نشریه علوم دامی
شماره ۹۱، تابستان ۱۳۹۰
(پژوهش و سازندگی)

بررسی چند شکلی اگزون ۲۰ ژن گیرنده لپتین در نژادهای گاوبومی سیستانی، گلپایگانی، نجدی و سرابی

• **علی اصغراسلمی نژاد**
استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
• **مجتبی طهمورث پور**
دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
• **عبد الرؤف الشوکانی** (نویسنده مسئول)
دانشجوی دکترای تخصصی ژنتیک و اصلاح نژاد دام، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
تاریخ دریافت: خرداد ماه ۱۳۸۹ تاریخ پذیرش: خرداد ماه ۱۳۹۰
تلفن تماس: ۰۹۱۵۶۲۴۱۸۴۹
Email: abdualraufa@yahoo.com

چکیده

گیرنده‌های ژن لپتین گلیکوپروتئین هایی هستند که در درون و سطح غشاء سلولی و همچنین در سیتوپلاسم قرار دارند. در گاو ژن گیرنده لپتین بر روی کروموزوم ۳ قرار گرفته است. در این مطالعه از ۵۳ گاو سیستانی، ۷۲ گاو گلپایگانی، ۴۲ گاو نجدی و ۱۲۹ گاو سرابی نمونه خون جمع آوری و استخراج DNA انجام شد. واکنش زنجیره پلی مراز جهت تکثیر قطعه ۱۹۸ جفت بازی از اگزون۲۰ این ژن انجام گرفت. و سپس با آنزیم FokI هضم گردید. آلل C دو قطعه ۱۲۴ و ۷۳ جفت بازی و آلل T سه قطعه ۹۷، ۷۳ و ۲۷ جفت بازی را نشان دادند. فراوانی‌های ژنوتیپی CC و TC به ترتیب برای نژادهای سیستانی، گلپایگانی، نجدی و سرابی برابر با (۰/۸۱۱ و۰/۱۸۹)، (۰/۸۳۳ و ۰/۱۶۷)، (۰/۸۱۰ و ۰/۱۹۰) و (۰/۵۵۰ و ۰/۴۵۰) بودند و همچنین ژنوتیپ هموزیگوت جهش یافته در هیچ یک از نژادها مشاهده نشد. فراوانی‌های آللی نیز برای آلل هایC و T (۰/۹۰۶ و ۰/۰۹۴)، (۰/۹۱۷ و ۰/۰۸۳)، (۰/۹۰۵ و ۰/۰۹۵) و (۰/۷۷۵ و ۰/۲۲۵) به همان ترتیب برآورد گردیدند. تعادل هاردی- وینبرگ در جمعیت نژادهای سیستانی، گلپایگانی و نجدی برقرار بود ولی در نژاد سرابی برقرار نبود.

کلمات کلیدی: گیرنده لپتین، RFLP ، سیستانی، گلپایگانی، نجدی، سرابی

Animal Sciences Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 91 pp: 44-50

Study of the polemorpyism in the exon 20 leptin receptor in native cow breeds of Sistani, Golpayegani, Najdi and Sarabi

By: A. A. Aslaminejad, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi Universityv of Mashhad, Mashhad, Iran. M. Tahmoorespour, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi Universityv of Mashhad, Mashhad, Iran. and A. R. Al Shawkany, Ph.D Student Animal Breeding and Genetics, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran (Corresponding Author; Tel: +989156241849)

The objective of the present investigation was to study genetic variations in the exon of leptin receptor gene of Iranian cattle breeds. Blood samples were randomly collected from 53 Sistani, 129 Sarabi, 42 Najdi and 72 Golpaygani cattle breeds. Genomic DNA was extracted from blood using guanidium thiocyanate-silica gel method. A 197 bp fragment from exon 20 of the bovine leptin receptor gene was amplified using the polymerase chain reaction. Digestion of PCR products with FokI restriction endonucleases enzyme differentiates two C and T alleles. The T allelic frequency was 0.094, 0.225, 0.095 and 0.083 in Sisatni, Sarabi, Najdi and Golpaygani cattle breeds, respectively. The CC and CT genotypes were observed in all breeds but TT genotype was not found in any breed. Genotypic frequencies for CC and CT were (0.811, 0.189), (0.550, 0.450), (0.810, 0.190) and (0.833, 0.167) in Sistani, Sarabi, Najdi and Golpaygani cattle breeds, respectively. The Average Heterozygosity was 0.1709, 0.3485, 0.1723 and 0.1528, in Sistani, Sarabi, Najdi and Golpaygani cattle breeds, respectively.Among all populations just Sarabi was not in Hardy-Weinberg equilibrium with respect to Leptin receptor gene.

