

بررسی ارتباط بین ژنوتیپهای ژن پرولاکتین با صفات تولید شیر در گاوهای سرابی

علیرضا هروی موسوی - محمدرضا نصیری - مجتبی طهمورث پور - علی جوادمنش^۱

تاریخ دریافت: ۸۵/۸/۱۵

چکیده

چند شکلی موجود در جایگاه ژنی پرولاکتین اثر معنی داری بر تولید شیر و ترکیبات آن داشته است. هدف از انجام این پژوهش بررسی وجود چند شکلی در جایگاه ژنی پرولاکتین و ارتباط آن با میزان تولید و درصد چربی و پروتئین شیر در گاوهای سرابی بود. برای انجام این آزمایش از تعداد ۹۶ رأس گاو شیری سرابی خونگیری به عمل آمد. استخراج DNA از خون کامل به روش ایزوتیوسانات گوانیدین-سیلیکاژل انجام گرفت و واکنش زنجیره ای پلسی مرآز (PCR) برای تکثیر قطعه ۱۵۶ جفت بازی با استفاده از یک جفت آغازگر اختصاصی انجام شد. ژنوتیپهای AA، AB و BB به ترتیب با فراوانیهای ۰/۴۷، ۰/۴۷ و ۰/۰۶ در جامعه نمونه گیری شده وجود داشتند. فراوانی آللی برای آللهای A و B به ترتیب ۰/۷۳ و ۰/۲۷ برآورد گردیدند. تعادل هاردی-واینبرگ در جمعیت مورد مطالعه برقرار بود. در این آزمایش همچنین با استفاده از رکوردهای موجود، ارتباط بین ژنوتیپ های مشاهده شده با صفات تولید شیر، درصد چربی و پروتئین شیر توسط مدل های مختلف مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نتایج بدست آمده نشان دادند میزان تولید شیر در گاوهایی که دارای ژنوتیپ BB بودند، بصورت معنی داری بیش از دو ژنوتیپ دیگر بود ($P < 0.05$). در مقابل، ژنوتیپ AA درصد پروتئین و چربی شیر بیشتری از دو ژنوتیپ دیگر داشت ($P < 0.05$). در مجموع نتایج این آزمایش نشان می دهد که چند شکلی ژن پرولاکتین در گاوهای بومی سرابی بر روی تولید شیر و درصد چربی و پروتئین آن تاثیر دارد.

واژه های کلیدی: پرولاکتین، چند شکلی، PCR، تولید شیر، گاو سرابی.

مقدمه

پرولاکتین هورمون پروتئینی تک رشته ای، با وزن مولکولی ۲۲ کیلو دالتون است که از ۱۹۰ تا ۱۹۱ اسید آمینه تشکیل شده و از سلولهای لاکتوتروف^۱ موجود در هیپوفیز پیشین ترشح می گردد. همچنین این هورمون توسط برخی از سلولهای بدن نظیر سلولهای ایمنی، مغز و مخاط داخلی سلولهای رحم دام آبستن نیز ترشح می شود. وظایف عمده پرولاکتین عبارتند از افزایش رشد پستان، تحریک تولید شیر و تداوم دوره شیر دهی.

توالی کامل ژن پرولاکتین در سال ۱۹۸۲ مشخص شد (۱۴). نتایج این آزمایش نشان داد این ژن روی کروموزوم شماره ۲۳ گاو قرار داشته و دارای ۵ اگزون و ۴ انترون می باشد. کائو و همکاران (۲۰۰۲) برای اولین بار و برای بررسی بیان ژن، ژن کامل پرولاکتین گاوی را که شامل ۹۳۸۸ جفت باز می باشد را کلون

کردند. یک جهش نقطه ای A-G در کدون اسید آمینه ۱۰۳ در اگزون ۳ این ژن باعث بوجود آمدن یک چند شکلی می گردد که در واقع یک محل برش برای آنزیم *RsaI* نیز محسوب می شود که می توان با استفاده از روش PCR-RFLP به راحتی این جهش را شناسایی کرد. تحقیقات انجام شده (۸، ۱۰ و ۱۲) نشان داده اند که این جهش اثر معنی داری بر روی تولید چربی و پروتئین شیر دارد. بریم^۲ و همکاران (۲۰۰۵) در مطالعه خود بر روی چند شکلی جایگاه ژنی پرولاکتین در نژادهای جرسی، لیموزین و سیمنتال توسط روش PCR-RFLP نشان دادند که ژنوتیپ AG تولید شیر بیشتری نسبت به بقیه ژنوتیپها داشته و در مقابل، میزان چربی شیر در ژنوتیپ GG نسبت به سایرین بالاتر بوده است.

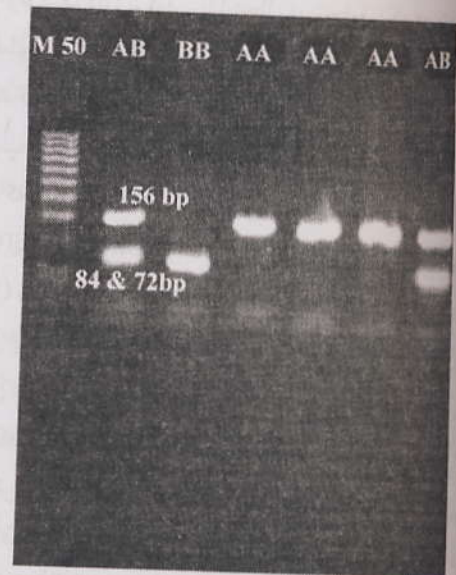
از جمله نژادهای شیری بومی ایران می توان به نژاد سرابی اشاره کرد که عمدتاً در منطقه ی سراب و نواحی پیرامون آن پراکنده اند.

