacac
61 agaatcaaca aatgaaccag ccctgtaata cctatagatg atcaatagtg aaaagaaagc
121 attgacttca ttttatgtgg tagatgcata ctggatcagc tccagtttgc agtgcatgca
181 gattaccatt ggcaccttga atatgtgttc acctgtcgtg gcagtcccct ttgattcatt
241 cccggtttcc actgtaaata tcaatagttt agcaggtcca acccagcgca ccacaagcaa
301 aacaagctgc agtttaacac atccaagaaa taaaccaggg gtcattgttc tctctctctc
361 tctctctctc tctctctctc tctctctctc tctctctctc tctctctctc tctctctctc
421 cattaaagac ttggcagaac gaatctatct ccttgtaaaa gatccatata tagtgtagat
481 taatcaggcg ctgctctggt ctctgacagc cctgactgtg aattgtggca caattgatag
541 ttctgggtgt tttgt

LOCUS JF773776 302 bp DNA linear VRT 13-APR-2011
DEFI NITION Acipenser persicus clone Ape- 10 microsatellite sequence.
ACCESSION JF773776
VERSION JF773776
KEYWORDS
SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon)
ORGANISM Acipenser persicus
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae;
Acipenser.
REFERENCE 1 (bases 1 to 302)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Siraj,S.S., Panadam,J.M.,
Pourgholam,R., Pourkazemi,M. and Goroghi,A.
TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian
Sturgeon
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 302)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Siraj,S.S., Panadam,J.M.,
Pourgholam,R., Pourkazemi,M. and Goroghi,A.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (03-APR-201 1) Stock Assessment, Caspian Sea Ecology
Institute, P.O. Box961, Sari, Mazandaran48l75-1113, Iran
FEATURES Location/Qualifiers
source 1.302
/organism=”Acipenser persicus”
/mol_type=”genomic DNA”
/db_xref=’taxon:61 968”
/clone=”Ape- 10
repeat_reg ion 1 . .302
/rpt_type=tandem
/satellite=”microsatellite”
ORIGIN
1 atttcggaga aaccttcaga gagagaggga gcgacaaact tactcctgag aggagaaaga
61 agaggagaga ggagaggaga ggagaggaga gaggttaatt taacaatgtc acaaacacac
121 acagtgacag acagacagac agacagacag acagacagac agacagacag acagacagac
181 acagacactc acttgtagct gtggaatacc atatcattga ctgtgggctg gtttttctgc
241 gagggctgca tctgacgaaa ctgagagaag agaagagatt tcacattgct gtgcttctgc
301 ga

LOCUS JF773777 261 bp DNA linear VRT 13-APR-2011
DEFINITION Acipenser persicus clone Ape-11 microsatellite sequence.
ACCESSION JF773777
VERSION JF773777
KEYWORDS
SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon)
ORGANISM Acipenser persicus
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae;
Acipenser.
REFERENCE 1 (bases 1 to 261)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Siraj,S.S., Panadam,J.M.,
Pourgholam,R., Pourkazemi,M. and Goroghi,A.
TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian
Sturgeon
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 261)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Siraj,S.S., Panadam,J.M.,
Pourgholam,R., Pourkazemi,M. and Goroghi,A.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (03-APR-2011) Stock Assessment, Caspian Sea Ecology
Institute, P.O. Box96i, Sari, Mazandaran48i75-iii3, Iran
FEATURES Location/Qualifiers
source 1..261
/organism=Acipenser persicus”
/mol_type=”genomic DNA”
/db_xref=”taxon:6i 968”
/clone=’Ape-11”
repeat_reg ion 1 . .261
/rpt_type=tandem
/satellite=”microsatellite”
ORIGIN
1 accacagctc ccagttcact gaaccattgg agtattgagg cactgcctgc tgcctaaaac
61 agcagacaga cagacagaca gacagacaca gagccccaca atcctgttca gtctgacact
121 acaatagaat tccttgttgg tgtgcgttta ctgttgggca atgtagagaa agtggagccg
181 atgggttaat aaaccccctc cccctctcta caggggcagg cgaggctaac ttcgacgctc
241 tggactcgaa cgcttctgcg a

LOCUS JF773778 298 bp DNA linear VRT13-APR-2011

DEFI NITION Acipenser persicus clone Ape- 12 microsatellite sequence.

ACCESSION JF773778

VERSION JF773778

KEYWORDS

SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon)

ORGANISM Acipenser persicus

Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;

Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae;

Acipenser.

REFERENCE 1 (bases 1 to 298)

AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Siraj,S.S., Panadam,J.M.,

Pourgholam,R., Pourkazemi,M. and Goroghi,A.

TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian

Sturgeon

JOURNAL Unpublished

REFERENCE 2 (bases 1 to 298)

AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Siraj,S.S., Panadam,J.M.,

Pourgholam,R., Pourkazemi,M. and Goroghi,A.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (03-APR-201 1) Stock Assessment, Caspian Sea Ecology

Institute, P.O. Box961, Sari, Mazandaran48l75-1113, Iran

FEATURES Location/Qualifiers

source 1 . .298

/organism=”Acipenser persicus”

/mol_type=”genomic DNA”

/db_xref=”taxon:61 968”

/clone=”Ape- 12”

repeat_region 1 . .298

/rpt_type=tandem

/satellite=”microsatellite”

ORIGIN

1 agttcaacaa ccacttatta aacatttaca caccgataca ataggattga cattgttttc

61 aatggtaaca gacagctatc ctcattatag cagaatgcaa gtaatttttc tatgacagcc

121 ttcaacattc tccttattga gggggatttc tttctcttct cttctcctct ctctctctct

181 ctctctctct ctcaagcctg ttttggcaag aacacttgtt ttcgtaacgt ttccatttgg

241 ggaaaaatcg ttgtgaatgc caagcagcct gccgtcacat ttacagacat ttttaaaa

LOCUS JF773779 292 bp DNA linear VRT 13-APR-2011
DEFI NITION Acipenser persicus clone Ape- 13 microsatellite sequence.
ACCESSION JF773779
VERSION JF773779
KEYWORDS
SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon)
ORGANISM Acipenser persicus
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae;
Acipenser.
REFERENCE 1 (bases 1 to 292)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Siraj,S.S., Panadam,J.M.,
Pourgholam,R., Pourkazemi,M. and Goroghi,A.
TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian
Sturgeon
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 292)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Siraj,S.S., Panadam,J.M.,
Pourgholam,R., Pourkazemi,M. and Goroghi,A.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (03-APR-201 1) Stock Assessment, Caspian Sea Ecology
Institute, P.O. Box961, Sari, Mazandaran48l75-1113, Iran
FEATURES Location/Qualifiers
source 1 . .292
/organism=”Acipenser persicus”
/mol_type=”genomic DNA
/db_xref=”taxon:61 968”
/clone=’Ape- 13”
repeat_reg ion 1 . .292
/rpt_type=tandem
/satellite=’microsatellite”
ORIGIN
1 acagcaatgt gaaatctctt ctcttctctc agtttcgtca gatgcagccc tcgcagaaaa
61 accagcccac agtcaatgat atggtattcc acagctacaa gtgagtgtct gtgtctgtct
121 gtctgtctgt ctgtctgtct gtctgtctgt ctgtctgtct gtctgtcact gtgtgtgttt
181 gtgacattgt taaattaacc tctctcctct cctctcctct cctctctcct cttctttctc
241 ctctcaggag taagtttgtc gctccctctc tctctgaagg tttctccaaa at

LOCUS JF773780 250 bp DNA linear VRT 13-APR-2011
DEFI NITION Acipenser persicus clone Ape- 14 microsatellite sequence.
ACCESSION JF773780
VERSION JF773780
KEYWORDS
SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon)
ORGANISM Acipenser persicus
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae;
Acipenser.
REFERENCE 1 (bases 1 to 250)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Siraj,S.S., Panadam,J.M.,
Pourgholam,R., Pourkazemi,M. and Goroghi,A.
TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian
Sturgeon
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 250)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Siraj,S.S., Panadam,J.M.,
Pourgholam,R., Pourkazemi,M. and Goroghi,A.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (03-APR-201 1) Stock Assessment, Caspian Sea Ecology
Institute, P.O. Box961, Sari, Mazandaran48l75-1113, Iran
FEATURES Location/Qualifiers
source 1 . .250
/organism=Acipenser persicus”
/mol_type=”genomic DNA”
/db_xref=”taxon:61 968”
/clone=”Ape- 14”
repeat_reg ion 1 . .250
/rpt_type=tandem
/satellite=”microsatellite”
ORIGIN
1 atttcgtgtc tgtccttaat tggtgaaatt cataccgtct aattctcgat tacaaaaaga
61 gagagagaga gagagagaga gagagagaga gagagagaga gagggagaga gagagagaga
121 gagagagaga gagagagaga cgccacggac attgtgagat ttacagtatt tacaaaacat
181 ctggatccac tttatgaact ctaaaaataa caaataaata aaagcactgt gcttctgcga
241 tcaaggcctt

LOCUS JF773784 256 bp DNA linear VRT 13-APR-2011
DEFI NITION Acipenser persicus clone Ape- 18 microsatellite sequence.
ACCESSION JF773784
VERSION JF773784
KEYWORDS
SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon)
ORGANISM Acipenser persicus
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae;
Acipenser.
REFERENCE 1 (bases 1 to 256)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Siraj,S.S., Panadam,J.M.,
Pourgholam,R., Pourkazemi,M. and Goroghi,A.
TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian
Sturgeon
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 256)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Siraj,S.S., Panadam,J.M.,
Pourgholam,R., Pourkazemi,M. and Goroghi,A.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (03-APR-201 1) Stock Assessment, Caspian Sea Ecology
Institute, P.O. Box961, Sari, Mazandaran48l75-1113, Iran
FEATURES Location/Qualifiers
source 1 . .256
/organism=Acipenser persicus”
/mol_type=”genomic DNA”
/db_xref=”taxon:61 968”
/clone=”Ape- 18”
repeat_reg ion 1 . .256
/rpt_type=tandem
/satellite=”microsatellite”
ORIGIN
1 acggagggac agggttccag gggtcttacg cgtcnatgtc ctgcagcagg tccagtttgc
61 tggggaagat ttcagagagc agcactctaa cnaacgggag accgagggcc tgtanacgat
121 actcaaggtg ctgcanagag agagagagag agagagagag agagagggag atacatgacc
181 tgnagaagag agagagagag agagatagag agagaggaga ggagagagag agagagagag
241 gactttgact tttagt

NCBI Nucleotide My NCBI [Sign In] [Register]
PubMed Nucleotide Protein Genome Structure PMC Taxonomy OMIM Books
Search CoreNucleotide for Go Clear
Limits Preview/Index History Clipboard Details
Display GenBank Show 5 Send to Hide: sequence all but gene, CDS and mRNA features
Range: from begin to end Reverse complemented strand Features: + Refresh