Keywords: Leptin receptor, PCR-RFLP, Sistani, Sarabi, Najdi, Golpaygani.

مقدمه

پیشرفت در اصلاح نژاد دام‌ها با ترکیب داده‌های فنوتیپی و اطلاعات ژنتیک مولکولی باعث بهبود در شاخص انتخاب خواهد شد. ژن‌های نماینده برای مطالعات، بر پایه ارتباطات شناخته شده بین فرایندهای فیزیولوژیکی و بیولوژیکی انتخاب می‌شوند. گیرنده‌های ژن لپتین گلیکوپروتئین‌هایی هستند که در درون و سطح غشای سلولی و همچنین در سیتوپلاسم قرار دارند. شش گیرنده‌ی لپتین که دارای شکل یکسان هستند (Ob-Rf, Ob-Re, Ob-Rd, Ob-Rc, Ob-Rb, Ob-Ra) در بافت‌های مختلف یافت شده‌اند. قسمتی از گیرنده‌هایی که در داخل سلول هستند طول متفاوت دارند ولی در قسمت خارجی آن برابر هستند. فرم ob/Rb طولانی‌تر است و به طور برجسته در هیپوتالاموس بیان می‌شود و در انتقال سیگنال‌ها نقش مهمی دارد. ob/Ra در شبکه سد خون و در شبکه جفت شناسایی شده است. لپتین به وسیله مکانیسم خاصی و مستقل از انسولین به مغز منتقل می‌شود (۱، ۲). به نظر می‌آید که ob/Ra در انتقال لپتین در میان BBB[1] نقش مهمی دارد (۲، ۱۳). گیرنده‌ای ob-Rb به طور عمده در هیپوتالاموس بیان می‌شوند، که در تنظیم مصرف غذا و هموستازی انرژی دخالت می‌کند. همسان‌های دیگری در همه جا توسعه پیدا کرده و به مراتب بیشتر در بافت‌های محیطی نسبت به ob-Rb مشاهده می‌شوند (۶). گیرنده‌های لپتین عضو خانواده سایتوکین هستند، که از طریق مکانیسم سیگنال انتقال دهنده پیام و فعال کننده رونویسی عمل می‌کنند[2] (۴، ۱۴). لپتین به رسپتورهایی خود متصل می‌شود، که نتیجه آن کاهش مصرف خوراک و افزایش تجمع انرژی است. لپتین باعث بهبود باروری و کاهش توده چربی بدن نیز می‌شود(۸، ۱۱، ۱۵). غلظت لپتین در انسان در دوران بلوغ افزایش می‌یابد و فقط در نرها بعد از بلوغ به علت مهار کننده تستسترون کاهش می‌یابد، که این بیانگر تاثیر اختلاف جنس در ترشح لپتین می‌باشد. با تزریق لپتین شروع بلوغ در موش پیشرفت می‌کند(۱۱). غلظت لپتین در تلیسه از ۱۶ هفته قبل از بلوغ افزایش خطی دارد و همبستگی با وزن بدن دارد (۱۰). ژن گیرنده لپتین بر روی کروموزوم ۳ گاو قرار گرفته است و شامل ۲۰ اگزون می‌باشد. توالی ژن گیرنده‌های لپتین در انسان، موش صحرایی، خانگی و خوک شناخته شده است ولی فقط بخش‌هایی از توالی گیرنده‌های ژن لپتین در گاو و گوسفند گزارش شده است. این توالی در موش خانگی و صحرایی، انسان، خوک، گوسفند و گاو ۴۵ درصد شباهت دارند(۱۰). گیرنده‌های لپتین در مرغ همسانی بالایی با گیرنده‌های لپتین پستانداران دارند. این گیرنده‌ها در هیپوتالاموس و بافت‌های دیگری مانند پانکراس شناسایی شده‌اند. در موش دیابتی کمبود یک نوکلئوتید در ناحیه سیتوپلاسم گیرنده لپتین منجر به جهش نقطه‌ای می‌شود که تغییر در الگوی اتصال و در نتیجه انتقال سیگنال توسط گیرنده‌های لپتین کاهش می‌یابد. در موش‌های Zacker تبدیل گلوتامین به پرولین در گیرنده لپتین اتفاق افتاده که میل ترکیبی و قدرت انتقال لپتین را کاهش می‌دهد (۹). Liefers و همکاران (۲۰۰۴) جهش‌های روی اگزون‌های ۱۱، ۱۶، ۲۰ را توسط تعیین توالی ۲۰ گاو هلشتاین بررسی کردند و هیچ چند شکلی را در اگزون ۱۱و ۱۶ گزارش نکردند، ولی یک جهش نقطه‌ای در اگزون ۲۰ مشاهده کردند. این جهش در نوکلئوتید ۱۱۵ که C به T تبدیل می‌شود ایجاد و باعث جایگزین اسید آمینه تریونین به متیونین می‌شود. این جهش به T۹۴۵M معروف می‌باشد. آنان ارتباط این جهش با غلظت لپتین در مراحل مختلف آبستنی و با صفات تولیدی را بررسی کردند و دریافتند که این جهش ارتباط معنی دار با غلظت لپتین در مرحله آخر

