نشریه پژوهش‌های علوم دامی/ جلد ۲۳ شماره ۱/ سال۱۳۹۲

تعیین چندشکلی ژن POU1F1 در گوسفندان نژاد ماکویی به روش PCR-SSCP و ارتباط آن با برخی از صفات مربوط به رشد

فرزانه فیل کوش مقدم[۱]، نصرالله پیرانی[۲*]، جلیل شجاع[۳]، قربان الیاسی[۴]، اکبر تقی زاده[۳] و عباس حاجی‌حسینلو[۵]

تاریخ دریافت: ۹۰/۸/۱ تاریخ پذیرش: ۹۱/۶/۲۸

[۱]دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

[۲]دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد

[۳] استاد و دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

[۴] مربی مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی، استان آذربایجان شرقی

[۵]دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

[*]مسئول مکاتبه: Email: napirany@gmail.com

چکیده

ژن POU1F1 (PIT-1 یا GHF-1) به عنوان یکی از اعضای خانواده فاکتورهای رونوشت برداری ژن POU، عمدتاً در غده هیپوفیز بیان شده و یک تنظیم‌کننده مثبت برای هورمون رشد، هورمون پرولاکتین، هورمون محرک تیروئید، خود POU1F1 و همچنین ژنهای مربوط به گیرنده های هورمون آزادکننده هورمون رشد می‌باشد. به منظور بررسی چند شکلی های موجود در این ژن در گوسفندان نژاد ماکویی، پس از استخراج DNAبه روش نمکی از ۹۵ نمونه خون گوسفندان نر و ماده متعلق به این نژاد از مرکز اصلاح نژاد ماکو، از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز برای تکثیر قطعه 295 bp ازDNA (بخشی از اینترون ۲، اگزون ۳ و بخشی از اینترون ۳) توسط یک جفت آغازگر اختصاصی طراحی شده، استفاده شد. بررسی چندشکلی فرم فضایی رشته‌های منفرد (SSCP) محصولات PCR توسط ژل پلی‌آکریلامید ٦٪ و رنگ‌آمیزی نیترات نقره انجام شد. درنهایت ٤ الگوی باندی متفاوت AA، AB، CC و CD بترتیب با فراوانی های۰/٤٥،۰/۰۷۳،۰/٤٤و۰/۰۳۷مشاهده شدند. فراوانی آللهای A، B، C و Dدر جمعیت مورد بررسی بترتیب ۰/٤٨٩٥، ۰/۰۳٦٨، ۰/٤٥٧٩و۰/۰۱٥٨ محاسبه شد. تنوع ژنتیکی برای این ژن ٥٥/٢٠٪ بدست آمد. نتایج نشان دادند که تعادل هاردی- واینبرگ در جمعیت مورد مطالعه گوسفندان ماکویی وجود ندارد. ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ‌ها و وزن بدن در نه ماهگی و یکسالگی (P<۰/۰٥) مشاهده شد، بطوری که حیوانات با ژنوتیپ CC دارای میانگین وزن نه ماهگی (۳۳/۸ کیلوگرم) و وزن یکسالگی (٤٤/٧٥کیلوگرم) بیشتری در مقایسه با دامهای با ژنوتیپ AA (بترتیب ۲۷/۸۸ و ۳۹/٧٤ کیلوگرم) در همین سنین داشتند.

واژه‌های کلیدی: چندشکلی، صفات مربوط به رشد، گوسفند ماکویی، PCR-SSCP،POU1F1

POU1F1 gene polymorphism of Makuyi sheep breed and its association with growth- related traits using by PCR-SSCP

F Filkoosh Moghaddam[1], N Pirany[2], J Shodja[3], Gh Elyasi[4], A Taghizadeh[*] and A Hajihosseinloo[6]

Received: October 23, 2011 Accepted: September 18, 2012
[1]Former MSc Student, Department of Animal Science, University of Tabriz, Iran
[2]Associate Professor, Department of Animal Science, University of Shahrekord, Iran
[3]Professor, Department of Animal Science, University of Tabriz, Iran
[4]Researcher, East Azarbaiejan, Agricultural and Natural Center, Tabriz, Iran
[6]Former MSc. Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Urmia, Iran
[*]Corresponding author: Email: napirany@gmail.com