1: EU483155. Reports Acipenser persicu...[gi:169125790] Links

Features Sequence

LOCUS EU483155 236 bp DNA linear VRT 04-MAR-2008
DEFINITION Acipenser persicus clone Ape-19 microsatellite sequence. ACCESSION EU483155
VERSION EU483155.1 GI:169125790
KEYWORDS .
SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon) ORGANISM
Acipenser persicus
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi; Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae; Acipenser.
REFERENCE 1 (bases 1 to 236)
AUTHORS Moghim,M., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Panandam,J.M., Siraj,S.S. and Heist,E.J.
TITLE Isolation and characterization of microsatellite in Persian sturgeon
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 236)
AUTHORS Moghim,M., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Panandam,J.M., Siraj,S.S. and Heist,E.J.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (11-FEB-2008) Stock Assessment, Caspian Sea Ecological, Sari, Mazandaran, Iran
FEATURES Location/Qualifiers
source 1..236
/organism="Acipenser persicus"
/mol_type="genomic DNA"
/db_xref="taxon:61968"
/clone="Ape-19"
repeat_region 1..236
/note="microsatellite"
/rpt_type=tandem
ORIGIN

1 actcaacctg ggggggttta gaaagcacag atgagcctct ttctctgatt acacacacac
61 acacacacac acacacacac tcaccactcc ctgacattca gttctgggcc tctgtcacgt
121 agactgagaa tggtgctcag gtcaggagtg aaaagctagc agatttagtc cactgtgcca
181 ccttgcgttc acttacgcct aaataatcct cagcatgtgt ttgggggagg aagggt

NCBI Entrez Nucleotide
My NCBI [Sign In] [Register]
PubMed Nucleotide Protein Genome Structure PMC Taxonomy OMIM Books
Search CoreNucleotide for Go Clear
Limits Preview/Index History Clipboard Details
Display GenBank Show 5 Send to Hide: sequence all but gene, CDS and mRNA features
Range: from begin to end Reverse complemented strand Features: + Refresh

1: EU531732. Reports Acipenser persicu...[gi:170676426] Links

Features Sequence

LOCUS EU531732 365 bp DNA linear VRT 29-MAR-2008
DEFINITION Acipenser persicus clone Ape-20 microsatellite sequence. ACCESSION EU531732
VERSION EU531732.1 GI:170676426
KEYWORDS .
SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon) ORGANISM
Acipenser persicus
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi; Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae; Acipenser.
REFERENCE 1 (bases 1 to 365)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S. and Panandam,J.M.
TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian Sturgeon
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 365)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S. and Panandam,J.M. TITLE
Direct Submission
JOURNAL Submitted (29-FEB-2008) Stock Assessment Dept, Caspian Sea Ecology Institute, P.O. Box 961, Sari, Mazandaran 48175-1113, Iran
FEATURES Location/Qualifiers source
1..365
/organism="Acipenser persicus"
/mol_type="genomic DNA"
/db_xref="taxon:61968"
/clone="Ape-20"
repeat_region 1..365
/note="microsatellite"
/rpt_type=tandem

ORIGIN

61 agcagacaga cagacagaca gacatacaca gagccccaca atcctgttta gtttgacact
121 acaatataat tgcttcttct tggtgtctct gttagtttac tccattctac cagagtttag
181 tttcattaaa gctgcagaca gacagagccc cacagtcctg ttcagtctga cactacaata
241 gaattccttg ttggcgtgcg tttactgttg ggcaatgtag agaaagtgga gccgatgggt
301 taataaaccc ccccccctct ctacaggggc aggcgaggct aacttcgacg ctctggactc
361 gaacc

C
t
g
c

NCBI Nucleotide
My NCBI [Sign In] [Register]
PubMed Nucleotide Protein Genome Structure PMC Taxonomy OMIM Books
Search CoreNucleotide for Go Clear
Limits Preview/Index History Clipboard Details
Display GenBank Show 5 Send to Hide: sequence all but gene, CDS and mRNA features
Range: from begin to end Reverse complemented strand Features: + Refresh

1: EU531733. Reports Acipenser persicu...[gi:170676427] Links

Features Sequence

LOCUS EU531733 636 bp DNA linear VRT 29-MAR-2008
DEFINITION Acipenser persicus clone Ape-21 microsatellite sequence. ACCESSION EU531733
VERSION EU531733.1 GI:170676427
KEYWORDS .
SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon) ORGANISM
Acipenser persicus
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi; Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae; Acipenser.
REFERENCE 1 (bases 1 to 636)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S. and Panandam,J.M.
TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian Sturgeon
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 636)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S. and Panandam,J.M. TITLE
Direct Submission
JOURNAL Submitted (29-FEB-2008) Stock Assessment Dept, Caspian Sea Ecology Institute, P.O. Box 961, Sari, Mazandaran 48175-1113, Iran
FEATURES Location/Qualifiers source
1..636
/organism="Acipenser persicus"
/mol_type="genomic DNA"
/db_xref="taxon:61968"
/clone="Ape-21"
repeat_region 1..636
/note="microsatellite"
/rpt_type=tandem

ORIGIN
1 actgggagca gtttggctcc gccccctccg aggggttgga ccccgccctc gcggacagga
61 agaggaggcg gaacctgcag ctggtggggt gctgcgtgct ggtgatgctg gccagcctgg
121 gggcgcacta cttcggattc aggtaggggg cgccctcgag cagggctagt cagtcagggt
181 gcgagcacgt agaccagcac agaaacctgg accaggggac acggtgtgac agtgaagcgg
241 agacagacga gggagagaca gacacactga gagacacaga gacacacgga cacaccaaga
301 cagacagaca gacagacaca ctgacacaca gagacagaca gacagacaca ctgacacaga
361 cagacacact tactctcaga cagacacatt gacacacaga cagacagaca gacagacaga
421 cagacagact gacacacaga gacagacaga cagacacact gacacacaga gacagacaga
481 ctgacacact gacacagaga cagacaaaca gagacagaca gacacattga cacacagaga
541 cagacagaca cacacactca cacacactca gacacactga cacacagaga cagacacact
601 gacacactga cactgatgtg tctcacgtcc cgaatt

//

NCBI Entrez Nucleotide
My NCBI [Sign In] [Register]
PubMed Nucleotide Protein Genome Structure PMC Taxonomy OMIM Books
Search CoreNucleotide for Go Clear
Limits Preview/Index History Clipboard Details
Display GenBank Show 5 Send to Hide: sequence all but gene, CDS and mRNA features
Range: from begin to end Reverse complemented strand Features: + Refresh

1: EU531734. Reports Acipenser persicu...[gi:170676428] Links

Features Sequence

LOCUS EU531734 296 bp DNA linear VRT 29-MAR-2008
DEFINITION Acipenser persicus clone Ape-22 microsatellite sequence. ACCESSION EU531734
VERSION EU531734.1 GI:170676428
KEYWORDS .
SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon) ORGANISM
Acipenser persicus
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi; Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae; Acipenser.
REFERENCE 1 (bases 1 to 296)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S. and Panandam,J.M.
TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian Sturgeon
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 296)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S. and Panandam,J.M. TITLE
Direct Submission
JOURNAL Submitted (29-FEB-2008) Stock Assessment Dept, Caspian Sea Ecology Institute, P.O. Box 961, Sari, Mazandaran 48175-1113, Iran
FEATURES Location/Qualifiers
source 1..296
/organism="Acipenser persicus"
/mol_type="genomic DNA"
/db_xref="taxon:61968"
/clone="Ape-22"
repeat_region 1..296
/note="microsatellite"
/rpt_type=tandem

ORIGIN
1 acagcaatg gaaatctctt ctcttctctc agtttcgtca gatgcagccc tcgcagaaaa
61 accagcccac agtcaatgat atggtattcc acagctacaa gtgagtgtct gtgtctgtct
121 gtctgtctgt ctgtctgtct gtctgtctgt ctgtctgtct gtctgtctgt cactgtgtgt
181 gtttgtgaca ttgttaaatt aacctctctc ctctcctctc ctctcctctc tcctcttctt
241 tctcctctca ggagtaagtt tgtcgctccc tctctctctg aaggtttctc cgaaat

//

NCBI Nucleotide My NCBI [Sign In] [Register]
PubMed Nucleotide Protein Genome Structure PMC Taxonomy OMIM Books
Search CoreNucleotide for Go Clear
Limits Preview/Index History Clipboard Details
Display GenBank Show 5 Send to Hide: sequence all but gene, CDS and mRNA features
Range: from begin to end Reverse complemented strand Features: + Refresh

1: EU531735. Reports Acipenser persicu...[gi:170676429] Links

Features Sequence

LOCUS EU531735 260 bp DNA linear VRT 29-MAR-2008
DEFINITION Acipenser persicus clone Ape-24 microsatellite sequence. ACCESSION EU531735
VERSION EU531735.1 GI:170676429
KEYWORDS .
SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon) ORGANISM
Acipenser persicus
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi; Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae; Acipenser.
REFERENCE 1 (bases 1 to 260)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S. and Panandam,J.M.
TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian Sturgeon
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 260)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S. and Panandam,J.M. TITLE
Direct Submission
JOURNAL Submitted (29-FEB-2008) Stock Assessment Dept, Caspian Sea Ecology Institute, P.O. Box 961, Sari, Mazandaran 48175-1113, Iran
FEATURES Location/Qualifiers source
1..260
/organism="Acipenser persicus"
/mol_type="genomic DNA"
/db_xref="taxon:61968"
/clone="Ape-24"
repeat_region 1..260
/note="microsatellite"
/rpt_type=tandem

ORIGIN

1 acgcacacac acgcacatac atacacacac acacacacac acacacacac actcactgtg
61 ttgttattac cagtagaaag acaataatat atacacatac actaatcgat aagaaaaata
121 catccagcct aataaacaag atatgcaata agaacaacgt tttttgtttg tctttttatt
181 ttggcgtata gtgccgtgtc ccgtgttttg tgttcaaacc ttttattttc tgtgctgttt
241 tattaaatgc tgagcgaaac

//

NCBI Nucleotide
NCBI
[Sign In] [Register]
PubMed Nucleotide Protein Genome Structure PMC Taxonomy OMIM Books
Search CoreNucleotide for Go Clear
Limits Preview/Index History Clipboard Details
Display GenBank Show 5 Send to Hide: sequence all but gene, CDS and mRNA features
Range: from begin to end Reverse complemented strand Features: + Refresh

1: EU531736. Reports Acipenser persicu...[gi:170676430] Links

Features Sequence

LOCUS EU531736 259 bp DNA linear VRT 29-MAR-2008
DEFINITION Acipenser persicus clone Ape-25 microsatellite sequence. ACCESSION EU531736
VERSION EU531736.1 GI:170676430
KEYWORDS .
SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon) ORGANISM
Acipenser persicus
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi; Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae; Acipenser.
REFERENCE 1 (bases 1 to 259)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S. and Panandam,J.M.
TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian Sturgeon
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 259)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S. and Panandam,J.M. TITLE
Direct Submission
JOURNAL Submitted (01-MAR-2008) Stock Assessment Dept, Caspian Sea Ecology Institute, P.O. Box 961, Sari, Mazandaran 48175-1113, Iran
FEATURES Location/Qualifiers source
1..259
/organism="Acipenser persicus"
/mol_type="genomic DNA"
/db_xref="taxon:61968"
/clone="Ape-25"
repeat_region 1..259
/note="microsatellite"
/rpt_type=tandem
ORIGIN

1 agttcgcccg agttccctgt ggctttgctg ccatgaaaga cgtgcggacc ggcagccacg
61 aggaccggtg agagtgactc ccagcgccag cccccgtgtc tgtctgtctg tttgatccac
121 aatgctctct atctctctct cggactcctt gctctctctc tctctctctc tctctctctc
181 tctctctctc tctctctgac tccttgctct ctgtctctct ccagcatgga ctcgttcttc
241 ctggctgaga tgttcaagt