آبستنی داشته ولی با مرحله تولید شیر بعد از زایمان رابطه ندارد. هدف از این انجام این مطالعه شناسایی این جهش و محاسبه فراوانی ژنی و ژنوتیپی آن در گاو های بومی ایران بود.

مواد و روش‌ها

نمونه گیری

در مجموع از ۵۳ گاو سیستانی، ۷۲ گاو گلپایگانی، ۴۲ گاو نجدی و ۱۲۹ گاو سرابی نمونه خون گرفته شد. خونگیری از ورید وداجی صورت گرفت. جهت جلوگیری از انعقاد خون از لوله‌های حاوی EDTA استفاده شد و نمونه‌ها بلافاصله پس از خونگیری به یخچال منتقل و تا زمان استخراج DNA در ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری گردیدند.

استخراج DNA

استخراج DNA از خون تام با استفاده از روش گوانیدین تیوسیانات- سیلیکاژل[۳] انجام گرفت. جهت تعیین غلظت DNA استخراج شده، از ژل آگارز ۱ درصد استفاده شد.

انتخاب آغازگرها

در این مطالعه از آغازگرهای Almeida و همکاران (۲۰۰۸) استفاده گردید. این پرایمرها طوری طراحی شده‌اند که یک جایگاه برشی برای آنزیم FOKI ایجاد می‌کند تا افراد جهش یافته تشخیص داده شود.

LeptF: ۵`- ACTACAGATGCTCTACTTTGG۳-`

LeptR: ۵`- TGCTCCTCCTCAGTTT۳-`

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز

انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز به حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر که ترکیب آن عبارت از یک واحد آنزیم Taq Polymerase، ۲۰۰ میکرومول از هر dNTP، ۲۰۰ میکرومول MgCl۲ ، ۲۰-۱۰ پیکومول مخلوط پرایمرها، ۱۰۰-۵۰ نانوگرم DNA و بافر استاندارد بود، صورت گرفت. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با برنامه حرارتی ۳۵ مرحله با دمای واسرشت اولیه ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت سه دقیقه، دمای واسرشت ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۴۵ ثانیه، دمای اتصال ۵۸ درجه سانتی گراد به مدت ۴۵ ثانیه، دمای تکثیر ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۴۵ ثانیه و دمای تکثیر نهایی ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۸ دقیقه انجام شد.برای مشاهده محصولات واکنش زنجیره‌ای پلیمراز از ژل آگارز ۱/۵ درصد و ولتاژ ۸۰ ولت به مدت ۳۰ دقیقه استفاده شد. رنگ آمیزی ژل با اتیدیوم بروماید (۱۰ mg/ml) انجام گرفت.