Abstract
POU1F1 (also named PIT-1 or GHF-1) as a member of the POU family of transcription factors, is mainly expressed in the pituitary and has positive regulation on growth hormone, prolactin, thyroid-stimulating hormone β, POU1F1 itself and growth hormone releasing hormone receptor genes. In order to investigate POU1F1 gene polymorphism of Makuyi sheep breed, after extraction of DNA with salting out method from blood samples of 95 males and females belonging to this breed from breeding center of Maku, the polymerase chain reaction was used to amplify 295 bp DNA fragment (a part of intron 2, exon 3 and a part of intron 3) with a pair of designed specific primers. The single stranded conformation polymorphism (SSCP) patterns of PCR products were studied using 6% polyacrylamide gel and silver staining method. Finally 4 band patterns AA, AB, CC and CD were obtained with frequencies of 0.45, 0.073, 0.44 and 0.037, respectively. The frequency of A, B, C and D alleles was calculated as 0.4895, 0.0368, 0.4579 and 0.0158, respectively. Gene diversity was 55.2%. The results indicated that Makuyi sheep population was not in Hardy-Weinberg equilibrium ($P<0.05$). Significant ($P<0.05$) statistical relationships between polymorphism of POU1F1 gene and body weights at 9 (W9) and 12 (W12) months were found. The CC genotype was associated with highest W9 and W12 (33.8 and 44.75 Kg, respectively) than AA genotype.

Keywords: Makuyi sheep, Growth-related traits, PCR-SSCP, Polymorphism, POU1F1

مقدمه

از مهمترین عواملی که پیشرفت در هر فعالیت تولیدی و اقتصادی را تضمین می‌کند، تلفیق دانسته‌های علمی با امکانات عملی است و این امر به ویژه در برخی از رشته های تولیدی مانند فعالیت‌های دامپروری ضروری و اجتناب‌ناپذیر می‌باشد. یکی از اهداف ژنتیک مولکولی در زمینه اصلاح نژاد دام، بررسی چندشکلی‌های موجود در ژن‌های مرتبط با صفات تولیدی مهم و اقتصادی می باشد. ژن POU1F1 (PIT-1 یا فاکتور ۱ هورمون رشد[1]) به‌عنوان یکی از اعضای خانواده فاکتورهای رونوشت‌برداری ژن POU، عمدتا در غده هیپوفیز بیان شده و یک تنظیم‌کننده مثبت برای هورمون رشد، هورمون پرولاکتین، هورمون محرک تیروئید (لی و همکاران ۱۹۹۰) خود POU1F1 (چن و همکاران ۱۹۹۰ و ام‌سی‌کورمیک و همکاران ۱۹۹۰) و همچنین ژنهای مربوط به گیرنده های هورمون آزادکننده هورمون رشد[2] (لین و همکاران ۱۹۹۲) می‌باشد. ژن POU1F1

[1] Growth hormone factor-1
[2] Growth hormone releasing hormone receptor

بـــرروی کرومـــوزوم شـــماره ۱ قـــرار دارد (وولارد و همکـاران ۲۰۰۰). ایـن ژن شـامل ٦ اگـزون و ٥ اینتـرون بـوده و بـه طـول تقریبـی ١٦٥٠٠ جفـت‌بـاز مـی‌باشـد (باستوس و همکاران ۲۰۰٦).