//

Aug 28 2007 16:53:42

NCBI Nucleotide
My NCBI [Sign In] [Register]
PubMed Nucleotide Protein Genome Structure PMC Taxonomy OMIM Books
Search CoreNucleotide for Go Clear
Limits Preview/Index History Clipboard Details
Display GenBank Show 5 Send to Hide: sequence all but gene, CDS and mRNA features
Range: from begin to end Reverse complemented strand Features: + Refresh

1: EU531737. Reports Acipenser persicu...[gi:170676431] Links

Features Sequence

LOCUS EU531737 296 bp DNA linear VRT 29-MAR-2008
DEFINITION Acipenser persicus clone Ape-26 microsatellite sequence. ACCESSION EU531737
VERSION EU531737.1 GI:170676431
KEYWORDS .
SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon) ORGANISM
Acipenser persicus
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi; Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae; Acipenser.
REFERENCE 1 (bases 1 to 296)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S. and Panandam,J.M.
TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian Sturgeon
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 296)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S. and Panandam,J.M. TITLE
Direct Submission
JOURNAL Submitted (01-MAR-2008) Stock Assessment Dept, Caspian Sea Ecology Institute, P.O. Box 961, Sari, Mazandaran 48175-1113, Iran
FEATURES Location/Qualifiers source
1..296
/organism="Acipenser persicus"
/mol_type="genomic DNA"
/db_xref="taxon:61968"
/clone="Ape-26"
repeat_region 1..296
/note="microsatellite"
/rpt_type=tandem
ORIGIN

1 atttcggaga aaccttcaga gagagaggga gcgacaaact tactcctgag aggagaaaga
61 agaggagaga ggagaggaga ggagaggaga gaggttaatt taacaatgtc acaaacacac
121 acagtgacag gcagacagac agacagacag acagacagac agacagacag acagacagac
181 agacacagac actcacttgt agctgtggaa taccatatca ttgactgtgg gctggttttt
241 ctgcgagggc tgcatctgac gaaactgaga gaagagaaga gatttcacat tgctgt

//

NCBI Nucleotide
My NCBI [Sign In] [Register]
PubMed Nucleotide Protein Genome Structure PMC Taxonomy OMIM Books
Search CoreNucleotide for Go Clear
Limits Preview/Index History Clipboard Details
Display GenBank Show 5 Send to Hide: sequence all but gene, CDS and mRNA features
Range: from begin to end Reverse complemented strand Features: + Refresh

1: EU531738. Reports Acipenser persicu...[gi:170676432]

Links

Features Sequence

LOCUS EU531738 285 bp DNA linear VRT 29-MAR-2008
DEFINITION Acipenser persicus clone Ape-27 microsatellite sequence. ACCESSION EU531738
VERSION EU531738.1 GI:170676432
KEYWORDS .
SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon) ORGANISM
Acipenser persicus
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi; Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae; Acipenser.
REFERENCE 1 (bases 1 to 285)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S. and Panandam,J.M.
TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian Sturgeon
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 285)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S. and Panandam,J.M. TITLE
Direct Submission
JOURNAL Submitted (01-MAR-2008) Stock Assessment Dept, Caspian Sea Ecology Institute, P.O. Box 961, Sari, Mazandaran 48175-1113, Iran
FEATURES Location/Qualifiers source
1..285
/organism="Acipenser persicus"
/mol_type="genomic DNA"
/db_xref="taxon:61968"
/clone="Ape-27"
repeat_region 1..285
/note="microsatellite"
/rpt_type=tandem
ORIGIN

1 acttgaacat ctcagccaga aagaacgagt ccatgctgga gagagagaca gagagcaagg
61 agtgagagag agagagagag agagagagag agagagagag agagagagag agagagagag
121 agagagagag agagagagac tcaaagaccc ccacacacac acgggcactg tggaacaaac
181 aaacagacac gggggcgggc gctgggagtc actctcaccg gtcctcgggg ctgccggtcc
241 gcacgtcttt catggcagcg aacccacagg gaactcgggc gaact

//

NCBI Nucleotide My NCBI [Sign In] [Register]
PubMed Nucleotide Protein Genome Structure PMC Taxonomy OMIM Books
Search CoreNucleotide for Go Clear
Limits Preview/Index History Clipboard Details
Display GenBank Show 5 Send to Hide: sequence all but gene, CDS and mRNA features
Range: from begin to end Reverse complemented strand Features: + Refresh

1: EU531739. Reports Acipenser persicu...[gi:170676433] Links

Features Sequence

LOCUS EU531739 227 bp DNA linear VRT 29-MAR-2008
DEFINITION Acipenser persicus clone Ape-28 microsatellite sequence. ACCESSION EU531739
VERSION EU531739.1 GI:170676433
KEYWORDS .
SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon) ORGANISM
Acipenser persicus
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi; Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae; Acipenser.
REFERENCE 1 (bases 1 to 227)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S. and Panandam,J.M.
TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian Sturgeon
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 227)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S. and Panandam,J.M. TITLE
Direct Submission
JOURNAL Submitted (01-MAR-2008) Stock Assessment Dept, Caspian Sea Ecology Institute, P.O. Box 961, Sari, Mazandaran 48175-1113, Iran
FEATURES Location/Qualifiers source
1..227
/organism="Acipenser persicus"
/mol_type="genomic DNA"
/db_xref="taxon:61968"
/clone="Ape-28"
repeat_region 1..227
/note="microsatellite"
/rpt_type=tandem
ORIGIN

1 accgctgcca agacctcgct gaggccaaga aacagcgctc agacccgtga gacacaactg //
61 tctgtctgtc tgtctgtctg tctgtctgtc tgtctgtctg tcactgtgtg tgtttgtgac
121 attgttaaat taacctctct cctctcctct cctctcctct ctcctcttct ttctcctctc
181 aggagtaagt ttgtcgctcc ctctctctct gaaggtttct ccgaaat

Aug 28 2007 16:53:42

NCBI Entrez Nucleotide My NCBI [Sign In] [Register]
PubMed Nucleotide Protein Genome Structure PMC Taxonomy OMIM Books
Search CoreNucleotide for Go Clear
Limits Preview/Index History Clipboard Details
Display GenBank Show 5 Send to Hide: sequence all but gene, CDS and mRNA features
Range: from begin to end Reverse complemented strand Features: + Refresh

1: EU531740. Reports Acipenser persicu...[gi:170676434] Links

Features Sequence

LOCUS EU531740 251 bp DNA linear VRT 29-MAR-2008
DEFINITION Acipenser persicus clone Ape-29 microsatellite sequence. ACCESSION EU531740
VERSION EU531740.1 GI:170676434
KEYWORDS .
SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon) ORGANISM
Acipenser persicus
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi; Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae; Acipenser.
REFERENCE 1 (bases 1 to 251)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S. and Panandam,J.M.
TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian Sturgeon
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 251)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S. and Panandam,J.M. TITLE
Direct Submission
JOURNAL Submitted (01-MAR-2008) Stock Assessment Dept, Caspian Sea Ecology Institute, P.O. Box 961, Sari, Mazandaran 48175-1113, Iran
FEATURES Location/Qualifiers source
1..251
/organism="Acipenser persicus"
/mol_type="genomic DNA"
/db_xref="taxon:61968"
/clone="Ape-29"
repeat_region 1..251
/note="microsatellite"
/rpt_type=tandem
ORIGIN

1 acctgctgct gtataaacta tggacagaaa tgaaagcttt tatattaact ttattgttat
61 tttatacact gaataccgca tacacacaat gaatacactc tgaatacaca cactgaatat
121 atgcattctg aatacataca ctgaatacat gcattctgaa tacacactgt gaatacacac
181 acacacacac acacacacac acacacacac acacacacac acagacacag acagacagac
241 acacagtccg t

//

Disclaimer | Write to the Help Desk
NCBI | NLM | NIH

NCBI Nucleotide My NCBI [Sign In] [Register]
PubMed Nucleotide Protein Genome Structure PMC Taxonomy OMIM Books
Search CoreNucleotide for Go Clear
Limits Preview/Index History Clipboard Details
Display GenBank Show 5 Send to Hide: sequence all but gene, CDS and mRNA features
Range: from begin to end Reverse complemented strand Features: + Refresh

1: EU531741. Reports Acipenser persicu...[gi:170676435] Links

Features Sequence

LOCUS EU531741 229 bp DNA linear VRT 29-MAR-2008
DEFINITION Acipenser persicus clone Ape-30 microsatellite sequence. ACCESSION EU531741
VERSION EU531741.1 GI:170676435
KEYWORDS .
SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon) ORGANISM
Acipenser persicus
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi; Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae; Acipenser.
REFERENCE 1 (bases 1 to 229)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S. and Panandam,J.M.
TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian Sturgeon
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 229)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S. and Panandam,J.M. TITLE
Direct Submission
JOURNAL Submitted (01-MAR-2008) Stock Assessment Dept, Caspian Sea Ecology Institute, P.O. Box 961, Sari, Mazandaran 48175-1113, Iran
FEATURES Location/Qualifiers
source 1..229
/organism="Acipenser persicus"
/mol_type="genomic DNA"
/db_xref="taxon:61968"
/clone="Ape-30"
repeat_region 1..229
/note="microsatellite"
/rpt_type=tandem
ORIGIN

1 actctctgtg tgaagagacg cctccttccc tccagggcta cctccagctg tgtgtgtcct //
61 ggcgctgcgt cgacccgccc tgcatcctgc atgctttgag ttttattatt ttaatttgtg
121 tgtgtgtgtg tgtgtgtgtt tgatttcaga accgtctcaa ctcatccagc cggttggaca
181 ccagtgtcca gagtctgagg agcgagctgg aggagacgct ggacgaaaa

Disclaimer | Write to the Help Desk
NCBI | NLM | NIH

NCBI Nucleotide
My NCBI [Sign In] [Register]
PubMed Nucleotide Protein Genome Structure PMC Taxonomy OMIM Books
Search CoreNucleotide for Go Clear
Limits Preview/Index History Clipboard Details
Display GenBank Show 5 Send to Hide: sequence all but gene, CDS and mRNA features
Range: from begin to end Reverse complemented strand Features: + Refresh

1: EU531742. Reports Acipenser persicu...[gi:170676436] Links

Features Sequence

LOCUS EU531742 399 bp DNA linear VRT 29-MAR-2008
DEFINITION Acipenser persicus clone Ape-31 microsatellite sequence. ACCESSION EU531742
VERSION EU531742.1 GI:170676436
KEYWORDS .
SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon) ORGANISM
Acipenser persicus
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi; Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae; Acipenser.
REFERENCE 1 (bases 1 to 399)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S. and Panandam,J.M.
TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian Sturgeon
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 399)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S. and Panandam,J.M. TITLE
Direct Submission
JOURNAL Submitted (01-MAR-2008) Stock Assessment Dept, Caspian Sea Ecology Institute, P.O. Box 961, Sari, Mazandaran 48175-1113, Iran
FEATURES Location/Qualifiers source
1..399
/organism="Acipenser persicus"
/mol_type="genomic DNA"
/db_xref="taxon:61968"
/clone="Ape-31"
repeat_region 1..399
/note="microsatellite"
/rpt_type=tandem