واکنش هضم آنزیمی

هضم قطعه ۱۹۷ جفت بازی تکثیر شده ژن گیرنده لپتین با استفاده از آنزیم برشی FokI که جایگاه برشی (GGATGNN) را شناسایی می‌کند انجام گرفت. واکنش به مدت ۵ ساعت و در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد با مقادیر ۵ میکرولیتر محصول PCR، ۲ میکرولیتر بافر X ۱۰، ۳ واحد آنزیم برشی و ۱۲ میکرولیتر آب مقطر در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر انجام شده است.

برای مشاهده قطعات هضم شده ژل آکریل آمید ۸ درصد تهیه شد. الکتروفورز با ولتاژ ۱۲۰ و به مدت ۲ ساعت انجام شد. باندهای ۱۲۴، ۹۷ و ۷۳ به خوبی قابل رویت بودند. قطعه ۲۷ در این درصد ژل قابل رویت نبود.

هنگام هضم آنزیمی محصولات واکنش زنجیره‌ای پلیمراز، در صورت هتروزیگوت بودن TC چهار باند ۱۲۴، ۷۳، ۹۷ و ۲۷ جفت بازی مشاهده می‌شود و در صورت هموزایگوسیتی CC قطعات ۱۲۴ و ۷۳ حاصل می‌شود اما در صورت هموزایگوسیتی TT قطعات ۷۳، ۹۷ و ۲۷ به دست خواهد آمد.

تجزیه آماری ژنو تیپ‌ها

جهت آزمون برقراری تعادل هاردی- وینبرگ، فراوانی آللی و شاخص هتروزیگوسیتی از آزمون کای مربع با استفاده از نرم افزار PoPGene۳,۲ استفاده شد(۵).

نتایج و بحث

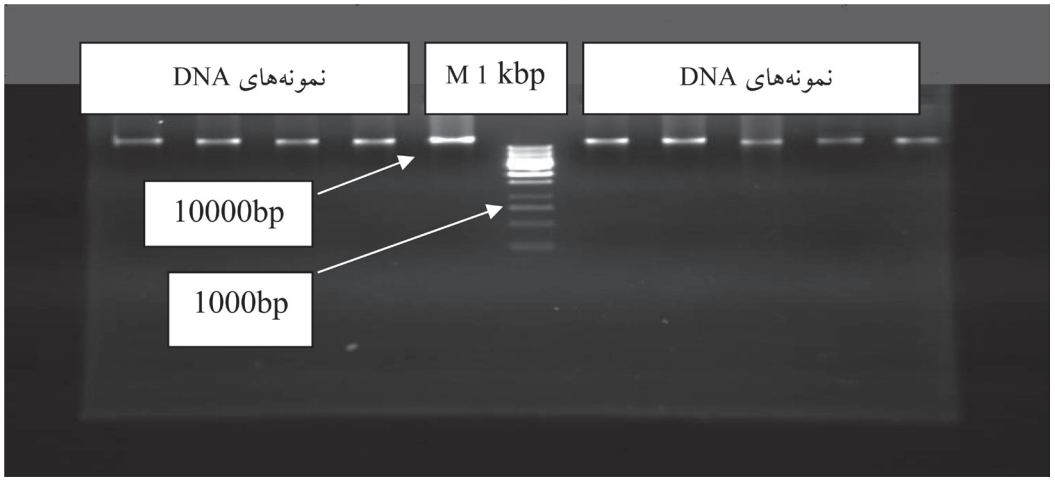
DNA استخراج شده طول تقریبی ۱۲- ۱۵ هزار جفت باز داشت که بر روی آگارز ۱/۵ درصد حرکت کردند. درخشندگی و ضوح باندهای به دست آمده نشان دهنده غلظت بالای DNA در محلول استخراج شده است، که در شکل ۱ مشاهده می‌شود.