طی مطالعه‌ای بر روی چند شکلی های موجـود در هـر ٦ اگـــزون ژن POU1F1 در گوســـفندان نـــژاد کـــورادا تراکوئنت[1] در کشور پرتغال ملاحظه شد که این چندشکلی تنهـا در اگزونهـای ۲، ۳ و ٥ وجـود دارد (باسـتوس و همکاران ۲۰۰٦). در مطالعه‌ای دیگر، از روش تفاوت فـرم فضایی رشته‌های منفرد (SSCP[2]) برای تعیین چندشکلی ژن PIT-1 برای نواحی اینترون ۲ تـا اگـزون ٦ گاوهـای نـژاد آنگـوس اسـتفاده شـد. تعـداد سـه چنـد شـکلی در اینتـــرون ۳، یکـــی در اینتـــرون ٤ و یـــک تفـــاوت تـــک نوکلئوتیدی نیز در اینترون ٥ مشاهده گردید. در تجزیه و تحلیل های آماری هیچ ارتباط معنی داری بـین ایـن چنـد شکلی ها با صفات مرتبط با رشد و لاشـه ملاحظـه نشـد (ژائو و همکاران ۲۰۰٤). در بررسی چندشکلی این ژن در ٥۰۹ گاو نـژاد کنچـیم[3] در کشـور برزیـل بـا اسـتفاده از تکنیک PCR-RFLP، دو آلل در بـین حیوانـات مشـاهده شد که یکی از آلل‌ها دارای فراوانـی کمتـری بـوده اسـت (کاریجو و همکاران ۲۰۰۸). در پژوهشـی دیگـر، بررسـی فراوانی شکلهای مختلف آللی ژن PIT-1 در جمعیت‌هـای گاو سرابی و گلپایگانی ایران با استفاده از تکنیـک PCR-RFLP انجـــام گرفـــت. ژنوتیـــپ‌هـــای AB، AA و BB بترتیب با فراوانی ٥۷/۳٪، ۳۹٪ و ۳/۷٪ بـرای ۸۲ رأس از گاوهای سرابی و با فراوانی٥٥/۳٪، ۳٦/۸٪ و ۷/۹٪ بـرای ٤۲ رأس از گاوهای گلپایگانی محاسبه گردید (توکلیـان و همکاران ۱۳۸٦). در بررسی چند شکلی ژن POU1F1 به روش PCR-RFLP در ۹ نژاد بومی بز در کشـور چـین نیز سه نوع ژنوتیپ TT، TC و CC مشاهده شـده اسـت (لان و همکاران ۲۰۰۷). هدف از این تحقیق، مطالعـه چنـد شکلی موجود در بخشی از ژن POU1F1 با اسـتفاده از تکنیک تفاوت فرم فضایی رشته‌های منفرد و ارتباط آنهـا با برخی از صـفات تولیـدی در گوسـفندان نـژاد مـاکویی بود.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه‌های خون

در ایـن تحقیقـاز ۹٥ رأس گوسـفند مـاکویی موجـود در مرکز اصلاح نژاد ماکو نمونه بـرداری شـد. ٤ میلـی‌لیتـر نمونه های خون کامل از وریـد وداجـی هـر حیـوان و بـا استفاده از لوله خلاء دار حاوی مـاده ضـدانعقاد EDTA تهیه گردید. نمونه های خون بر روی یخ قـرار داده شـده و بلافاصله به آزمایشگاه انتقـال داده شـدند و تـا زمـان استخراج DNA، در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند.

استخراج DNA

در این تحقیق استخراج DNA تمامی نمونـه‌هـا بـه روش نمکی[4] (میلـر و همکـاران ۱۹۹۸) و از مقـدار ۲ میلـی‌لیتـر خون انجام گرفت. کمیت و کیفیت DNA اسـتخراج شـده توسط روش اسپکتروفتومتری سنجیده شد.

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR)

برای تکثیـر قطعـه ۲۹٥ جفـت بـاز بخشـی از اینتـرون ۲، اگـزون ۳ و بخشـی از اینتـرون ۳ ژن POU1F1، ابتـدا صحت تـوالی آغازگرهـا از روی تـوالی تعیـین شـده ژن POU1F1 در مرکـز ملـی اطلاعـات بیوتکنولـوژی[5] و از طریـق شـماره دسـتیابی گـزارش شـده بررسـی شـد و آغازگرهای زیر مورد استفاده قرار گرفتنـد (باسـتوس و همکاران ۲۰۰٦):

F:5'-GAGGGATAATTACAAATGGTCC-3'
R:5'-TGTTAACAGCTGTGGGACACAC-3'

جهت انجام واکنش PCRاز ترکیب مواد بـا حجـم نهـایی ۲۰ میکرولیتر شامل۲ میکرولیتـر DNA ژنومیبـا غلظـت ٥۰ نـانوگرم، ۱ میکرولیتـر از پرایمـرF و ۱ میکرولیتـراز پرایمرRهرکدام با غلظت ۱۰ پیکومول بـر میکرولیتـر، ۱۰