۱- به ترتیب استادیاران، مربی گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد

ممکن است به دلیل این باشد که عوامل برهم زننده تعادل از قبیل جهش، مهاجرت و انتخاب نتوانستند فراوانی ژنوتیپی را به مقدار زیادی تغییر دهند، بنابراین تعادل را مشاهده می کنیم. نتایج این تحقیق نشان داد که ارزش هتروزیگوسیتی مشاهده شده برای جایگاه ژنی پرولاکتین، متوسط می باشد (۰/۴۷). همچنین بالاترین فراوانی ژنوتیپی، مربوط به ژنوتیپهای AA و AB (۰/۴۷) محاسبه شد.

تحقیقات زیادی در مورد بررسی چند شکلی جایگاه ژنی پرولاکتین صورت گرفته است. در سال ۱۹۹۴، زانگ^۱ و همکاران با استفاده از روش چند شکلی فضایی تک رشته ای^۲ (SSCP) در نژادهای هلشتاین، جرسی و هر فورد دو آلل با فراوانیهای ۱=۰/۶۶ و ۲=۰/۳۴ تشخیص دادند (۱۸). در سال ۲۰۰۰، یودینا^۳ و همکاران با استفاده از مارکرهای RFLP و ریز ماهواره^۴ دو آلل A و B را در نژادهای Gorbatov Red Cattle، آیرشایر و Black Piad شناسایی کردند (۱۷). نتایج این آزمایش نشان داد فراوانی آلل A به ترتیب در سه نژاد فوق ۰/۹۱۴، ۰/۸۵۹ و ۰/۸۰ و فراوانی آلل B نیز ۰/۰۸۶، ۰/۱۴۱ و ۰/۲۰ بود. چرنک^۵ و همکاران (۲۰۰۰) نیز فراوانیهای ۰/۷۶ و ۰/۲۴ را به ترتیب در مورد دو آلل A و B گزارش نمودند (۶). همچنین دیباس (۲۰۰۲) با بررسی پلی مورفیسم ژن پرولاکتین را در گاوهای سیاه و سفید لهستانی نشان داد که فراوانی آللهای A و B در نژاد مطالعه شده به ترتیب ۰/۸۶ و ۰/۱۴ بود (۸). مطالعه انجام شده بر روی سه نژاد گاو بومی ایران (سرابی، گلپایگانی و سیستانی) نشان داد که در نژادهای گاو شیری فراوانی آلل A بیشتر از آلل B و در نژادهای گوشتی آلل B فراوان تر از آلل A بود (۱۱) که احتمالاً نشان دهنده متفاوت بودن اهداف اصلاحی در مورد تولید شیر و گوشت است.

گردیدند (شکل ۱). قطعات ۸۴ و ۷۲ جفت بازی بدلیل نزدیکی اندازه، بر روی ژل آگارز جدا نشدند. از آنجاییکه دو قطعه فوق همواره با هم در نظر گرفته می شوند، تفکیک این دو قطعه در تعیین ژنوتیپ نقش موثری نداشته و نتایج را تحت تاثیر قرار نمی دهد.



شکل (۱) قطعات حاصل از هضم ژن پرولاکتین با آنزیم RsaI. از نشانگر وزنی M50 استفاده شده است (قطعات از بالا به پایین عبارتند از: ۵۰۰، ۴۵۰، ۴۰۰، ۳۵۰، ۳۰۰، ۲۵۰، ۲۰۰، ۱۵۰ و ۵۰ جفت باز).

فراوانی آللی و ژنوتیپی، هتروزیگوسیتی مشاهده شده، هتروزیگوسیتی مورد انتظار Nei (۱۳) و عدد کای مربع در جدول آورده شده است. آزمون کای مربع نشان داد که تعادل هاردی-واینبرگ برای جایگاه ژنی پرولاکتین در گله سرابی مورد مطالعه برقرار بود ($p < 0.05$). برقراری تعادل هاردی-واینبرگ

جدول (۱) فراوانی آللی و ژنوتیپی جایگاه پرولاکتین و آزمون کای مربع

هتروزیگوسیتی مورد انتظار	هتروزیگوسیتی مشاهده شده	χ^2 محاسبه شده	فراوانی ژنوتیپی			فراوانی آللی	
			BB	AB	AA	B	A
Nei							
۰/۴۱	۰/۴۷	۴/۳۶	۰/۰۶	۰/۴۷	۰/۴۷	۰/۲۷	۰/۷۳

1) Zhang

3) Udina

4) Microsatellite

2) Single Strand Conformation Polymorphism (SSCP)

5) Chrenck

Study the Association of Prolactin Polymorphisms with Milk Production Traits in Iranian Sarabi Cows

A. Heravi Moussavi – M.R. Nassiry– M. Tahmoorespur– A. Javadmanesh¹

Abstract

Prolactin polymorphism has significant impact on milk production and composition. The objective of this study was to study the association of genetic differences in bovine prolactin (PRL) gene and milk yield traits in Iranian Sarabi cows. In total, 96 cows were used and genotyped for a restricted fragment length polymorphism at the PRL locus. Three genotypes, AA, AB and BB have been distinguished which have the frequencies of 0.47, 0.47 and 0.06, respectively. Allelic frequencies were 0.73 and 0.27 for A and B, respectively. The genotypes were distributed according to the Hardy and Weinberg equilibrium. In order to study the impact of genotypes on milk yield and fat and protein percentages, the data from previous lactations were analyzed using Standard Least Square within mixed models. Fixed effects were genotype, parity and sire. A significant association was detected between the RFLP-BB genotype and higher milk yield ($p < 0.05$), while cows with AA genotype showed higher fat and protein content than the other genotypes.

Key Words: Prolactin, polymorphism, PCR, Milk yield, Sarabi cattle.