ORIGIN
1 agttcgcccg agttccctgt ggcttcgctg ccatgaaaga cgtgcggacc ggcagccacg
61 aggaccggtg agagtgactc ccagcgccag cccctgtgtc tgtctgtttg ttccacagtg
121 cctgtgtgtg tgtgggtgtc tctgagtctc tctctctctc tctctctctc tctctctctc
181 tctctctctc tctctctctt ctctctctct ctctcgaacg tgcactggct ctttgtctta
241 cgcgtatgtg tgggttcctc ctatctcgct cacacacgcg cgcggcgcgc gggcgcgcgc
301 gcgcgccccc cgcccccttt ctctctagat acatagactc acctgtccct ctgtctctat
361 ctatgttttt ttgagagaga catccctccc tctctcccc

//

Disclaimer | Write to the Help Desk

g 28 2007 16:53:42

NCBI Nucleotide

My NCBI [Sign In] [Register]

PubMed Nucleotide Protein Genome Structure PMC Taxonomy OMIM Books

Search CoreNucleotide for Go Clear

Limits Preview/Index History Clipboard Details

Display GenBank Show 5 Send to Hide: sequence all but gene, CDS and mRNA features

Range: from begin to end Reverse complemented strand Features: + Refresh

1: EU531743. Reports Acipenser persicu...[gi:170676437] Links

Features Sequence

LOCUS EU531743 296 bp DNA linear VRT 29-MAR-2008
DEFINITION Acipenser persicus clone Ape-32 microsatellite sequence. ACCESSION EU531743
VERSION EU531743.1 GI:170676437
KEYWORDS .
SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon) ORGANISM
Acipenser persicus
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi; Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae; Acipenser.
REFERENCE 1 (bases 1 to 296)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S. and Panandam,J.M.
TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian Sturgeon
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 296)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S. and Panandam,J.M. TITLE
Direct Submission
JOURNAL Submitted (01-MAR-2008) Stock Assessment Dept, Caspian Sea Ecology Institute, P.O. Box 961, Sari, Mazandaran 48175-1113, Iran
FEATURES Location/Qualifiers source
1..296
/organism="Acipenser persicus"
/mol_type="genomic DNA"
/db_xref="taxon:61968"
/clone="Ape-32"
repeat_region 1..296
/note="microsatellite"
/rpt_type=tandem

ORIGIN
1 atttcggaga aaccttcaaa gagagaggga gcgacaaact tactcctgag aggagaaaga
61 agaggagaga ggagaggaga ggagaggaga gaggttaatt taacaatgtc acaaacacac
121 acagtgacag acagacagac agacagacag acagacagac agacagacag acagacagac
181 agacacagac actcacttgt agctgtggaa taccatatca ttgactgtgg gctggttttt
241 ctgcgagggc tgcatctgac gaaactgaaa aaaaaaaaaa gatttcacat tgctgt

//

NCBI Nucleotide
My NCBI [Sign In] [Register]
PubMed Nucleotide Protein Genome Structure PMC Taxonomy OMIM Books
Search CoreNucleotide for Go Clear
Limits Preview/Index History Clipboard Details
Display GenBank Show 5 Send to Hide: sequence all but gene, CDS and mRNA features
Range: from begin to end Reverse complemented strand Features: + Refresh

1: EU531744. Reports Acipenser persicu...[gi:170676438] Links

Features Sequence

LOCUS EU531744 302 bp DNA linear VRT 29-MAR-2008
DEFINITION Acipenser persicus clone Ape-33 microsatellite sequence. ACCESSION EU531744
VERSION EU531744.1 GI:170676438
KEYWORDS .
SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon) ORGANISM
Acipenser persicus
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi; Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae; Acipenser.
REFERENCE 1 (bases 1 to 302)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S. and Panandam,J.M.
TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian Sturgeon
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 302)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S. and Panandam,J.M. TITLE
Direct Submission
JOURNAL Submitted (01-MAR-2008) Stock Assessment Dept, Caspian Sea Ecology Institute, P.O. Box 961, Sari, Mazandaran 48175-1113, Iran
FEATURES Location/Qualifiers source
1..302
/organism="Acipenser persicus"
/mol_type="genomic DNA"
/db_xref="taxon:61968"
/clone="Ape-33"
repeat_region 1..302
/note="microsatellite"
/rpt_type=tandem
ORIGIN

1 aattcgtttt tctccttgct aatatattgt gctctcccat aattgtttac tgaagtatgc
61 taaacacacc ctccttatct ttagcttacc aatttaaaaa cttgctgatc taaccatttc
121 tttgctacat atgttaatag caggtaaata gaactgaaga gcatctctaa ctcagatcaa
181 agacctcaca tatctatcta tctatctatc tatctgtcta tctcctatct atctatctat
241 ctatctatct atctatctat atccatggca gtggacaaag atggtgtgcc tttgtttaca
301 gt

//

Aug 28 2007 16:53:42

NCBI Nucleotide
My NCBI
[Sign In] [Register]
PubMed Nucleotide Protein Genome Structure PMC Taxonomy OMIM Books
Search CoreNucleotide for Go Clear
Limits Preview/Index History Clipboard Details
Display GenBank Show 5 Send to Hide: sequence all but gene, CDS and mRNA features
Range: from begin to end Reverse complemented strand Features: + Refresh

1: EU531745. Reports Acipenser persicu...[gi:170676439] Links

Features Sequence

LOCUS EU531745 199 bp DNA linear VRT 29-MAR-2008
DEFINITION Acipenser persicus clone Ape-34 microsatellite sequence. ACCESSION EU531745
VERSION EU531745.1 GI:170676439
KEYWORDS .
SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon) ORGANISM
Acipenser persicus
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi; Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae; Acipenser.
REFERENCE 1 (bases 1 to 199)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S. and Panandam,J.M.
TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian Sturgeon
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 199)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S. and Panandam,J.M. TITLE
Direct Submission
JOURNAL Submitted (01-MAR-2008) Stock Assessment Dept, Caspian Sea Ecology Institute, P.O. Box 961, Sari, Mazandaran 48175-1113, Iran
FEATURES Location/Qualifiers
source 1..199
/organism="Acipenser persicus"
/mol_type="genomic DNA"
/db_xref="taxon:61968"
/clone="Ape-34"
repeat_region 1..199
/note="microsatellite"
/rpt_type=tandem
ORIGIN

1 acacctgttt gtctctgtgt cagtgactta cccaccaccc tcccacaata tattacacac
61 acacacacac acacagtgca gtccgtttat aagaatcacg gatataagaa tcaaccgcat
121 atagtgatca aaaccgctgg gaccagatta ttcctaaacc aaccaatgta agaatcaagc
181 agtcaatttg ccccgaaat

//

LOCUS JF773785 642 bp DNA linear VRT 13-APR-2011
DEFI NITION Acipenser persicus clone Ape-38 microsatellite sequence.
ACCESSION JF773785
VERSION JF773785
KEYWORDS
SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon)
ORGANISM Acipenser persicus
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae;
Acipenser.
REFERENCE 1 (bases 1 to 642)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian
Sturgeon
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 642)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (04-APR-201 1) Stock Assessment, Caspian Sea Ecology
Institute, P.O. Box961, Sari, Mazandaran48l75-1113, Iran
FEATURES Location/Qualifiers
source 1 . .642
/organism=Acipenser persicus”
/mol_type=”genomic DNA”
/db_xref=”taxon:61 968”
/clone=”Ape-38”
repeat_reg ion 1 . .642
/rpt_type=tandem
/satellite=”microsatellite”
ORIGIN
1 aattcgggcg tgtgacactg tcagtgtctg tgtgtcagtg tgtctgtctc tgtgtgtcag
61 tgtgtctgtg cgtgtgtgtg tgtgtgtctg tctgtctctg tgtgtcaatg tgtctgtctg
121 tctctgtttg tctgtctctg tgtcagtgtg tctgtctgtc tgtctctgtg tgtcagtgtg
181 tctgtctgtc tgtctgtctc tgtgtgtcag tctgtcagtc tgtctgtctg tctgtctgtc
241 tgtgtgtcaa tgtgtctgtc tgtgtgtaag tgtgtctgtc tgtgtcagcg tgtctgtctg
301 tctgtctctg tgtgtcagtg tgtctgtctg tctgtctgtc tgtcttggtg tgtccgtgtg
361 tctctgtgtc tctcagtgtg tctgtctctc cctcgtctgt ctccgcttca ctgtcacacc
421 gtgtcccctg gtccaggttt ctgtgctggt ctacgtgctc gcaccctgac tgactagccc
481 tgctcgaggg cgccccctac ctgaatccga agtagtgcgc cctcaggctg gccagcatca
541 ccagcacgca gcaccccacc agctgcaggt tccgcctcct cttcctgtcc gcgagggcgg
601 ggtccaaccc ctcggagggg gcggagccaa actgctccca gt

LOCUS JF773786 311 bp DNA linear VRT 13-APR-2011
DEFI NITION Acipenser persicus clone Ape-39 microsatellite sequence.
ACCESSION JF773786
VERSION JF773786
KEYWORDS
SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon)
ORGANISM Acipenser persicus
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae;
Acipenser.
REFERENCE 1 (bases ito 311)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian
Sturgeon
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases ito 311)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (04-APR-201 1) Stock Assessment, Caspian Sea Ecology
Institute, P.O. Box961, Sari, Mazandaran48l75-i113, Iran
FEATURES Location/Qualifiers
source 1.311
/organism=Acipenser persicus”
/mol_type=”genomic DNA”
/db_xref=”taxon:61 968”
/clone=”Ape-39”
repeat_region 1.311
/rpt_type=tandem
/satellite=’microsatellite”
ORIGIN
1 gcttccccgg gtttgtgtgt tcgggtccct ggggaagggg gaaggggaga gagagaacga
61 gagagcgaga gagagagaga cacagagaga gagagagaca cacacagaga gagagagaca
121 gacagacaga cagagagaga cacagagaga gagacacaga cagagagaca cagagagaaa
181 gagggagaca cagagagaga gacacaaaga gagagagaga gagagagaga gagagagaga
241 gagagagaga gagagagaga gagagagaga gagagagaga tcagtgcaca gtcaccacaa
301 tacagcgcag t

LOCUS JF773787 705 bp DNA linear VRT 13-APR-20i1
DEFINITION Acipenser persicus clone Ape-40 microsatellite sequence.
ACCESSION JF773787
VERSION JF773787
KEYWORDS
SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon)
ORGANISM Acipenser persicus
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae;
Acipenser.
REFERENCE 1 (bases 1 to 705)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian
Sturgeon
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 705)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (04-APR-201 1) Stock Assessment, Caspian Sea Ecology
Institute, P.O. Box961, Sari, Mazandaran48l75-1113, Iran
FEATURES Location/Qualifiers
source 1.705
/organism=Acipenser persicus”
/mol_type=”genomic DNA”
/db_xref=”taxon:61 968”
/clone=”Ape-40”
repeat_reg ion 1 . .705
/rpt_type=tandem
/satellite=”microsatellite”
ORIGIN
1 actatttttg gcagacacac acacacacac acacacacac acttacacag acacacggat
61 acccacacac acacacacac ttacacaaca cacggatacc cacacacaca cagagacaca
121 aacacacaca cacacacaca cacacactta cacagcacac ggatacccac acacacagac
181 acacacacac agagtcactg ataatgagag agaggagaca cacacacaca cacagacaca
241 cacacgcaga gtcactgatg agagagagga gccacacaca cacacacaca cacacagtgt
301 cagtgataat gagagagagg agacgcacac acacacacac acagtgtcag tgataatgag
361 agagaggaga cacacacaca cacacacaca gtgtcagtga taatgagaga gaggagacac
421 acacacacac acacacacac acagccctgc tccgcaaaca cacatacgca gccctgctcc
481 gcacacacac acacacacac acacacagcc ctgctccaca cacatacaaa cacagccctg
541 ttccacacac acacacacac acacacacac acagccctgc gccacacaca cacacacaca
601 cacagcccgt gcgccacaca cacacacaca cacagctctg ctcccacaca cacacacaca
661 cacacacaca cacacacaca ccgcacagtc tacgagagcg ctggt