[1] Churra da Terra Quente
[2] Single Strand Conformation Polymorphism
[3] Canchim
[4] Salting out
[5] National Center for Biotechnology Information

میکرولیتر از کیت مخلوط واکنش[1] 2X (شماره ۱۹۰۳۰۱ مربوط به شرکت Ampliqon) و ٦ میکرولیتر آب مقطر استفاده شد. برنامه حرارتی دستگاه ترموسایکلر به صورت واسرشته شدن اولیه و فعال سازی آنزیم DNA پلی مراز در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد برای مدت ۱۵ دقیقه و ۳۵ چرخه شامل سه مرحله ی واسرشته سازیدر دمای ۹٤ درجه سانتیگراد بمدت ٤٥ ثانیه،اتصال آغازگر در دمای ۵۸ درجه سانتیگراد بمدت ۱ دقیقه و مرحله ی تکثیر دردمای ۷۲ درجه سانتیگراد بمدت ۱ دقیقه تنظیم شد.در نهایت مرحله ی تکثیر نهایی برای مدت ۵ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد صورت گرفت. جهت اطمینان از تکثیر قطعه مورد نظر، در داخل هر نمونه PCR شده، مقدار ٤ میکرولیتر بافر بارگذاری[2] اضافه نموده و به مقدار ۱۵ میکرولیتر برروی ژل آگارز ۱/۵ درصد الکتروفورز شدند. ٦ میکرولیتر نشانگرplus100 bp جهت استاندارد بودن طول قطعات بارگیری شدند.

چندشکلی فرم فضایی رشته‌های منفرد

مقدار ۵ میکرولیتراز محصول PCR با ۱۰ میکرولیتر از بافر بارگذاری فرمامید (فرمامید ۹۵٪، هیدروکسید سدیم ۱۰۰ میلی‌مولار، بروموفنل بلو ۰/۲۵٪ و گزیلن سیانول ۰/۳۵٪) را مخلوط نموده و جهت تکرشته‌ای نمودن محصول PCR، به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد حرارت داده شد و بلافاصله تا زمان استفاده از آنها در داخل فریزر قرار داده شدند. برای تهیه ژل از محلول پایه ۳۰٪ با نسبت ۱۹:۱ آکریلامید به بیس آکریلامید استفاده شد و نمونه‌ها در ژل پلی‌آکریلامید ٦٪ بمدت ۲۱ ساعت و با ولتاژ ۵۵ ولت الکتروفورز عمودی شدند. از رنگ‌آمیزی نقره نیز برای مشاهده ژنوتیپ‌ها استفاده شد.

آنالیز آماری

برای محاسبه فراوانی آللها، میزان هتروزایگوسیتیها (مشاهده شده و مورد انتظار) و بررسی تعادل هاردی-واینبرگ از نرم افزار Popgen32 استفاده شد (یه و همکاران ۱۹۹۹).

در نرم افزار فوق برای محاسبه هتروزایگوسیتی مورد انتظار از فرمول زیر استفاده می‌شود که در آن n_{luv} تعداد هتروزیگوتهای مشاهده شده و n اندازه نمونه را نشان می‌دهد (هارلت و همکاران ۱۹۹۷).

$$H= \sum_u \sum_{u\neq v} n_{luv}/n$$

ارتباط آماری بین نوع ژنوتیپ‌ها و صفات تولیدی

رکوردهای مورد بررسی شامل صفات وزن تولد، وزن سه ماهگی، وزن شش ماهگی، وزن نه ماهگی و وزن یکسالگی بودند. جهت مطالعه ارتباط صفات مرتبط با رشد و ژنوتیپهای بدست آمده از مدل آماری زیر استفاده شد.

$$Y_{ijklm}= \mu+ Gen_i+ Sex_j+ b_k(Age) +b_l(BW) + e_{ijklm}$$

Y_{ijklm} = m امین رکورد حیوان از l امین وزن تولد، kامین سن رکوردگیری، jامین جنس و iامین ژنوتیپ

μ= میانگین

Gen_i= اثر تصادفی i امین ژنوتیپ

Sex_j= اثر ثابت jامین جنس

Age_k= اثر kامین سن رکوردگیری (برحسب روز) به عنوان عامل کووریت

BW_l= اثر lامین وزن تولد به عنوان عامل کووریت

e_{ijklm} = اثرات تصادفی خطا (اثرات باقیمانده)

آنالیز واریانس و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از رویه GLM نرم افزار SAS انجام شد.

