

**بررسی چند شکلی ژن لپتین و ارتباط آن با افزایش وزن روزانه در گوسفند بلوچی**

مجتبی طهمورث پور، محمدرضا نصیری، مازیار انصاری، علیرضا هروی موسوی، مهدی وفای واله و فریدون افتخار شاهرودی  
استادیار، استادیار، دانشجوی کارشناسی ارشد، استاد یار، دانشجوی دکتری و استاد گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی

مشهد

چکیده

به منظور بررسی چند شکلی ژن لپتین و ارتباط آن با میانگین افزایش وزن روزانه از تعداد ۱۱۴ رأس گوسفند نر و ماده بلوچی ایستگاه عباس  
مشهد به طور تصادفی خونگیری شد. استخراج DNA و واکنش زنجیره پلی مرز (PCR) جهت تکثیر قطعه ۲۷۵ جفت بازی از اگزون ۳  
ژن لپتین انجام شد. چند شکلی فضایی تک رشته ای (SSCP) محصولات PCR تعیین شد. برای ژن لپتین سه الگوی باندهای (ژنوتیپ)  $L_1$ ،  $L_2$   
و  $L_3$  به ترتیب بدست آمد. برای مشاهده قطعات حاصل، از ژل اکریل آمید و رنگ آمیزی تیرات نقره استفاده گردید. ارتباط بین ژنوتیپ ها با  
سفت میانگین افزایش وزن روزانه به وسیله مدل‌های مختلط مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. اثر ژنوتیپ های ژن لپتین بر افزایش وزن روزانه از  
نکته تا از شیرگیری ( $P < 0/10$ ) معنی دار گردید.

کلمات کلیدی: لپتین، چند شکلی، PCR-SSCP، افزایش وزن روزانه، گوسفند بلوچی.

**پلی مورفیسم ژن بتا-دفنسین و ارتباط آن با سلول های سوماتیک در گاو های هلشتاین ایران**

موسی معینی<sup>۱</sup>، مرتضی پشمی<sup>۱\*</sup>، سیدعلی قرشی<sup>۱</sup>، عباس جمشیدی زاد<sup>۲</sup>

(۱) گروه علوم دامی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر، زنجان، ایران،

(۲) پژوهشگاه ملی تحقیقات مهندسی ژنتیک و تکنولوژی زیستی، تهران، ایران

(۳) گروه علوم دامی، دانشگاه زنجان، ایران

چکیده

این مطالعه پلی مورفیسم ژن بتا-۴-دفنسین در ۲۹۰ رأس از ۱۰ گله مختلف گاو های هلشتاین مورد بررسی قرار گرفت. ابتدا DNA ژنومی  
خون کامل گاو های مورد آزمایش استخراج گردید و سپس آزمایش PCR دو مرحله ای به منظور تکثیر ژن مذکور به طول ۱۶۳۸ جفت باز  
جام گردید. محصولات Nested-PCR با آنزیم محدود کننده TaqI مورد هضم آنزیمی قرار گرفتند و نتیجه حاصل بر روی ژل پلی آگار ۴  
برسد الکتروفورز گردید. تعداد ۲۰ آلل مختلف مشاهده شد که ۱۳ آلل دارای بیشترین فراوانی با دامنه فراوانی ۰/۰۲ تا ۰/۲۹ در آنالیز آماری وارد  
شد. آنالیز آماری نشان داد که پلی مورف های مختلف این جایگاه ژنی در صفات تولیدی مانند تولید شیر، چربی، پروتئین و اسکور سلول های  
سوماتیک اثر معنی داری دارد.

کلمات کلیدی: بتا-۴-دفنسین، PCR-RFLP، پلی مورفیسم، سلول های سوماتیک، گاو های هلشتاین ایران

## بررسی چند شکلی ژن لپتین و ارتباط آن با افزایش وزن روزانه در گوسفند بلوچی

مجتبی طهمورث پور، محمدرضا نصیری، مازیار انصاری، علیرضا هروی موسوی، مهدی وفای واله و فریدون افتخار شاهرودی  
استادیار، استادیار، دانشجوی کارشناسی ارشد، استاد یار، دانشجوی دکتری و استاد گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی  
مشهد

### چکیده

به منظور بررسی چند شکلی ژن لپتین و ارتباط آن با میانگین افزایش وزن روزانه از تعداد ۱۱۴ رأس گوسفند نر و ماده بلوچی ایستگاه عباس آباد مشهد به طور تصادفی خونگیری شد. استخراج DNA و واکنش زنجیره پلی مرز (PCR) جهت تکثیر قطعه ۲۷۵ جفت بازی از اگزون ۳ این ژن انجام شد. چند شکلی فضایی تک رشته ای (SSCP) محصولات PCR تعیین شد. برای ژن لپتین سه الگوی بانندی (ژنوتیپ)  $L_1$ ،  $L_2$  و  $L_3$  به ترتیب بدست آمد. برای مشاهده قطعات حاصل، از ژل اکریل آمید و رنگ آمیزی نترات نقره استفاده گردید. ارتباط بین ژنوتیپ ها با صفت میانگین افزایش وزن روزانه به وسیله مدل های مختلط مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. اثر ژنوتیپ های ژن لپتین بر افزایش وزن روزانه از تولد تا از شیرگیری ( $P < 0/10$ ) معنی دار گردید.

