

در گاو هلشتاین Hph1 با استفاده از نشانگر آنزیمی شناسایی چند شکلی ژنتیکی در اگزون ۳ ژن

آرزو قربانی\*، حسن حافظیان، قدرت رحیمی

دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی ساری

arezu\_ghorbani@yahoo.com\*

چکیده

به منظور شناسایی چند شکلی ژن لپتین از تعداد ۱۰۰ راس گاو نژاد هلشتاین ایران خون گیری به عمل آمد. استخراج DNA به روش نمکی بهینه یافته<sup>۱۶۸</sup> و تکثیر یک قطعه ۳۳۱ جفت بازی از ناحیه اگزون ۳ توسط واکنش زنجیره‌ای پلی مراز PCR) با استفاده از یک جفت پرایمر اختصاصی صورت گرفت. تعیین ژنوتیپ هر یک از نمونه‌ها با استفاده از آنزیم برشی HphI انجام شد. در پژوهش حاضر برای این ژن در جایگاه مورد مطالعه دو آلل C و T به ترتیب با فراوانی ۰/۷۲ و ۰/۲۸ و دو ژنوتیپ CC و TT با فراوانی هر یک به ترتیب ۰/۴۴ و ۰/۵۶ مشاهده شد. ژنوتیپ هموژیگوت TT در این مطالعه مشاهده نشد.

کلمات کلیدی: ژن لپتین - گاوه‌لستاین - آنزیم برشی Hph1

مقدمه

ژن لپتین را می‌توان از ژن‌های بزرگ اثری<sup>۱۶۹</sup> دانست که صفات تولیدی متعددی از جمله صفات مربوط به لاشه و صفات تولید مثلی را تحت تاثیر قرار می‌دهد(۶). فعالیت بیولوژیکی لپتین در بافت‌های مختلف از طریق اتصال به گیرنده‌های اختصاصی آن انجام می‌شود که در بافت‌های مختلف به شکل‌های گوناگون حضور دارند(۴). ژن لپتین در کروموزوم شماره ۴ گاو واقع شده است و طول این ژن حدود ۴۰۶۷ جفت باز می‌باشد و دارای ۳ اگزون و ۲ ایترنون است که اگزون ۱ آن برای تولید پروتئین ترجمه نمی‌شود. مکان کنترل کننده صفات کمی (QTL) برای صفات تولید شیر در ۸۲,۸ سانتی مورگان و درصد چربی و پروتئین شیر در ۷۵ و ۹۵ سانتی مورگان ژن لپتین مکان یابی شده است (۱). در مطالعه‌ای اثر چند شکلی قطعات حاصل از هضم در نقاط ایترنون ۲، اگزون ۳ و اگزون ۲ به ترتیب با استفاده از آنزیم‌های HphI، Sau3AI و Kpn2I در ژن لپتین در ۱۳۰ گاو سیاه و سفید لهستانی بررسی شد. بررسی‌ها نشان داد چند شکلی مربوط به اگزون ۳ اثر مهمی روی تولید شیر و پروتئین دارد. ارزش ارشی حیوانات با ژنوتیپ TT در ناحیه اگزون سه، برای تولید شیر و پروتئین تقریباً دو برابر برآورد شد، اما هیچ اثری برای دو ژنوتیپ دیگر در این جایگاه پیدا نشد(۵). در یک آزمایش که در سال ۲۰۱۰ انجام شد، اثر چند شکلی ژن لپتین روی صفات عملکردی که شامل شمار سلول‌های سوماتیک در شیر، طول عمر و صفات تولید مثلی است در گاو‌های لهستانی هلشتاین-فرزین بررسی شد. چهار چند شکلی در ژن لپتین با استفاده از روش-PCR RFLP شناسایی شدند که ژنوتیپ‌های LEP-A80V، LEP-C(-963)T، LEP-Y7F، LEP-R25C به ترتیب در ناحیه اگزون ۲، اگزون ۲، پرموتور و اگزون ۳ آشکار شدند. نتایج نشان داد که پلی مورفیسم ژن LEP-Y7F تاثیری بر صفات مورد نظر نداشت(۲). با توجه به گزارشات و اهمیت جایگاه مورد مطالعه در صنعت دامپروری، هدف از این پژوهش شناسایی فرم‌های مختلف آللی در ناحیه اگزون ۳ ژن لپتین با استفاده از نشانگر آنزیمی HphI در گاو هلشتاین بود.

مواد و روش‌ها

<sup>168</sup> Modified salting out method

<sup>169</sup> Major gene