نتایج و بحث

پس از بهینه نمودن شرایط، قطعه مورد نظر به طول ۲۹۵ جفت باز با کیفیت بالایی تکثیر شد (شکل ۱). محصولات تکرشته‌ای PCR، با توجه به فرم فضایی خاص خود و

[1] Master Mix
[2] Loadding Dye

در پی آن وزن مولکولی خاصی که داشتند، در نقاط مختلف ژلپلی‌آکریلامید قرار گرفتند. درنهایت پس از الکتروفورز عمودی تعداد ٤ الگوی باندی متفاوتAA، AB، CC و CDدر بین کل نمونه‌هامشاهده شد (شکل ۲) که این تفاوت نشاندهنده وجود ٤ نوع ژنوتیپ متفاوت در جمعیت مورد بررسی در این تحقیق بود. فراوانی آللهای A، B، C و D به ترتیب ۰/٤۸۹۵، ۰/۰۳٦۸، ۰/٤٥۷۹ و۰/۰۱٥۸ محاسبه شد (جدول ۱).

بیشترین فراوانی در این جمعیت مربوط به ژنوتیپ AAبود. فراوانی ژنوتیپ‌های هتروزیگوت در برابر ژنوتیپ‌های هموزیگوت بسیار ناچیز بود و تعدادی از ژنوتیپها اصلاً در این جمعیت مشاهده نشدند (جدول ۲). نتایج این تحقیق با نتایج مطالعات قبلی (باستوس و همکاران ۲۰۰٦) که از طریق تعیین توالی برای اگزون ۳ ژن POU1F1 به وجود چندشکلی پی برده بودند، از لحاظ وجود و تعداد چند شکلی مطابقت داشت، با این تفاوت که در آن مطالعه در اثر دو جهش متفاوت (کدون شماره ۸۹ و ۱۰٥) در یکی از آللهای ژنوتیپ GG، ژنوتیپ‌های GA و GC بترتیب در ۱ و ۳ دام از ۱۰۰ دام مشاهده شده اند، بعبارت دیگر تنها یک نوع ژنوتیپ هموزیگوت دیده شده است. این تفاوتها ممکن است بدلیل تفاوت در تعداد دامهای مورد مطالعه و یا متفاوت بودن نژادها باشد.

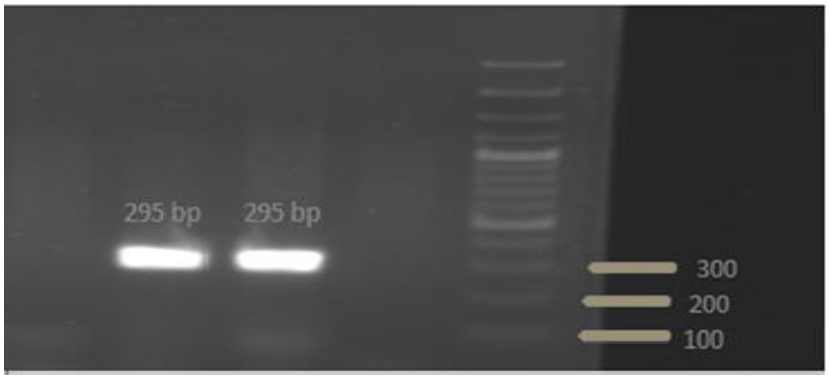
میزان هتروزایگوسیتی مشاهده شده در جمعیت مورد بررسی ۱۰/٥۳٪ بوده که این مقدار نشاندهنده تنوع کم نژادی می‌باشد. میزان هتروزایگوسیتی مورد انتظار در این جمعیت، ٥٥/۲۰٪ محاسبه شد. در مطالعه قبلی (باستوس و همکاران ۲۰۰٦) هتروزایگوسیتی مشاهده شده در بین گوسفندان نژاد کورادا تراکوئنتدر کشور پرتغال ٤٪ بوده است. کم بودن میزان هتروزایگوسیتی مشاهده شده در جمعیت مورد بررسی می‌تواند ناشی از تلاقی‌های جور شده مثبت در جمعیت مورد بررسی باشد.