**کلمات کلیدی:** لپتین، چند شکلی، PCR-SSCP، افزایش وزن روزانه، گوسفند بلوچی.

### مقدمه

لپتین یک پروتئین ۱۶ کیلو دالتونی می باشد که از بافتهای آدیپوز بخصوص آدیپوز سفید، ترشح می شود و وظیفه تنظیم وزن بدن، دریافت غذا، سوخت و ساز انرژی، تولید مثل و سیستم ایمنی بدن را برعهده دارد این پروتئین اولین بار در موش کشف شد، پروتئین لپتین در حال گردش در خون، دارای ۱۴۶ اسید آمینه می باشد. ژن لپتین گاوی دارای سه اگزون و دو اینترون می باشد و در روی کروموزم شماره ۴ گاو واقع شده است (۲). لیندرسون و همکاران (۳)، مکانهای کنترل کننده صفات کمی (QTL) برای صفات تولید شیر در ۸۲/۸ سانتی مورگان و برای درصد چربی و پروتئین شیر در ۷۵ و ۹۵ سانتی مورگانی این ژن مکان یابی کردند. آلمیدا و همکاران (۱) گزارش کردند که الهای یک RFLP-Sau3AI باعث افزایش فاصله گوساله زائی به مدت ۸۱-۷۹ روز می شود. لانگونیگرو و همکاران (۲) گزارش کردند که افراد با ژنوتیپ AT حدود ۱۹٪ مصرف خوراک بیشتری نسبت به افراد AA از خود نشان می دهند. زیرجوفسکی و همکاران (۵) با استفاده از تکنیک PCR-RFLP به بررسی فراوانی آللی این ژن پرداختند. ابتدا یک قطعه ۱۸۲۰ جفت بازی از ژن لپتین را تکثیر کرده و سپس توسط آنزیم Sau3AI مورد هضم قرار دادند که نتیجه آن تشخیص سه آلل A، B و C با فراوانی ۰/۷۹، ۰/۱۱ و ۰/۱۰ بود. تسانی و همکاران (۴) ارتباط پلی مورفیسم در ژن لپتین گاوی را با اختلاف در صفات لاشه گاو بررسی کردند. در این مطالعه، برای شناسایی پلی مورفیسم در ژن لپتین در گله گاوهای گوشتی دو میکروساتلایت و دو RFLP را مورد بررسی قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که بین ژنوتیپهای PCR-RFLP و میکروساتلایت و نمره Marbling ارتباط معنی داری وجود دارد.

### مواد و روشها

از تعداد ۱۱۴ راس گوسفند نر ماده بلوچی واقع در ایستگاه عباس آباد مشهد خون گرفته شد. جهت جلوگیری از انعقاد خون از لوله های حاوی EDTA استفاده شد. استخراج DNA از خون تام با استفاده از روش گوانیدین تیوسیانات-سیلیکاژل انجام گرفت. جهت تعیین غلظت نمونه های استخراج DNA شده، از روش مبتنی بر اسپکتروفوتومتر استفاده گردید. آغازگرهای ژن لپتین بر اساس توالی DNA اگزون ۳ ژن لپتین به شماره شناسائی EF534374 با استفاده از نرم افزار Primer premier 5 طراحی شد.

LeptF: 5'-GCTCCACCCTCTCCTGAGTTTGTCC-3'  
LeptR: 5'-TGTCCTGTAGAGACCCCTGTAGCCG-3'

واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر و با برنامه حرارتی زیر: ۹۵ درجه سانتیگراد جهت واسرشت اولیه DNA بمدت ۲۴۰ ثانیه، واسرشت ثانویه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۴۵ ثانیه، دمای ۶۶/۵ درجه سانتیگراد جهت اتصال پرایمرها بمدت ۵۵ ثانیه، دمای ۷۲ درجه سانتیگراد جهت بسط آغازگرها بمدت ۷۵ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی گراد برای بسط نهائی به مدت ۶۰۰ ثانیه به تعداد ۳۸ سیکل

انجام شد. صحت قطعه به دست آمده از محصول PCR بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد و رنگ آمیزی اتیدیوم بروماید به همراه نشانگر وزنی M ۱۰۰ مورد تایید قرار گرفت. برای انجام SSCP از محلول MDE GEL SOLUTION شرکت Lonza با غلظت ۰/۵X استفاده شد (شکل ۱). به منظور بررسی ارتباط چند شکلی ژن لپتین و صفت میانگین افزایش وزن روزانه (۳-۰ ماهگی) از مدل‌های مختلط و از رویه حداقل میانگین مربعات با استفاده از نرم افزار آماری JMP (نسخه ۴) استفاده شد.

$$Y_{ijboqrp} = \mu + G_i + T_b + S_j + C_{ij} + b_1(\overline{ag}_{ijboqrp} - \overline{ag}) + b_2(\overline{day}_{ijboqrp} - \overline{day}) + Sr_q[D_r] + Y_o + e_{ijboqrp}$$