در شکل ۲ تکثیر قطعه ۱۹۷ جفت بازی از اگزون ۲۰ ژن گیرنده لپتین نشان داده شده است.

در شکل ۳ نتایج هضم آنزیمی قطعه ۱۹۷ جفت بازی به وسیله آنزیم FokI نشان داده شده است. در این تصویر فقط ژنوتیپ های CC و TC مشاهده می‌شود اما ژنوتیپ هموزیگوت جهش یافته مشاهده نمی‌شود.

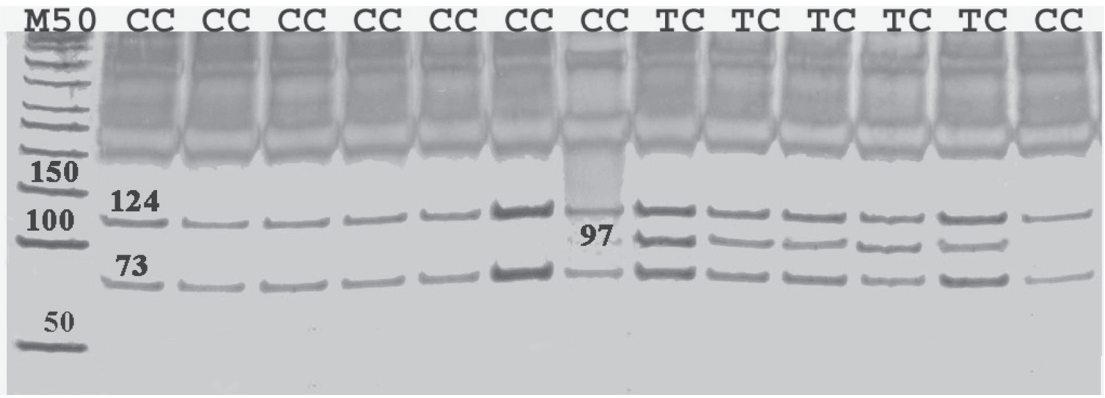
تعداد افراد و ژنوتیپ‌های مختلف و آزمون کای مربع اگزون ۲۰ ژن گیرنده لپتین در جدول ۱ آورده شده است. هتروزایگوسیتی مشاهده شده، مورد انتظار و هتروزایگوسیتی متوسط جایگاه ژنی اگزون۲۰ ژن گیرنده لپتین در جدول ۲ نشان داده شده است.

ژنوتیپ های CC و TC در همه نژادهای گاو ایرانی وجود داشتند ولی ژنوتیپ TT در هیچ نژاد گاو بومی گزارش نشد. بیشترین فراوانی برای ژنوتیپ CC به ترتیب در نژادهای گلپایگانی و سیستانی مشاهده ولی کمترین فراوانی در نژاد سرابی رویت شد. همچنین بیشترین فراوانی برای ژنوتیپ TC به ترتیب در نژادهای سرابی و نجدی، و کمترین فراوانی در نژاد گلپایگانی مشاهده شد. مطالعات فراوانی روی این جایگاه در دنیا انجام شده است. Liefers و همکاران در سال ۲۰۰۴ تعیین توالی اگزون های ۱۱، ۱۶ و ۲۰ ژن گیرنده لپتین در۲۰ گاو نژاد هلشتاین انجام دادند. آن‌ها هیچ چند شکلی در اگزون ۱۱ و ۱۶ مشاهده نکردند ولی یک چند شکلی در موقعیت ۱۱۵ اگزون ۲۰ گیرنده لپتین گزارش کردند، سپس در جمعیت ۳۲۳ راس گاو هلشتاین این چند شکلی را بررسی کردند و مشابه بررسی حاضر ژنوتیپ جهش یافته مشاهده نکردند(۹). برخلاف این نتیجه، Banson و همکاران (۲۰۰۸) تعدادی از چند شکلی‌ها از جمله چند شکلی اگزون ۲۰ ژن لپتین در نژاد هلشتاین اسکاتلند را بررسی کردند و فراوانی ژنوتیپی هموزیگوت جهش یافته