میزان کل χ^2 محاسبه شده برابر با ۹٦/٥٥ می‌باشد که در سطح احتمال ۰/۰٥ دارای تفاوت معنی‌داری است، بنابراین جمعیت در تعادل هاردی- واینبرگ نمی‌باشد (جدول ۲). این عدم تعادل، نبود شرایط برقراری تعادل و همچنین تلاقی‌های غیرتصادفی را در توده نشان می‌دهد. از طرفی دیگر بدلیل عدم وجود تعدادی از ژنوتیپها در جمعیت، این عدم تعادل قابل انتظار بود.

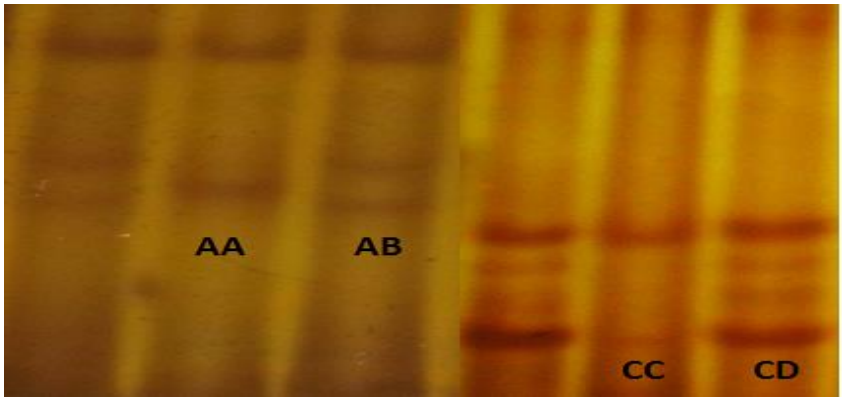
مقادیر حداکثر و حداقل رکوردهای مربوط به صفت وزن تولد، در بین ماده‌ها مشاهده شد، اما در مورد بقیه صفات حداقل مقدار رکورد در بین ماده‌ها و حداکثر آن در بین نرها مشاهده شد. اثر ژنوتیپ بعنوان مهمترین اثر مدنظر در این تحقیق، در سنین‌بالاتر (وزن نه ماهگی و وزن یکسالگی) معنی‌دار شده است ($P<0/05$). بعبارت دیگر این اثر در سنین پایینتر (وزن تولد، سه ماهگی و شش ماهگی) غیر معنی‌دار بود. حیوانات با ژنوتیپ CC دارای وزن نه ماهگی و وزن یکسالگی بیشتر(به ترتیب ۳۳/۸ و ٤٤/۷٥ کیلوگرم) و حیوانات با ژنوتیپ AA دارای وزن نه ماهگی و وزن یکسالگی کمتری (به ترتیب ۲۷/۸۸ و ۳۹/۷٤ کیلوگرم) بودند. از طرفی با مقایسه میانگین‌ها، می‌توان به اثر آلل C پی برد که این آلل در افزایش وزن بدن در سنین نه و دوازده ماهگی مؤثر بوده است بطوریکه حالت هموزیگوتی این آلل در هردو صفت اثر بیشتری بر وزن بدن نسبت به حالت هتروزیگوتی نشان داده است، در مورد آلل A برعکس، حالت هموزیگوتی این آلل در هردو صفت اثر کمتری بر وزن بدن نسبت به حالت هتروزیگوتی آن نشان داده است (جدول ۳). در حالیکه در مطالعه قبلی (ژائو و همکاران ۲۰۰٤) در سه چند شکلی موجود در اینترون ۳ هیچ گونه ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ‌ها و صفات رشد (وزن تولد، وزن از شیرگیری، افزایش وزن روزانه) وجود نداشته است. اثر جنس فقط در صفات شش ماهگی و یکسالگی معنی‌دار شده است که این می‌تواند به دلیل تأثیرگذاری جنسیت تنها در سنین خاصی از رشد باشد که نرها دارای میانگین وزن شش ماهگی (۳۰/۱٥

