مجله بیوتکنولوژی کشاورزی

علمی-پژوهشی و ISC

بررسی ارتباط چندشکلی ژن لپتین با صفات مرتبط با اندازه بدن در بزهای کرکی راینی

مهدیه ضیاالدینی*[1]، الهه سنجری[1]، علی اسماعیلی زاده کشکوئیه[2]، محمدرضا محمدآبادی[2]

[1]دانش آموخته کارشناسی ارشد بخش علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهیدباهنر کرمان، کرمان، ایران.

[2]استاد بخش علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهیدباهنر کرمان، کرمان، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۲/۰۷، تاریخ پذیرش: ۱۳۹٦/۰٤/۲۲

چکیده

لپتین توسط سلول‌های چربی تولید می‌شود و نقش مهمی در تنظیم وزن بدن از طریق کاهش مصرف مواد غذایی و تحریک مصرف انرژی ایفا می‌کند. ژن لپتین می‌تواند در بسیاری از اعمال فیزیولوژیکی بدن و تنظیم مصرف غذا شرکت کند. در این تحقیق به منظور شناسایی چند شکلی در ناحیه اینترون شماره ۲ ژن لپتین از ۱۵۰ بز کرکی راینی بصورت تصادفی خونگیری انجام شد. سپس DNA ژنومی آنها استخراج و قطعه‌ای به طول ٤٤۲ جفت باز از ناحیه اینترون ۲ ژن لپتین با استفاده از روش PCR-RFLP تکثیر گردید. تجزیه و تحلیل الگوهای باندی منجر به شناسایی سه الگوی باندی AA، AB و BB شد، که فراوانی آنها به ترتیب برابر با ۰/۵۷، ۰/۳ و ۰/۱۳ بدست آمد. دو آلل A و B با فراوانی ۰/۷۲ و ۰/۲۸ در جمعیت مورد مطالعه شناسایی شد. شاخص شانون و تعداد آلل موثر برای این جایگاه از ژن لپتین به ترتیب ۰/۵۸۹۸ و ۱/٦٦۷۳ بدست آمد. نتایج نشان داد وزن تولید ارتباط معنی داری با ژن لپتین ندارد، اما وزن از شیرگیری، طول تنه، ارتفاع بدن و دور سینه حیوان ارتباط معنی داری ($P<0.05$) با چندشکلی یافت شده در این ژن دارند.

واژه های کلیدی: *اندازه بدن، چند شکلی، ژن لپتین، بزهای کرکی راینی، PCR-RFLP.*

* نویسنده مسئول: مهدیه ضیاالدینی تلفن: ۰۹۱٤۰٦٥۸۳۱۳ Email: ziyamahdiyeh@yahoo.com

مقدمه

حدود ۳۰ میلیون راس بز کرکی در سراسر جهان وجود دارد که ٤/٥ تا ٥ میلیون راس از آن‌ها (حدود ۲۰ درصد بزهای جهان) در ایران پرورش داده می‌شوند (Baghizadeh *et al*., 2009). بز کرکی راینی یکی از مهمترین نژادها در ایران است (Askari *et al*., 2008) و کرک با کیفیت بالایی تولید می‌کند، لذا این بزها ارزش اقتصادی بالایی در بازار جهانی دارند (Baghizadeh *et al*., 2009). این نژاد کرک-های سفید، سیاه و یا زرد تولید می‌کند (Moghbeli *et al*., 2013). تقریبا سه میلیون رأس از این نژاد در استان کرمان وجود دارد که اکثر جمعیت آنها در شهرستان بافت است و ۲۲ درصد (٦٥١٥٤٩ رأس) از آنها را شامل می-شوند و کمترین تعداد آنها در شهرستان راور (٦٥٩٨٥ رأس) پرورش می‌یابند (Baghizadeh *et al*., 2009). بز کرکی راینی در نواحی کوهستانی مرتفع و سرد پرورش داده می‌شود و به عنوان مهمترین نژاد بز کرکی در ایران شناخته شده است (Baghizadeh *et al*., 2009). این حیوانات هم برای تولید گوشت و هم برای تولید کرک نگهداری می‌شوند (Moghadaszadeh *et al*., 2015). در سیستم پرورش بز کرکی راینی، صفات رشد ارزش اقتصادی بالایی در اهداف اصلاح نژادی دارند (Barazandeh *et al*., 2012). در چند دهه اخیر، برنامه ملی اصلاح نژاد بز روی این نژاد اجرا شده است، ولی منجر به پیشرفت زیادی در سوددهی اقتصادی آن نشده است. یکی از چند دلیل این نقص فقدان معرفی و ایجاد یک شاخص انتخاب اقتصادی صفات پایه و اساسی در برنامه اصلاح نژادی می‌باشد (Barazandeh *et al*., 2012). از طرفی، در حوزه ژنتیک و اصلاح، اطلاع از ساختار ژنتیکی جمعیت‌ها می-تواند کمک بزرگی برای برنامه ریزی برای طرح‌های اصلاح نژادی و از همه مهمتر، حفظ ذخایر ژنتیکی باشد. روش‌های مولکولی و استفاده از نشانگرهای مولکولی در این زمینه یکی از بهترین گزینه ها به حساب می‌آید، زیرا با توجه به اطلاعات زیادی که به دست می‌دهد می‌تواند نتایجی که از تجزیه و تحلیل رکوردها با روش های آماری به دست آمده است را تأیید و تکمیل نموده و حتی ممکن است که آنها را رد کند (Alinaghizadeh *et al*., 2010). همچنین، استفاده از ژنتیک ملکولی فواید زیادی دارد که یکی از این فواید معنی دار تعیین ژنوتیپ افراد برای جایگاه خاصی است (Mousavizadeh *et al*., 2009)، و استفاده از نشانگرهای ژنتیکی در انتخاب و اصلاح نژاد حیوانات ممکن است به طور مهیجی پیشرفت ژنتیکی را تسریع کند (Javanmard *et al*., 2008). از طرفی، مطالعه تنوع ژنتیکی نژادهای بومی برای حفاظت از منابع ژنتیکی ذخایر بومی لازم و ضروری است (Mohammadi *et al*., 2009). حفاظت باید بر اساس دانش عمیقی از منابع ژنتیکی نژادهای