شکل ۱- مقایسه DNA استخراج شده با سایز مارکر

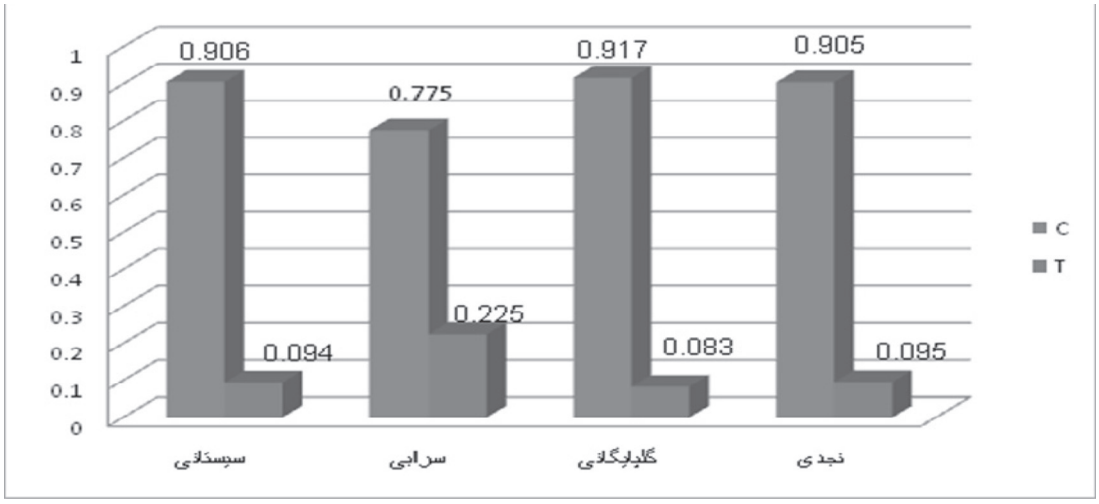
شکل ۲- الکتروفورز قطعه ۱۹۷ جفت بازی محصول PCR ژن گیرنده لپتین بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد CO کنترل منفی.



شکل ۳- الگوی باندی هضم آنزیمی قطعه تکثیر شده در ژل آکریل آمید ۸ درصد.

جدول ۱- آزمون کای مربع، تعداد و فراوانی ژنوتیپ های جایگاه ژنی اگزون۲۰ گیرنده ژن لپتین در نژادهای مختلف

نژاد	CC		TC		TT		کای مربع
	تعداد	(٪) فراوانی	تعداد	(٪) فراوانی	تعداد	(٪) فراوانی	
سیستانی	۴۳	۰/۸۱۱	۱۰	۰/۱۸۹	۰	۰	۰/۵۱۳*
سرابی	۷۱	۰/۵۵۰	۵۸	۰/۴۵۰	۰	۰	۱۰/۶۳۲ NS
گلپایگانی	۶۰	۰/۸۱۹	۱۲	۰/۱۴۷	۰	۰	۰/۵۴۲*
نجدی	۳۴	۰/۸۱۰	۸	۰/۱۹۰	۰	۰	۰/۴۰۳*



شکل ۴- فراوانی آللی در نژادهای مختلف

جدول۲- هتروزایگوسیتی مشاهده شده، مورد انتظار و هتروزایگوسیتی متوسط جایگاه ژنی اگزون۲۰ ژن گیرنده لپتین در نژادهای مختلف

نژاد	هتروزایگوسیتی مشاهده شده	هتروزایگوسیتی مورد انتظار	متوسط هتروزایگوسیتی
سیستانی	۰/۱۸۸۷	۰/۱۷۲۵	۰/۱۷۰۹
سرابی	۰/۴۴۹۸	۰/۳۴۹۹	۰/۳۴۸۵
گلپایگانی	۰/۱۶۶۷	۰/۱۵۳۸	۰/۱۵۲۸
نجدی	۰/۱۹۰۵	۰/۱۷۴۴	۰/۱۷۲۳

۱ درصد گزارش کردند(۳). Schcnkel و همکاران (۲۰۰۶) نیز فقط دو ژنوتیپ جهش یافته مشاهده کردند(۱۲). همچنین Komisarek و Dorynek (۲۰۰۶) این جهش را در ۲۱۹ گاو جرسی بررسی کردند و ۱۲ ژنوتیپ جهش یافته مشاهده کردند(۷).