کیلوگرم) بیشتری نسبت به ماده‌ها (۲۷/٦۷ کیلوگرم) بوده و در یکسالگی نیز نرها دارای میانگین وزن یکسالگی (٤۳/۳٦ کیلوگرم) بیشتری نسبت به ماده‌ها (٤۰/٦۸ کیلوگرم) بوده‌اند. با حذف اثر جنس از مدل آماری نیز تغییر قابل ملاحظه‌ای در نتایج بدست نیامد بطوریکه با در نظر نگرفتن اثر جنس نیز، اثر ژنوتیپ‌ها فقط در سنین نه ماهگی و یکسالگی با تقریباً همان مقادیر میانگین‌ها (در حالت در نظر گرفتن اثر جنس) معنی‌دار شد.

نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد که با افزایش سن حیوان، ژن POU1F1 می‌تواند تأثیر معنی‌داری بر وزن بدن داشته باشد. همچنین با توجه به شناسایی ٤ نوع ژنوتیپ در جمعیت مورد مطالعه، روش PCR-SSCP یک تکنیک مناسبی برای تشخیص و شناسایی تنوع ژنتیکی در جمعیت‌ها می‌باشد. همچنین با توجه به معنی دار بودن رابطه ژنوتیپ‌ها و وزن بدن در سنین نه ماهگی و یکسالگی می‌توان در برنامه‌های اصلاح نژادی از ژنوتیپ CC به عنوان یک شاخص در بالا بودن وزن بدن در این سنین استفاده نمود.



شکل ۱- تکثیر قطعه ۲۹۵ جفت بازی بخشی از ژنPOU1F1



شکل ۲- الگوهای ژنوتیپی ژنPOU1F1توسط PCR-SSCPدر بین گوسفندان ماکویی

جدول ۱- فراوانی آلل‌های ژن POU1F1 در گوسفند ماکویی

آلل	فراوانی آللی
A	۰/٤۸۹۵
B	۰/۰۳٦۸
C	۰/٤۵۷۹
D	۰/۰۱۵۸

جدول ۲- فراوانی و تعداد ژنوتیپ‌ها و نتایج آزمون کای اسکوئر در گوسفندان ماکویی

ژنوتیپ	فراوانی	تعداد مشاهده شده	تعداد مورد انتظار	آماره کی-دو
AA	۰/۴۵	۴۳	۲۲/۶۳۴۹	۱۸/۳۲۲۹
AB	۰/۰۷۳	۷	۳/۴۴۴۴	۳/۶۷۰۳
BB	۰	۰	۰/۱۱۱۱	۰/۱۱۱۱
AC	۰	۰	۴۲/۸۰۹۵	۴۲/۸۰۹۵
BC	۰	۰	۳/۲۲۲۲	۳/۲۲۲۲
CC	۰/۴۴	۴۲	۱۹/۷۹۳۷	۲۴/۹۱۳۱
AD	۰	۰	۱/۴۷۶۲	۱/۴۷۶۲
BD	۰	۰	۰/۱۱۱۱	۰/۱۱۱۱
CD	۰/۰۳۷	۳	۱/۳۸۱۰	۱/۸۹۸۲
DD	۰	۰	۰/۰۱۵۹	۰/۰۱۵۹
جمع	۱	۹۵	۹۵	۹۶/۵۵*

***معنی‌دار در سطح احتمال کمتر از ۰/۰۵(P<۰/۰۵)**

جدول ۳- مقایسه میانگین* ژنوتیپهای مختلف ژنPOU1F1 برروی صفات (میانگین ± انحراف معیار) در گوسفندان ماکویی