LOCUS JF773788 554 bp DNA linear VRT 13-APR-2011
DEFINITION Acipenser persicus clone Ape-42 microsatellite sequence.
ACCESSION JF773788
VERSION JF773788
KEYWORDS
SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon)
ORGANISM Acipenser persicus
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae;
Acipenser.
REFERENCE 1 (bases 1 to 554)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian
Sturgeon
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 554)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (04-APR-201 1) Stock Assessment, Caspian Sea Ecology
Institute, P.O. Box961, Sari, Mazandaran48l75-1113, Iran
FEATURES Location/Qualifiers
source 1.554
/organism=”Acipenser persicus”
/mol_type=”genomic DNA”
/db_xref=”taxon:61 968”
/clone=”Ape-42”
repeat_region 1 .554
/rpt_type=tandem
/satellite=”microsatellite”
ORIGIN
1 acatcgtgcc cactgtttta ccttgacatt tgcttaaacc tttagaatta gcaaatgtat
61 actgtatatt ttaagtttga cactgtctaa gctaattgcg ctctctctct ctctctctct
121 ctctctctct ctctctcaat ccaactcaaa gcttaatagc tagttgtatc atcctaaaat
181 ccaacacaac atagtttttt tcagtgtcct acacaccaca acacaacagc caaccgtcct
241 agaatccaac ccaacggcat tgcatcctag aatcaaaaag ggacaacaca atacagcata
301 acgtcctatt atctcatgag gggcagcagg atgcatagca tcctcctatc ctgaaaggga
361 ggagtgcatc ctatattcca tcacaacaca acacatctgc ctagcatcgt agaatcctac
421 acaataccat agtttaacgt gcctttcttt tacacctgtc gcctcatatc tttcataaag
481 gaagcagaca ggttgttgaa aaatagtatt gatctgctcc acatcccagg agatgaagac
541 caacatcacg agcc

LOCUS JF773789 289 bp DNA linear VRT 1 3-APR-201 1
DEFINITION Acipenser persicus clone Ape-43 microsatellite sequence.
ACCESSION JF773789
VERSION JF773789
KEYWORDS
SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon)
ORGANISM Acipenser persicus
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae;
Acipenser.
REFERENCE 1 (bases 1 to 289)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian
Sturgeon
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 289)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (04-APR-201 1) Stock Assessment, Caspian Sea Ecology
Institute, P.O. Box961, Sari, Mazandaran48l7s-1113, Iran
FEATURES Location/Qualifiers
source 1 . .289
/organism=”Acipenser persicus”
/mol_type=”genomic DNA”
/db_xref=”taxon:61 968”
/clone=”Ape-43”
repeat_region 1 . .289
/rpt_type=tandem
ORIGIN
1 agttcgcccg agttccctgt ggctttgctg ccatgaaaga cgtgcggacc ggcagccacg
61 aggaccggtg agagtgactc ccagcgccag cccctgtgtc tgtctgtttg ttccacagtg
121 cctgtgtgtg tgtgggtgtc tctgagtctc tctctctctc tctctctctc tctctctctc
181 tctctctctc tctctctgat tacgttcatg tgaacatgtg ttaatatact gttaggtttc
241 ttaaattttc actttggaaa aagacatgct tttgtttgtg tatgtctgt

LOCUS JF773790 411 bp DNA linear VRT 13-APR-2011
DEFINITION Acipenser persicus clone Ape-46 microsatellite sequence.
ACCESSION JF773790
VERSION JF773790
KEYWORDS
SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon)
ORGANISM Acipenser persicus
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae;
Acipenser.
REFERENCE 1 (bases ito 411)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian
Sturgeon
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases ito 411)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (04-APR-20i 1) Stock Assessment, Caspian Sea Ecology
Institute, P.O. Box96i, Sari, Mazandaran48i75-iii3, Iran
FEATURES Location/Qualifiers
source 1.411
/organism=Acipenser persicus”
/mol_type=”genomic DNA”
/db_xref=”taxon:6i 968”
/clone=”Ape-46”
repeat_region 1.411
/rpt_type=tandem
/satellite=”microsatellite”
ORIGIN
1 acaaaacacc cagaactatc aattgtgcca caattcacag tcagggctgt cagagaccag
61 agcagcgcct gattaatcta cactatatat ggatctttta caaggagata gattcgttct
121 gccaagtctt taatggagag agagagagag agagagagag agagagagag agagagagag
181 agagagagag gggaggggga gagagagaga gagagagaga gagacagaga cagagacaga
241 gagagaggag acccgctgac tctctctgca tggattttgc cgacagctaa agcctctagt
301 cacggcagct gtgctcatta atttctaatt ctccaccacg gttttgtaag acttcttaaa
361 actgcagaaa gctggagaca ggatccctga atgctggcgt gcaggcgaat t

LOCUS JF773791 277 bp DNA linear VRT 13-APR-2011
DEFINITION Acipenser persicus clone Ape-47 microsatellite sequence.
ACCESSION JF773791
VERSION JF773791
KEYWORDS
SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon)
ORGANISM Acipenser persicus
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae;
Acipenser.
REFERENCE 1 (bases 1 to 277)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian
Sturgeon
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 277)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (04-APR-201 1) Stock Assessment, Caspian Sea Ecology
Institute, P.O. Box961, Sari, Mazandaran48l75-1113, Iran
FEATURES Location/Qualifiers
source 1 . .277
/organism=Acipenser persicus”
/mol_type=”genomic DNA”
/db_xref=”taxon:61 968”
/clone=”Ape-47”
repeat_reg ion 1 . .277
/rpt_type=tandem
/satellite=”microsatellite”
ORIGIN
1 acttgaacat ctcagccagg aagaacgagt ccatgctgga gagagagaca gagagcaagg
61 agtgagagag agagagagag agagagagag agagagagag agagagagag agagagagag
121 agagagagag actcagagac acccacacac acacaggcac tgtggaacaa acagacagac
181 acaggggctg gcgctgggag tcactctcac cggtcctcgt ggctgccggt ccgcacgtct
241 ttcatggcag caaagccaca gggaactcgg gcgaact

LOCUS JF773792 285 bp DNA linear VRT 13-APR-2011
DEFINITION Acipenser persicus clone Ape-48 microsatellite sequence.
ACCESSION JF773792
VERSION JF773792
KEYWORDS
SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon)
ORGANISM Acipenser persicus
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae;
Acipenser.
REFERENCE 1 (bases 1 to 285)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian
Sturgeon
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 285)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (04-APR-201 1) Stock Assessment, Caspian Sea Ecology
Institute, P.O. Box961, Sari, Mazandaran48l75-1113, Iran
FEATURES Location/Qualifiers
source 1 . .285
/organism=”Acipenser persicus”
/mol_type=”genomic DNA”
/db_xref=”taxon:61 968”
/clone=”Ape-48”
repeat_reg ion 1 . .285
/rpt_type=tandem
/satellite=”microsatellite”
ORIGIN
1 acttgaacat ctcagccagg aagaacgagt ccatgctgga gagagagaca gagagcaagg
61 agtgagagag agagagagag agagagagag agagagagag agagagagag agagagagag
121 agagagagag agagagagac tcagagacac ccacacacac acaggcactg tggaacaaac
181 agacagacac aggggctggc gctgggagtc actctcaccg gtcctcgtgg ctgccggtcc
241 gcacgtcttt catggcagcg aagccacagg gaactcgggc gaact

LOCUS JF773793 285 bp DNA linear VRT 13-APR-2011
DEFINITION Acipenser persicus clone Ape-49 microsatellite sequence.
ACCESSION JF773793
VERSION JF773793
KEYWORDS
SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon)
ORGANISM Acipenser persicus
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae;
Acipenser.
REFERENCE 1 (bases 1 to 285)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian
Sturgeon
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 285)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (04-APR-201 1) Stock Assessment, Caspian Sea Ecology
Institute, P.O. Box961, Sari, Mazandaran48l75-1113, Iran
FEATURES Location/Qualifiers
source 1 . .285
/organism=Acipenser persicus”
/mol_type=”genomic DNA”
/db_xref=”taxon:61 968”
/clone=”Ape-49”
repeat_reg ion 1 . .285
/rpt_type=tandem
/satellite=”microsatellite”
ORIGIN
1 acttgaacat ctcagccagg aagaacgagt ccatgctgga gagagagaca gagagcaagg
61 agtgagagag agagagagag agagagagag agagagagag agagagagag agagagagag
121 agagagagag agagagagac tcagagacac ccacacacac acaggcactg tggaacaaac
181 agacagacac aggggctggc gctgggagtc actctcaccg gtcctcgtgg ctgccggtcc
241 gcacgtcttt catggcagcg aagccacagg gaactcgggc gaact

LOCUS JF773794 251 bp DNA linear VRT 13-APR-2011
DEFI NITION Acipenser persicus clone Ape-50 microsatellite sequence.
ACCESSION JF773794
VERSION JF773794
KEYWORDS
SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon)
ORGANISM Acipenser persicus
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae;
Acipenser.
REFERENCE 1 (bases 1 to 251)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian
Sturgeon
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 251)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (04-APR-201 1) Stock Assessment, Caspian Sea Ecology
Institute, P.O. Box961, Sari, Mazandaran48i75-1113, Iran
FEATURES Location/Qualifiers
source 1.251
/organism=Acipenser persicus”
/mol_type=’genomic DNA”
/db_xref=”taxon:61 968”
/clone=”Ape-SO”
repeat_reg ion 1 . .251
/rpt_type=tandem
/satellite=”microsatellite”
ORIGIN
1 acctgctgct gtataaacta tggacagaaa tgaaagcttt tatattaact ttattgttat
61 tttatacact gaataccgca tacacacaat gaatacactc tgaatacaca cactgaatat
121 atgcattctg aatacataca ctgaatacat gcattctgaa tacacactgt gaatacacac
181 acacacacac acacacacac acacacacac acacacacac acagacacag acagacagac
241 acacagtccg t

LOCUS JF773795 289 bp DNA linear VRT 13-APR-2011
DEFI NITION Acipenser persicus clone Ape-51 microsatellite sequence.
ACCESSION JF773795
VERSION JF773795
KEYWORDS
SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon)
ORGANISM Acipenser persicus
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae;
Acipenser.
REFERENCE 1 (bases 1 to 289)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian
Sturgeon
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 289)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (04-APR-20i 1) Stock Assessment, Caspian Sea Ecology
Institute, P.O. Box96i, Sari, Mazandaran48i7S-iii3, Iran
FEATURES Location/Qualifiers
source 1 . .289
/organism=Acipenser persicus”
/mol_type=”genomic DNA”
/db_xref=”taxon:6i 968”
/clone= ‘Ape-Si”
repeat_reg ion 1 . .289
/rpt_type=tandem
/satellite=”microsatellite”
ORIGIN
1 acttgaacat ctcagccagg aagaacgagt ccatgctgga gagagacaga gagcaaggag
61 tcagagagag agagagagag agagagagag agagagagag ggagagagag agagagagag
121 agagagagag agagagagag caaggagtcc gagagagaga gagagcattg tggatcaaac
181 agacagacag acacgggggc tggcgctggg agtcactctc accggtcctc gtggctgccg
241 gtccgcacgt ctttcatggc agcgaagcca cagggaactc gggcgaact