Almeida و همکاران (۲۰۰۸) این جهش را در سه نژاد برزیلی شامل برنجس، چورلیس و انگوس بررسی کردند و فقط یک هموزیگوت جهش یافته مشاهده کردند(۱).

در جدول۱، همچنین نتایج مربوط به آزمون کای مربع برای جایگاه ژنی اگزون ۲۰ گیرنده لپتین در جمعیت‌های مختلف مورد مطالعه قرار گرفته است. این آزمون تعادل هاردی وینبرگ را نشان می‌دهد. همانطور که ملاحظه می‌گردد این تعادل در همه جمعیت‌های مورد بررسی به غیر از نژاد سرابی برقرار است، که نشان می‌دهد عوامل موثر بر تعادل هاردی وینبرگ از جمله انتخاب و مهاجرت در این جمعیت‌ها اعمال نشده است . اما عدم تعادل در جمعیت سرابی که مشاهده شده ممکن است به دلیل مهاجرت یا استفاده از نرهای گله‌های دیگر باشد. فراوانی آللی برای آلل های T وC در نژادهای مختلف در شکل شماره۴ مشاهده می‌شود.

همانطور که شکل۴ نشان می‌دهد، بیشترین فراوانی برای آلل C در نژاد گلپایگانی به اندازه ۰/۹۱۷ و کمترین فراوانی برای این آلل در نژاد سرابی مشاهده شد. از طرف دیگر بیشترین فراوانی برای آللT در نژاد سرابی به اندازه ۰/۲۲۵ مشاهده شد. این نتایج با نتایج Liefers و همکاران (۲۰۰۴) و Banson و همکاران (۲۰۰۸) مطابقت داشت که آن‌ها فراوانی آلل C و T را به ترتیب ۹۳/. و ۰/۰۷ در نژاد هلشتاین گزارش کردند(۳ ، ۹). Almeida و همکاران (۲۰۰۸) فراوانی آلل C در سه نژاد برنجس، چورلیس و انگس به ترتیب ۰/۹۸، ۰/۹۲ و ۰/۹۶ محاسبه کردند(۱). Schenkel و همکاران (۲۰۰۶) نیز فراوانی آلل C ۹۵/۹ درصد و آلل T را ۴/۱ درصد به ترتیب گزارش کردند(۱۲). نتایج ما در نژاد سرابی با نتایج Komisarek و Dorynek (۲۰۰۶) مطابقت داشته به طوری که آن‌ها فراوانی آلل C و آلل T را در نژاد جرسی ۰/۷۹ و ۰/۲۱ محاسبه کردند(۷).

هتروزایگوسیتی مشاهده شده، مورد انتظار و هتروزایگوسیتی متوسط در جدول ۲ آورده شده است. همانطور که این جدول نشان می‌دهد، بیشترین پارامتر مربوط به هتروزایگوسیتی مشاهده شده در نژاد سرابی مشاهده و کمترین مقدار در نژاد گلپایگانی دیده شد. متوسط هتروزایگوسیتی یکی از شاخص‌های مهم تنوع ژنتیکی در جمعیت‌ها می‌باشد. با توجه به مقدار متوسط هتروزایگوسیتی، می‌توان بیان کرد که سطح تنوع ژنتیکی این جایگاه در کلیه نژادها به جز نژاد سرابی پایین است که این ممکن است به دلیل بسته بودن سیستم پرورش این نژادها و همچنین عدم استفاده از نرهای گله‌های دیگر باشد. یااینکه به علت کوچک بودن نمونه بوده است.

در کل می توان اظهار کرد که سطح چند شکلی قابل قبولی را در برخی از نژادهای ایرانی مثل سرابی، برای جایگاه ژنی گیرنده لپتین مشاهده شد.