صفت (کیلوگرم)	AA	AB	CC	CD
وزن تولد	۴/۲۱±۰/۰۷ a	۴/۴۴±۰/۱۷ a	۴/۳۴±۰/۰۹ a	۴/۱۹±۰/۲۷ a
وزن سه ماهگی	۲۰/۹۴±۰/۴۳ a	۲۰/۷۲±۰/۹۸ a	۲۲/۱۷±۰/۵۴ a	۲۱/۶۳±۱/۵۱ a
وزن شش ماهگی	۲۹/۰۲±۰/۶۶ a	۳۰/۱۳±۱/۵۱ a	۲۹/۱۷±۰/۸۴ a	۲۷/۳۲±۲/۳۰ a
وزن نه ماهگی	۲۷/۸۸±۰/۵۷ b	۲۸/۰۳±۱/۲۹ b	۳۳/۸۰±۰/۷۱ a	۳۳/۷۱±۲/۰۰ a
وزن یکسالگی	۳۹/۷۴±۰/۵۹ b	۴۱/۳۵±۱/۳۴ b	۴۴/۷۵±۰/۷۶ a	۴۲/۲۵±۲/۰۸ ab

*** در هر ردیف هر دو میانگین با حروف مشابه غیر معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد (P<۰/۰۵)**

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از همکاریهای مرکز اصلاح نژاد ماکو به خاطر در اختیار گذاشتن اطلاعات لازم برای انجام این تحقیق قدردانی می‌گردد.

منابع مورد استفاده

توکلیان ج، زینلی س، اسدزاده ن، جوانمرد آ، بناءبازی م و عظیمی‌فر ب،۱۳۸۶. بررسی فراوانی شکل‌های مختلف آللی موجود در ناحیه اگزون شش از ژن PIT-1 در گاو نژاد سرابی و گلپایگانی. مجله پژوهش و سازندگی در امور دام و آبزیان، شماره ۷۶. صفحه‌های ۱۸۹ تا ۱۹۵.

Bastos E, Santos I, Parentier I, Castrillo JL, Cravador A, Guedes-Pinto H and Renaville R, 2006. Ovis aries POU1F1 gene: cloning, characterization and polymorphism analysis. Genetica 126:303-314.

Carrijo SM, M de Alencar M, Toral F and Regitano L, 2008. Association of PIT-1 genotypes with growth traits in Canchim cattle. Sci Agric (Piracicaba Braz.) 65:116-121.

Chen R, Ingraham H, Treacy MN, Albert VR, Wilson L and Rosenfeld MG, 1990. Autoregulation of PIT-1 gene expression mediated by two cis-active promoter elements. Nature 346:583-586.

Harlt DL and Clark AG, 1997. Principal of population genetics (3rd ed.). Sinauer, Sunderland,Massachusetts, USA, 542 p.

Lan XY, Pan CY, Chen H, Zhang CL, Li JY, Zhao M, Lei CZ, Zhang AL and Zhang L, 2007. An AluI PCR-RFLP detecting a silent allele at the goat POU1F1 locus and its association with production traits. Small Rumin Res 73:8-12.

Li S, Crenshaw EB, Rawson EJ, Simmons DM, Swanson LW and Rosenfeld MG, 1990. Dwarf locus mutants lacking three pituitary cell types result from mutations in the POU-domain gene pit-1. Nature 347:528-533.

Lin C, Lin SC, Chang CP and Rosenfeld MG, 1992. PIT-1 dependent expression of the receptor for growth hormone releasing factor mediates pituitary cell growth. Nature 360:765-767.

McCormick A, Brady H, Theill LE and Karin M, 1990. Regulation of the pituitary-specific homeobox gene POU1F1 by cell-autonomous and environmental cues. Nature 345:829-832.

Miller SA, Dykes DD and Polesky HF, 1998. A simple salting out procedure for extraction of DNA from human nucleated cells. Nucl Acid Res 16:12-15.

Woollard J, Tuggle CK and PoncedeLeon FA, 2000. Rapid communication: localization of POU1F1 to bovine, ovine, and caprine 1q21-22. J Anim Sci 78:242-243.

Yeh FC, Yang R and Boyle T, 1999. POPGENE (Version 1.31). University of Alberta and Centre for International Forestry Research.

Zhao Q, Davis ME and Hines HC, 2004. Associations of polymorphisms in the Pit-1 gene with growth and carcass traits in Angus beef cattle. J Anim Sci, 82:2229-2233.