LOCUS JF773796 252 bp DNA linear VRT 13-APR-2011
DEFI NITION Acipenser persicus clone Ape-52 microsatellite sequence.
ACCESSION JF773796
VERSION JF773796
KEYWORDS
SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon)
ORGANISM Acipenser persicus
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae;
Acipenser.
REFERENCE 1 (bases 1 to 252)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian
Sturgeon
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 252)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (04-APR-201 1) Stock Assessment, Caspian Sea Ecology
Institute, P.O. Box961, Sari, Mazandaran48l75-1113, Iran
FEATURES Location/Qualifiers
source 1 . .252
/organism=Acipenser persicus”
/mol_type=”genomic DNA”
/db_xref=”taxon:61 968”
/clone=’Ape-52”
repeat_reg ion 1 . .252
/rpt_type=tandem
/satellite=”microsatellite”
ORIGIN
1 accacagctc ccagttcact gaaccattgg agtattgagg cactgcctgc tgcctaaaac
61 agcagacaga cagacagaca gacagacaca gagccccaca atcctgttca gtctgacact
121 acaatagaat tccttgttgg tgtgcgttta ctgttgggca atgtagagaa agtggagccg
181 atgggttaat aaaccccctc cccctctcta caggggcagg cgaggctaac ttcgacgctc
241 tggactcgaa cc

LOCUS JF773797 260 bp DNA linear VRT 13-APR-2011
DEFI NITION Acipenser persicus clone Ape-53 microsatellite sequence.
ACCESSION JF773797
VERSION JF773797
KEYWORDS
SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon)
ORGANISM Acipenser persicus
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae;
Acipenser.
REFERENCE 1 (bases 1 to 260)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian
Sturgeon
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 260)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (04-APR-201 1) Stock Assessment, Caspian Sea Ecology
Institute, P.O. Box961, Sari, Mazandaran48l75-1113, Iran
FEATURES Location/Qualifiers
source 1 . .260
/organism=Acipenser persicus”
/mol_type=’genomic DNA”
/db_xref=”taxon:61 968”
/clone=”Ape-53”
repeat_reg ion 1 . .260
/rpt_type=tandem
/satellite=”microsatellite”
ORIGIN
1 acgcacacac acgcacatac atacacacac acacacacac acacacacac actcactgtg
61 ttgttattac cagtagaaag acaataatat atacacatac actaatcgat aagaaaaata
121 catccagcct aataaacaag atatgcaata agaacaacgt tttttgtttg tctttttatt
181 ttggcgtata gtgccgtgtc ccgtgttttg tgttcaaacc ttttattttc tgtgctgttt
241 tattaaatgc tgagcgaaac

LOCUS JF773798 265 bp DNA linear VRT 13-APR-2011
DEFI NITION Acipenser persicus clone Ape-55 microsatellite sequence.
ACCESSION JF773798
VERSION JF773798
KEYWORDS
SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon)
ORGANISM Acipenser persicus
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae;
Acipenser.
REFERENCE 1 (bases 1 to 265)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian
Sturgeon
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 265)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (04-APR-201 1) Stock Assessment, Caspian Sea Ecology
Institute, P.O. Box961, Sari, Mazandaran48l75-1113, Iran
FEATURES Location/Qualifiers
source 1 . .265
/organism=Acipenser persicus”
/mol_type=”genomic DNA”
/db_xref=”taxon:61 968”
/clone=”Ape-SS”
repeat_reg ion 1 .265
/rpt_type=tandem
/satellite=”microsatellite”
ORIGIN
1 acttgaacat ctcagccagg aagaacgagt ccatgctgga gagagacaga gagcaaggag
61 tcagagagag agagagagag agagagagag agagagagag agagagagag agagcaagga
121 gtccgagaga gagatagaga gcattgtgga tcaaacagac agacagacac gggggctggc
181 gctgggagtc actctcaccg gtcctcgtgg ctgccggtcc gcacgtcttt catggcagcg
241 aagccacagg gaactcgggc gaact

LOCUS JF773799 146 bp DNA linear VRT 13-APR-2011
DEFI NITION Acipenser persicus clone Ape-56 microsatellite sequence.
ACCESSION JF773799
VERSION JF773799
KEYWORDS
SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon)
ORGANISM Acipenser persicus
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae;
Acipenser.
REFERENCE 1 (bases 1 to 146)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian
Sturgeon
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 146)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (04-APR-201 1) Stock Assessment, Caspian Sea Ecology
Institute, P.O. Box961, Sari, Mazandaran48l75-1113, Iran
FEATURES Location/Qualifiers
source 1.146
/organism=Acipenser persicus”
/mol_type=”genomic DNA”
/db_xref=”taxon:61 968”
/clone=”Ape-56”
repeat_region 1.146
/rpt_type=tandem
/satellite=’microsatellite”
ORIGIN
1 aattcgtcct gctgaagaag gtaaatatct aagctcagtg gggttgaaca cacacacaca
61 cacacacaca ctgaaaaaca ccccacagaa tgattctcac tgtcccacag aacggtatgt
121 ttgattgcat tgaatgcagt cgtggt

LOCUS JF773800 298 bp DNA linear VRT 13-APR-2011
DEFI NITION Acipenser persicus clone Ape-57 microsatellite sequence.
ACCESSION JF773800
VERSION JF773800
KEYWORDS
SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon)
ORGANISM Acipenser persicus
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae;
Acipenser.
REFERENCE 1 (bases 1 to 298)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian
Sturgeon
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 298)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (04-APR-201 1) Stock Assessment, Caspian Sea Ecology
Institute, P.O. Box961, Sari, Mazandaran48l75-1113, Iran
FEATURES Location/Qualifiers
source 1 . .298
/organism=’Acipenser persicus”
/mol_type=”genomic DNA”
/db_xref=”taxon:61 968”
/clone=”Ape-57”
repeat_reg ion 1 . .298
/rpt_type=tandem
/satellite=”microsatellite”
ORIGIN
1 accgattccc ccacgccttt accgctcaac catggcgtcc catgcacacg cactagtttt
61 aggtgccaca cacacacaca cacacacaca cacacactca cactcacaca cacacacact
121 cacacgcaca cacactcgca cagagacaca caaactccca ctgcctttga acaattaccc
181 acccccctgcc ggatccctgc cacacgcaca cgcacgcaca cactgggagt cccacacact
241 gaaacgggca tgacaatttc acacccacac cgcctccctc tggtagtact agatgctc

LOCUS JF773801 221 bp DNA linear VRT 13-APR-2011
DEFI NITION Acipenser persicus clone Ape-58 microsatellite sequence.
ACCESSION JF773801
VERSION JF773801
KEYWORDS
SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon)
ORGANISM Acipenser persicus
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae;
Acipenser.
REFERENCE 1 (bases 1 to 221)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian
Sturgeon
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 221)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (04-APR-201 1) Stock Assessment, Caspian Sea Ecology
Institute, P.O. Box961, Sari, Mazandaran48l75-1113, Iran
FEATURES Location/Qualifiers
source 1.221
/organism=Acipenser persicus”
/mol_type=”genomic DNA”
/db_xref=”taxon:61 968”
/clone=’Ape-58”
repeat_reg ion 1 . .221
/rpt_type=tandem
/satellite=”microsatellite”
ORIGIN
1 gttcatggac tccagagaca gtgcaagtga gggaagcctc atcgccgata gccaggactc
61 cgggaggatc tactgagact gcacacagac acacacacac acacacacac acacacacac
121 acacacacac acacacacgg aagaagcacc tatgcgtgtc cggttcctag tatctgattg
181 atctcagaac tttgccaagc cgggtcttaa agaatcgaaa t

LOCUS JF773802 146 bp DNA linear VRT 13-APR-2011
DEFI NITION Acipenser persicus clone Ape-59 microsatellite sequence.
ACCESSION JF773802
VERSION JF773802
KEYWORDS
SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon)
ORGANISM Acipenser persicus
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae;
Acipenser.
REFERENCE 1 (bases 1 to 146)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian
Sturgeon
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 146)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (04-APR-201 1) Stock Assessment, Caspian Sea Ecology
Institute, P.O. Box961, Sari, Mazandaran48l75-1113, Iran
FEATURES Location/Qualifiers
source 1.146
/organism=Acipenser persicus”
/mol_type=”genomic DNA”
/db_xref=”taxon:61 968”
/clone=”Ape-59”
repeat_region 1.146
/rpt_type=tandem
/satellite=’microsatellite”
ORIGIN
1 aattcgtcct gctcaagaag gtaaatatct aatctcagtg gggttgaaca cacacacaca
61 cacacacaca ctgaaaaaca ccccacagaa tgattctcac tgtcccacag aacggtatgt
121 ttgattgcat tgaatgcagt cgtggt

LOCUS JF773803 887 bp DNA linear VRT 13-APR-2011
DEFINITION Acipenser persicus clone Ape-60 microsatellite sequence.
ACCESSION JF773803
VERSION JF773803
KEYWORDS
SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon)
ORGANISM Acipenser persicus
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae;
Acipenser.
REFERENCE 1 (bases 1 to 887)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian
Sturgeon
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 887)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (04-APR-201 1) Stock Assessment, Caspian Sea Ecology
Institute, P.O. Box961, Sari, Mazandaran48l75-1113, Iran
FEATURES Location/Qualifiers
source 1.887
/organism=”Acipenser persicus”
/mol_type=”genomic DNA”
/db_xref=’taxon:61 968”
/clone=”Ape-60”
repeat_reg ion 1 . .887
/rpt_type=tandem
/satellite=”microsatellite”
ORIGIN
1 gcaattcgcc tgcacaccag cattcaggga tcctgtctcc agctttctgc atttttaaga
61 agtcttacaa aaccgtggtg gagaattaga aattaatgag cacagcttcc gtgactagag
121 gctttagctg tcggcaaaat ccatgcaaag agagtcagcg ggtctcctct ctctctctct
181 ctctctctct ctctctctct ctctctctct ctctctcgca cattccctct ctgactcttt
241 gtgactgctc cccccaacac cattgttcct cgcaagtacc ccctgcctaa gggtgatgat
301 gatttgacta cttccccccc ttcctcacgg gtgggaccgg gagtctctta agacgcctca
361 gcttgagctg tgagtcacta ttaatttggg ttgcgctcgt gatctgacta aacctgacac
421 ctcatgccaa gtgatgatga catccatgca gcaccttgca catagtacga agagttagct
481 atcactggct agtgtggtgt acattaacgg cgtggcaccg ctcctcatat atcatagaat
541 taatccacat gctccaccgc ttgagcgggc cccgcccctg ttcatttgag tttcgatcat
601 gcaactggac tcgccaggtg ggatactgat cactctctcc tttccactct tattaacgcc
661 aacctctaga tgtgcacccg ctgccgggag cggaaaacta ttgatatcta atcgtgtgcg
721 ctggctattg ctttacgtgc agtacaacgt gagtacaatc aaggtaaaac ttgactggcg
781 caaaccagtc gtcaggacta aaatcatatg ccattttccc tgatacttct ttcctttggt
841 ctatcggaac ttcctgaatg gaacacgaat gatatatccg cgactcg