$Y_{ijboqrp}$  - متغیر تابع مورد نظر

$\mu$  - میانگین تصحیح شده

$G_i$  - اثر ژنوتیپ

$Sr_q[D_r]$  - مادر Nest شده در پدر

$S_j$  - اثر جنس

$T_b$  - اثر تیپ تولد

$e_{ijboqrp}$  - متغیر خطا یا اثرات تصادفی باقیمانده

$C_{ij}$  - اثر متقابل ژنوتیپ و جنس

$ag_{ijboqrp}$  - متغیر مستقل سن مادر در هنگام تولد

$day_{ijb}$  - متغیر مستقل تعداد روز شیرخوارگی

$\overline{day}$  - میانگین تعداد روز شیرخوارگی

$Y_o$  - سال تولد

$b_1$  - ضریب تابعیت متغیر سن مادر در هنگام تولد

$b_2$  - ضریب تابعیت متغیر تعداد روز شیرخوارگی

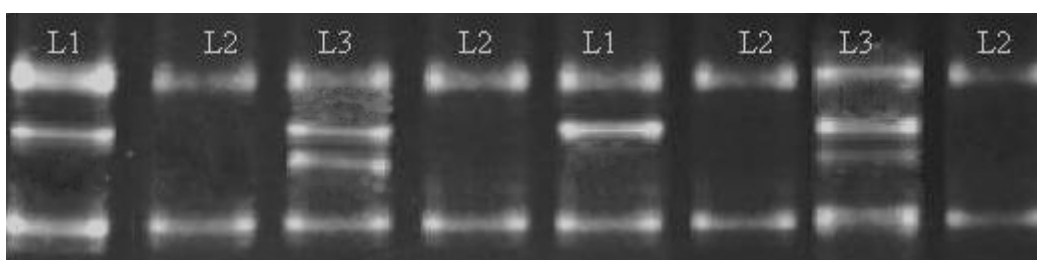
$\overline{ag}$  - میانگین سن مادر در هنگام تولد

## نتایج

تکثیر قطعه ۲۷۵ جفت بازی از آگزون ۳ ژن لپتین به کمک واکنش زنجیره ای پلی مرز با استفاده از آغازگرهای اختصاصی بخوبی صورت گرفت. چند شکلی فضائی تک رشته ای (SSCP) جایگاه ژنی لپتین در گوسفند بلوچی، بطور موفقیت آمیزی انجام شد و برای آن سه الگوی بانندی مشاهده شد (شکل ۱). ارتباط بین چند شکلی ها و میانگین افزایش وزن روزانه با استفاده از مدل‌های مختلط با استفاده از نرم افزار JMP (نسخه ۴) بررسی شد. اثر چند شکلی ژن لپتین بر افزایش وزن روزانه معنی دار بود. نتایج نشان داد که ژنوتیپ L<sub>1</sub> برای ژن لپتین بالاترین میزان رشد روزانه را دارد. مقایسه میانگین ژنوتیپها به وسیله آزمون استیودنت تفاوت معنی داری را بین ژنوتیپ های L<sub>1</sub> و L<sub>2</sub> نشان می داد (جدول ۱).

جدول ۱: میانگین حداقل مربعات و انحراف معیار صفت افزایش وزن روزانه (۳-۰ ماهگی)

Gene	Leptin		
Genotype	L1	L2	L3
ADG (g/day)	230 ± 12	182 ± 14	215 ± 6.5





### بحث

نتایج این پژوهش نشان داد که چندشکلی ژنتیکی در جایگاههای ژنی لپتین وجود دارد. همچنین با توجه به اینکه اثر ژنوتیپها بر میانگین افزایش وزن روزانه از تولد تا سه ماهگی معنی دار بود ممکن است بتوان از آن بعنوان یک شاخص در انتخاب گوسفندان بلوچی حداقل برای دوره اول رشد استفاده نمود.

### منابع

- 1- Almeida, E. A., J. C. Almeida, F. Morques and T. weimer. 2003. Molecular marker in the leptin gene and reproductive performance of beef cattle. V120 (2)106.
- 2- Lagonigro, R.P., F. Wiener, J. Pilla, A. Woolliams, 2003. A new mutation in the coding region of the bovine leptin gene associated with feed intake. Animal Genetics. 34(5):371-374.
- 3- Liendersoon, M.L., D. Anderson, J. de Konine. 1998. Mapping of serum amylase-1 and quantitative trait loci for milk production traits to cattle chromosome. J. Dairy Sci. 81:1454-461.
- 4- Tessanne, K., H.C. Hines and M.E. Davis. 1999. Relationships of polymorphism in the bovine leptin gene with differences in beef carcass traits. The ohio state University Department of Animal Sci.
- 5- Zwierzchowski, L., J. Krzyzewski, N. Strzalkowska, E. Siadkowska and Z. Rynieweaz. 2002. Effects of polymorphism of growth hormone, Pit-1, leptin gene, cows age, lactation stage and somatic cell count on milk yield and composition of Polish Black- White cows. Animal science papers and reports: Vol. 20(4): 213-27.