پاورقی ها

1- Blood Brain Barrier

2- Janus Kinases/Signal Transducers and Activators of Transcription

3- GUSCN-Silica Gel

منابع مورد استفاده

1- Almeida, S. M., Santos, L. B. S. Passos, D. T. Corbellini, A. O. Lopes, B. M. T. Kirst, C. Terra, G. Neves, J. P. Goncalves, P. B. D. Moraes J. C. F. and Weimer. T. A. (2008) Genetic polymorphism at the leptin receptor gene in three beef cattle breeds. *Genetics and Molecular Biology*. 31 :680-685

2- Banks, W., Niehoff, M. Martin, D. and Farrell. C. (2002) Leptin transport across the blood-brain barrier of the Koletsky rat is not mediated by a product of the leptin receptor gene. *Brain Res.* 950:130-136.

3- Banos, G., Woolliams, J. A. Woodward, B. W. Forbes, A. B. and Coffey. M. P. (2008) Impact of Single Nucleotide Polymorphisms in Leptin, Leptin Receptor, Growth Hormone Receptor, and Diacylglycerol Acyltransferase (DGAT) Gene Loci on Milk Production, Feed, and Body Energy Traits of UK Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 91:3190–3200

4- Houseknecht, K. L., Baile, C. A. Matteri R. L. and Spurlock. M. E. (1998) The Biology of Leptin: A Review. *J. Anim. Sci*. 76: 1405–1420.

5- http://www.ualberta.ca/~fye.

6- Ingvartsen, K. L. and Boisclair. Y. R. (2001) Leptin and the regulation of food intake, energy homeostasis and immunity with special focus on periparturient ruminants. *Domestic Animal Endocrinology*. 21: 215–250.

7- Komisarek, J. and Dorynek. Z. (2006) The relationship between the T945M single nucleotide polymorphism in the leptin receptorgene (LEPR) and milk production traits in Jersey cows. *Animal Science Papers and Reports vol*. 24 : 271-277

8- Korwin-Kossakowska, A., Kamyczek, M. Cieslak, D. Pierzchala, M. and Kuryl. J. (2002) The effect of the polymorphism of leptin (LEP), leptin receptor (LEPR) and osteopontin (OPN) genes on selected reproduction traits of synthetic line 990 sows. *Animal Science Paper and Reports*. 20: 159-168.

9- Liefers, S. C, Veerkamp, R. F. TePas, M. F. W. Chilliard, Y. Lende. T. V. (2004) A missense mutation in the bovine leptin receptor gene is associated with leptin concentrations during late pregnancy. *Animal Genetics.* 35: 138–141.

10- Liefers, S. C., Veerkamp, R. F. TePas, M. F. W. Chilliard, Y. Lende. T. V. (2005) Genetics and physiology of leptin inperiparturient dairy cows. *Domestic Animal Endocrinology* 29: 227–238.

11- Pomp, D., Zou, T. Clutter, A. C. and Barendse. W. (1997) Rapid communication mapping of leptin to bovine chromosome 4 by linkage analysis of a PCR-based polymorphism. *J. Anim. Sci.* 75:1427.

12- Schenkel, F. S, Miller, S. P. Moore, S. S. Li, C. Fu, A. Lobo, S. Mandell I. B. and Wilton. J. W. (2006) *Association of SNPs in the leptin and liptin receptorgenes with different fat depots in beef cattle*. 8th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Belo Horizonte, MG, Brasil.

13- Wayne, J. K. and Fraley. G.s. (1995) Neuropeptid Y: it's in the neural regulation of reproductive Function and food Intake in mammalian species. 6 (3): 185 – 209.

14- Zieba, D. A., Amstalden M. and Williams. G. L. (2005) Regulatory roles of leptin in reproduction and metabolism: A comparative review, *Domestic Animal Endocrinology*. 29: 166–185.

15- Zwierzchowski, L., Krzyzewski, J., Strzalkowska, N., Siadkowska, E. and Rynieweaz. Z. (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*.. 20: 213-27.