LOCUS JF773804 469 bp DNA linear VRT 13-APR-2011
DEFINITION Acipenser persicus clone Ape-62 microsatellite sequence.
ACCESSION JF773804
VERSION JF773804
KEYWORDS
SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon)
ORGANISM Acipenser persicus
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae;
Acipenser.
REFERENCE 1 (bases 1 to 469)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian
Sturgeon
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 469)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (04-APR-201 1) Stock Assessment, Caspian Sea Ecology
Institute, P.O. Box961, Sari, Mazandaran48l75-1113, Iran
FEATURES Location/Qualifiers
source 1 . .469
/organism=”Acipenser persicus”
/mol_type=”genomic DNA”
/db_xref=”taxon:61 968”
/clone=”Ape-62”
repeat_reg ion 1 . .469
/rpt_type=tandem
/satellite=”microsatellite”
ORIGIN
1 acgactacgg agacaccgac caatcaaacg gcgacttcgc ctacagcagc tccgcccccct
61 ccgcggccat ggctcccagc gcgcgggccc caggtgagga gacagcacac acacacacgc
121 acacacatgc acacacacac gcacacccac gcatgcatac acacacccac acccacaccc
181 acacacacac ccacacgcac gcacacacat gcacgcccac acacacgcac acccacgcat
241 gcatacacac acgcgcacac acacacacac ccacacccac acatacacac acacacccac
301 acccacaccc acacccacac gcacacgcac gcacacacat gcacgcccac acacacgcac
361 acccacgcat gcacgcccac acacatggaa gaaacaccta tgcgtgtccg gttcctagta
421 tctgattgat ctcagaactt tgccaagccg ggtcttaaag aatcgaaat

LOCUS JF773805 617 bp DNA linear VRT 13-APR-2011
DEFINITION Acipenser persicus clone Ape-63 microsatellite sequence.
ACCESSION JF773805
VERSION JF773805
KEYWORDS
SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon)
ORGANISM Acipenser persicus
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae;
Acipenser.
REFERENCE 1 (bases 1 to 617)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian
Sturgeon
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 617)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (04-APR-201 1) Stock Assessment, Caspian Sea Ecology
Institute, P.O. Box961, Sari, Mazandaran48l75-1113, Iran
FEATURES Location/Qualifiers
source 1.617
/organism=Acipenser persicus”
/mol_type=”genomic DNA”
/db_xref=”taxon:61 968”
/clone=”Ape-63”
repeat_region 1.617
/rpt_type=tandem
/satellite=”microsatellite”
ORIGIN
1 actttaaacc taagtcacca caatacatta gttagctgtg agatctaaaa tgtgagtatt
61 agcacacccc tagtaagaac cctaaagagc aacaacaaaa caaagcactt tgttcaggca
121 gacaggcagg caggcaggca gagagacaga caagacaaga cagacagaca gagagacaga
181 caagacaaga cagacagaca ggcaggcagg cagacgggca ggcagacaga caggcaggca
241 ggcaggcaga gacagacaga caagacaaga cagacagaca gacaggcagg caggcaggca
301 ggcaggcaga cgggcaggca gacagacagg caggcaggca ggcagagaca gacagacaag
361 acaagacaga cagacagaca ggcaggcagg caggcagaca gacaggtagg caggcaggca
421 gataaattac tcagaaaggt taatttccag catttcctcc tgtctctctc tgacactttc
481 ccaatataac catacaggca tagagaggca gcatatcttg catgcactac aacttaccac
541 gctgcaccca ccaggaccca aagaacaaaa ctgcactcca ataacagctg tcttccaaag
601 acgacttctt tcgaatt

LOCUS JF773806 283 bp DNA linear VRT 13-APR-2011
DEFINITION Acipenser persicus clone Ape-64 microsatellite sequence.
ACCESSION JF773806
VERSION JF773806
KEYWORDS
SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon)
ORGANISM Acipenser persicus
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae;
Acipenser.
REFERENCE 1 (bases 1 to 283)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian
Sturgeon
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 283)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (04-APR-201 1) Stock Assessment, Caspian Sea Ecology
Institute, P.O. Box961, Sari, Mazandaran48l75-1113, Iran
FEATURES Location/Qualifiers
source 1 . .283
/organism=Acipenser persicus”
/mol_type=”genomic DNA”
/db_xref=”taxon:61 968”
/clone=”Ape-64”
repeat_reg ion 1 . .283
/rpt_type=tandem
/satellite=’microsatellite”
ORIGIN
1 atttcggaga aaccttcata gagagaggga gcgacaaact tactcctgag aggagaaaga
61 agaggagaga ggagaggaga ggagaggaga gaggttaatt taacaatgtc acaaacacac
121 acagtgacag acagacagac agacagacag acagacagac agacagacag acagacaccc
181 acacacagac atatagacac acacacacat acccatccac acccactcag ctaaggagtg
241 ttaggattcc caacgcacag caaacagcca gccatgacga agc

LOCUS JF773807 296 bp DNA linear VRT 13-APR-2011
DEFINITION Acipenser persicus clone Ape-65 microsatellite sequence.
ACCESSION JF773807
VERSION JF773807
KEYWORDS
SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon)
ORGANISM Acipenser persicus
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae;
Acipenser.
REFERENCE 1 (bases 1 to 296)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian
Sturgeon
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 296)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (04-APR-201 1) Stock Assessment, Caspian Sea Ecology
Institute, P.O. Box961, Sari, Mazandaran48l75-1113, Iran
FEATURES Location/Qualifiers
source 1 . .296
/organism=Acipenser persicus”
/mol_type=”genomic DNA”
/db_xref=”taxon:61 968”
/clone=”Ape-65”
repeat_reg ion 1 . .296
/rpt_type=tandem
/satellite=”microsatellite”
ORIGIN
1 acagcaatgt gaaatctctt ctcttctctc agtttcgtca gatgcagccc tcgcagaaaa
61 accagcccac agtcaatgat atggtattcc acagctacaa gtgagtgtct gtgtctgtct
121 gtctgtctgt ctgtctgtct gtctgtctgt ctgtctgtct gtctgtctgt cactgtgtgt
181 gtttgtgaca ttgttaaatt aacctctctc ctctcctctc ctctcctctc tcctcttctt
241 tctcctctca ggagtaagtt tgtcgctccc tctctctctg aaggtttctc caaaat

LOCUS JF773808 296 bp DNA linear VRT 13-APR-2011
DEFINITION Acipenser persicus clone Ape-66 microsatellite sequence.
ACCESSION JF773808
VERSION JF773808
KEYWORDS
SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon)
ORGANISM Acipenser persicus
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae;
Acipenser.
REFERENCE 1 (bases 1 to 296)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian
Sturgeon
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 296)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (04-APR-201 1) Stock Assessment, Caspian Sea Ecology
Institute, P.O. Box961, Sari, Mazandaran48l75-1113, Iran
FEATURES Location/Qualifiers
source 1 . .296
/organism=Acipenser persicus”
/mol_type=”genomic DNA”
/db_xref=”taxon:61 968”
/clone=”Ape-66”
repeat_reg ion 1 . .296
/rpt_type=tandem
/satellite=”microsatellite”
ORIGIN
1 acagcaatgt gaaatctctt ctcttctctc agtttcgtca gatgcagccc tcgcagaaaa
61 accagcccac agtcaatgat atggtattcc acagctacaa gtgagtgtct gtgtctgtct
121 gtctgtctgt ctgtctgtct gtctgtctgt ctgtctgtct gtctgtctgt cactgtgtgt
181 gtttgtgaca ttgttaaatt aacctctctc ctctcctctc ctctcctctc tcctcttctt
241 tctcctctca ggagtaagtt tgtcgctccc tctctctctg aaggtttctc caaaat

LOCUS JF773809 419 bp DNA linear VRT 13-APR-2011
DEFINITION Acipenser persicus clone Ape-68 microsatellite sequence.
ACCESSION JF773809
VERSION JF773809
KEYWORDS
SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon)
ORGANISM Acipenser persicus
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae; Acipenser.
REFERENCE 1 (bases 1 to 419)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian Sturgeon
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 419)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (04-APR-201 1) Stock Assessment, Caspian Sea Ecology
Institute, P.O. Box961, Sari, Mazandaran48l75-1113, Iran
FEATURES Location/Qualifiers
source 1.419
/organism=Acipenser persicus”
/mol_type=”genomic DNA”
/db_xref=’taxon:61 968”
/clone=”Ape-68”
repeat_region 1.419
/rpt_type=tandem
/satellite=”microsatellite”
ORIGIN
1 agttcgcact gtagggattc ataaacacat ctggacagac agacagacag acacacccag
61 acagagagac acacagagac agagagacag acagacacac ccagacagac acacagagac
121 agagagacag acagacacac acagacagac acacagagac agagagacag acagacagac
181 acagacagac agacagacac acagacagat agacacacag acagacacac agagacacac
241 agacagaaag ttatatttca gtttgacttc acttgatgtc tttttaacct taattgcgaa
301 tgtgcaagtg gaagagacgt cctgaaagca gcgcatgcaa actgagagct ttctgtagct
361 gagtgcagaa gcagacaaca tgtctggaag aaacatctct ttatttataa ctgcagcgt

LOCUS JF773810 599 bp DNA linear VRT 13-APR-2011
DEFI NITION Acipenser persicus clone Ape-70 microsatellite sequence.
ACCESSION JF773810
VERSION JF773810
KEYWORDS
SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon)
ORGANISM Acipenser persicus
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae;
Acipenser.
REFERENCE 1 (bases 1 to 599)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian
Sturgeon
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 599)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (04-APR-201 1) Stock Assessment, Caspian Sea Ecology
Institute, P.O. Box961, Sari, Mazandaran48l75-1113, Iran
FEATURES Location/Qualifiers
source 1.599
/organism=Acipenser persicus”
/mol_type=”genomic DNA”
/db_xref=”taxon:61 968”
/clone=”Ape-70”
repeat_reg ion 1 .599
/rpt_type=tandem
/satellite=’microsatellite”
ORIGIN
1 acctacctca gggcagtagc agccaggcac acagtcctgc tggctggcac agtgacccct
61 ctctcccact gtggagcaca gcttctcaca gggggagcca cactccatga attggaacgg
121 ggtgacgcag tctgaaacac aggaagagag acagggtcag tctctctcac acacacacac
181 acacacacac tgacatacac agaccctgac cctgacactg acactgacac acacacacac
241 acacacacac tgacacacag actggactgg aatggggaga tgcactctga aacacatgca
301 gagaggcagg gtcagcttct cacacaaact gacccacaca ataacacgca cacacacaca
361 ctcacactga cacactcact cacacacaga cagacagaca agcaagccgc tcaccaccac
421 agtctccgga tggacaggct ctggactgtg tctccagccc ctcacaatgc tgccccctgt
481 aggtgggagg aagaggtgtc cggtagcggt gctgcagctg ggaggtgcag gagcaggcag
541 tccactcact ccatgcactc aaagggcagt ctgaagaaga gagattagtg aaggcccgt

LOCUS JF773811 296 bp DNA linear VRT 13-APR-2011
DEFI NITION Acipenser persicus clone Ape-71 microsatellite sequence.
ACCESSION JF77381 1
VERSION JF773811
KEYWORDS
SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon)
ORGANISM Acipenser persicus
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae;
Acipenser.
REFERENCE 1 (bases 1 to 296)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian
Sturgeon
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 296)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (04-APR-201 1) Stock Assessment, Caspian Sea Ecology
Institute, P.O. Box961, Sari, Mazandaran48l75-1113, Iran
FEATURES Location/Qualifiers
source 1 . .296
/organism=Acipenser persicus”
/mol_type=”genomic DNA”
/db_xref=”taxon:61 968”
/clone=”Ape-71”
repeat_reg ion 1 . .296
/rpt_type=tandem
/satellite=’microsatellite”
ORIGIN
1 atttcggaga aaccttcaga gagagaggga gcgacaaact tactcctgag aggagaaaga
61 agaggagaga ggagaggaga ggagaggaga gaggttaatt taacaatgtc acaaacacac
121 acagtgacag acagacagac agacagacag acagacagac agacagacag acagacagac
181 agacacagac actcacttgt agctgtggaa taccatatca ttgactgtgg gctggttttt
241 ctgcgagggc tgcatctgac gaaactgaga gaagagaaga gatttcacat tgctgt

LOCUS JF773812 292 bp DNA linear VRT 13-APR-2011
DEFI NITION Acipenser persicus clone Ape-73 microsatellite sequence.
ACCESSION JF773812
VERSION JF773812
KEYWORDS
SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon)
ORGANISM Acipenser persicus
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae;
Acipenser.
REFERENCE 1 (bases 1 to 292)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian
Sturgeon
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 292)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (04-APR-201 1) Stock Assessment, Caspian Sea Ecology
Institute, P.O. Box961, Sari, Mazandaran48l75-1113, Iran
FEATURES Location/Qualifiers
source 1 . .292
/organism=Acipenser persicus”
/mol_type=”genomic DNA”
/db_xref=’taxon:61 968”
/clone=”Ape-73”
repeat_reg ion 1 . .292
/rpt_type=tandem
/satellite=”microsatellite”
ORIGIN
1 atttcggaga aaccttcaga gagagaggga gcgacaaact tactcctgag aggagaaaga
61 agaggagaga ggagaggaga ggagaggaga gaggttaatt taacaatgtc acaaacacac
121 acagtgacag acagacagac agacagacag acaggcagac agacagacag acagacagac
181 acagacactc acttgtagct gtggaatacc atatcattga ctgtgggctg gtttttctgc
241 gagggctgca tctgacgaaa ctgagagaag agaagagatt tcacattgct gc

LOCUS JF773813 295 bp DNA linear VRT 13-APR-2011
DEFI NITION Acipenser persicus clone Ape-76 microsatellite sequence.
ACCESSION JF773813
VERSION JF773813
KEYWORDS
SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon)
ORGANISM Acipenser persicus
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae;
Acipenser.
REFERENCE 1 (bases 1 to 295)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian
Sturgeon
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 295)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (04-APR-201 1) Stock Assessment, Caspian Sea Ecology
Institute, P.O. Box961, Sari, Mazandaran48l75-1113, Iran
FEATURES Location/Qualifiers
source 1 . .295
/organism=”Acipenser persicus”
/mol_type=”genomic DNA”
/db_xref=’taxon:61 968”
/clone=”Ape-76”
repeat_reg ion 1 . .295
/rpt_type=tandem
/satellite=”microsatellite”
ORIGIN
1 atttcggaga aaccttcaga gagagaggga gcgacaaact tactcctgag aggagaaaga
61 agaggagaga ggagaggaga ggaaaggaga gaggttaatt taacaatgtc acaaacacac
121 acagtgacag acagacagac agacagacag acagacagac agacagacag acagacagac
181 agacacagac actcacttgt agctgtggaa taccatatca ttgactgtgg gctggttttt
241 ctgcgagggc tgcatctgac gaaactgaaa gaagagaaga gatttcacat tgctg

LOCUS JF773814 271 bp DNA linear VRT 13-APR-2011
DEFI NITION Acipenser persicus clone Ape-77 microsatellite sequence.
ACCESSION JF773814
VERSION JF773814
KEYWORDS
SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon)
ORGANISM Acipenser persicus
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae;
Acipenser.
REFERENCE 1 (bases 1 to 271)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian
Sturgeon
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 271)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (04-APR-201 1) Stock Assessment, Caspian Sea Ecology
Institute, P.O. Box961, Sari, Mazandaran48l75-1113, Iran
FEATURES Location/Qualifiers
source 1.271
/organism=Acipenser persicus”
/mol_type=”genomic DNA”
/db_xref=’taxon:61 968”
/clone=”Ape-77”
repeat_reg ion 1 . .271
/rpt_type=tandem
/satellite=”microsatellite”
ORIGIN
1 acttgaacat ctcagccagg aagaacgagt ccatgctgga gagagacaga gagcaaggag
61 tcagagagag agagagagag agagagagag agagagagag agagagagag agagagagag
121 caaggagtcc gagagagaga tagagagcat tgtggatcaa acagacagac agacacgggg
181 gctggcgctg ggagtcaccc tcaccggtcc tcgtggctgc cggtccgcac gtctttcatg
241 gcagcgaagc cacagggaac tcgggcgaac t

LOCUS JF773815 252 bp DNA linear VRT 13-APR-2011
DEFI NITION Acipenser persicus clone Ape-78 microsatellite sequence.
ACCESSION JF773815
VERSION JF773815
KEYWORDS
SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon)
ORGANISM Acipenser persicus
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae;
Acipenser.
REFERENCE 1 (bases 1 to 252)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian
Sturgeon
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 252)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (04-APR-201 1) Stock Assessment, Caspian Sea Ecology
Institute, P.O. Box961, Sari, Mazandaran48l75-1113, Iran
FEATURES Location/Qualifiers
source 1 . .252
/organism=Acipenser persicus”
/mol_type=”genomic DNA”
/db_xref=”taxon:61 968”
/clone=”Ape-78”
repeat_reg ion 1 . .252
/rpt_type=tandem
/satellite=”microsatellite”
ORIGIN
1 accacagctc ccagttcact gaaccattgg agtattgagg cactgcctgc tgcctaaaac
61 agcagacaga cagacagaca gacagacaca gagccccaca atcctgttca gtctgacact
121 acaatagaat tccttgttgg tgtgcgttta ctgttgggca atgtagagaa agtggagccg
181 atgggttaat aaaccccctc cccctctcta caggggcagg cgaggctaac ttcgacgccc
241 tggactcgaa cc

LOCUS JF773816 454 bp DNA linear VRT 13-APR-2011
DEFI NITION Acipenser persicus clone Ape-80 microsatellite sequence.
ACCESSION JF773816
VERSION JF773816
KEYWORDS
SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon)
ORGANISM Acipenser persicus
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae;
Acipenser.
REFERENCE 1 (bases 1 to 454)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian
Sturgeon
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 454)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (04-APR-201 1) Stock Assessment, Caspian Sea Ecology
Institute, P.O. Box961, Sari, Mazandaran48l75-1113, Iran
FEATURES Location/Qualifiers
source 1 .454
/organism=Acipenser persicus”
/mol_type=”genomic DNA”
/db_xref=”taxon:61 968”
/clone=”Ape-80”
repeat_reg ion 1 .454
/rpt_type=tandem
/satellite=”microsatellite”
ORIGIN
1 acgcctataa gtggaagtac actgcagtga attagatggt gctgctgctt attgatatgt
61 gtccatagca ggcagttaga actaatagtc aaagcacctg aacacaatat tggagttaac
121 gggggttca ggaggctttc tatctgtctg tctgtctgtc tgtctgtctg tctgtctgtc
181 tgtctgtctg tctgtctgtc tgtctctgcc tgcctgcctg cctgtctgtc tgcctgcccg
241 tctgcctgcc tgcctgtctg tctgtcttgt cttgtctgtc tctctgtctg tctgtcttgt
301 cttgtctgtc tctctgcctg cctgcctgcc tgtctgcctg aacaaagtgc tttgttttgt
361 tgttgctctt tagggttctt actaggggtg tgctaatact cacattttag atctcacagc
421 taactaatgt attgtggtga cttaggttta aagt

LOCUS JF773817 168 bp DNA linear VRT 13-APR-2011
DEFI NITION Acipenser persicus clone Ape-81 microsatellite sequence.
ACCESSION JF773817
VERSION JF773817
KEYWORDS
SOURCE Acipenser persicus (Persian sturgeon)
ORGANISM Acipenser persicus
Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
Actinopterygii; Chondrostei; Acipenseriformes; Acipenseridae;
Acipenser.
REFERENCE 1 (bases 1 to 168)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Isolation and Characterization of Microsatellite Markers in Persian
Sturgeon
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 168)
AUTHORS Moghim,M., Heist,E.J., Tan,S.G., Pourkazemi,M., Siraj,S.S.,
Panadam,J.M., Motalebi,A. and Sharif Rohani,M.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (04-APR-201 1) Stock Assessment, Caspian Sea Ecology
Institute, P.O. Box961, Sari, Mazandaran48l75-1113, Iran
FEATURES Location/Qualifiers
source 1.168
/organism=Acipenser persicus”
/mol_type=’genomic DNA”
/db_xref=”taxon:61 968”
/clone=’Ape-81”
repeat_region 1.168
/rpt_type=tandem
/satellite=”microsatellite”
ORIGIN
1 ggttccaatg tatcaggcaa aagaagagag atagaagaga gagagagaga gagagagaga
61 gagagagaga gagagagaga gagagagaga gacacagaca gacagacaga cagacacact
121 gtctaaccac ccagctaatg gagctgctcg gcagcagatt cctgcagt

Abstract

In order to have a sustainable management on Persian sturgeon (Acipenser persicus) as a highly commercial species in the South Caspian Sea, we need to identify its population structure and the level as well as its conservation status in their natural habitat. To develop a conservation program for this all Caspian Sea' sturgeon species it requires knowledge of its genetic diversity using reliable molecular marker to study population genetic structure. For these purposes, an enriched library was prepared based on a modified biotin-capture method. Approximately 1800 positive clones were screened for microsatellites in an Acipenser persicus genomic library. Of these 350 positively hybridizing clones were sequenced, and 81 clones were identified as having microsatellites with adequate flanking regions.

We developed and tested 68 microsatellite primer pairs for Persian sturgeon. Out of 68 primer pairs developed, 11 pairs resulted in poor or no amplification, 13 were ambiguous, 6 were monomorphic, 20 were tetrasomic and 18 were octosomic in Persian sturgeon. While none of the markers showed disomic inheritance in Persian sturgeon and Russian sturgeon (A. gueldenstaedtii). Several of the markers appeared useful for studies stellate sturgeon (A. stellatus), ship sturgeon (A.nudiventris) and beluga (Huso huso). Nearly all the polymorphic pattern for ship, stellate and beluga displayed the simple banding patterns characteristic of disomic loci, while those for Russian sturgeon displayed banding patterns characteristic of tetraploid or higher polyploid levels. These markers may prove useful in a variety of future sturgeon population genetic studies in the Caspian Sea.

Keywords: Persian sturgeon, Acipenser persicus Caspian Sea, Microsatellite, Population genetic,