خاص باشد، لذا تلاش برای شناسایی و تعیین خصوصیات ژنتیکی نژادهای بومی و محلی بسیار اهمیت دارد (Shojaei *et al*., 2010; Zamani *et al*., 2013). بر اساس اطلاعات موجود ژنی در موش شناسائی و کلون شد که امروز به عنوان یکی از عوامل اصلی کنترل کننده اشتها در انسان و نشخوارکنندگان شناخته شده است (Friedman and Halaas, 1998). این ژن در موش‌های چاق به صورت هموزیگوت مغلوب (ob/ob)، یعنی جهش یافته مشاهده می شود. محصول فرم وحشی این ژن، هورمون لپتین نام دارد که از کلمه یونانی "LEPTOS" به معنی لاغری گرفته شده است (Houseknecht *et al*., 1998). ژن لپتین انسان در ناحیه کروموزومی HAS 7q31.3 و ژن لپتین گاو در BTA 4q32 واقع شده است (Pfister *et al*., 1996). با کمک روش‌های سیتوژنتیک و دورگه سازی در محل با استفاده از مواد فلورسنت (FISH) این ژن در گوسفند و بز برروی کروموزوم شماره چهار، به ترتیب در جایگاه‌های OAR 4q32 و CHI 4q32 شناسائی شده است (Perucatti *et al*., 2006). در یک تحقیق مشخص شد که بین کروموزوم شماره چهار گاو،گوسفند و بز با کروموزوم شماره هفت انسان پنج ناحیه ژنی حفظ شده وجود دارد (Perucatti *et al*., 2006).

ژن لپتین در بزها بسیار کم مورد بررسی قرار گرفته است. با این حال، در مطالعه ای که روی نژادهای بز هندی انجام شد، چندشکلی موثری در ژن لپتین در ناحیه‌های اگزون و اینترون دو یافت شد که با صفات مرتبط با اندازه بدن هم بستگی مثبت داشت (Singh *et al*., 2012). در یک مطالعه چندشکلی‌های ژن لپتین گاو بررسی و همبستگی آن با ذخیره چربی گزارش شده است (Fitzsimmons *et al*., 1998). در مطالعه دیگری، اینترون و اگزون‌های ژن لپتین در نژادهای مختلف گاو توالی‌یابی شد و ۲۰ چندشکلی در اگزون با فراوانی یک چندشکلی در هر ۸۰ جفت باز شناسائی گردید (Konfortov *et al*., 1997). در یک تحقیق مشخص شد که چندشکلی تک نوکلئوتیدی C→T در ژن لپتین گاو موجب افزایش ذخیره چربی لاشه می‌شود (Buchanan *et al*., 2002). در مطالعه ای که به منظور بررسی چندشکلی ژن لپتین و ارتباط آن با صفات کیفیّت گوشت و رشد عضله بر روی برّه‌های سافولک و دورست هورن صورت گرفت، برای ژن لپتین چندشکلی مشاهده و همچنین وجود ارتباط معنی داری بین چند-شکلی این ژن و صفات مربوطه نشان داده شد (Boucher *et al*., 2006). بررسی چندشکلی ژن لپتین به روش PCR-SSCP، در بین گوسفندان ایرانی برای اولین بار در گوسفند نژاد بلوچی صورت گرفت (Tahmoorespour *et al*., 2008). نتایج آن‌ها نشان داد که بین اُلگوهای چندشکلی ژن لپتین (L_1، L_2 و L_3) و صفات مرتبط با اندازه بدن در گوسفند بلوچی ارتباط معنی داری وجود دارد. در گزارش

دیگری چندشکلی ژن لپتین به طور معنی‌داری با ارزش‌های اصلاحی برای وزن ۹۰ روزگی مرتبط بوده است، در صورتی که با ارزش‌های اصلاحی برآورد شده صفات دیگر مرتبط نیست (Tahmoorespour *et al.*, 2010). در پژوهشی Shojaei *et al.* (2009) در گوسفند کرمانی ۱۰ الگوی ژنوتیپی A/A، C/C، A/B، A/C، A/B/C، A/B/E، A/B/F، A/C/F، A/B/D/E و A/B/C/F را گزارش کردند. نتایج آنها نشان داد که صفات رشد به طور معنی داری تحت تأثیر الگوهای ژنوتیپی قرار می‌گیرند. به طوری که، الگوهای A/B/E، A/C، A/B/C/F و A/B/C/F وزن بدن بالاتری به ترتیب در سنین ۳، ٦، ۹ و ۱۲ ماهگی داشتند. حیوانات دارای ژنوتیپ A/B، A/B/C، A/B/F و A/B/D/E کمترین وزن بدن را به ترتیب در سنین ۳، ٦، ۹ و ۱۲ ماهگی داشتند. چندشکلی ژن لپتین در برخی از گوسفندان ایرانی، ازجمله بلوچی، زل، شال، زندی، کرمانی و... مورد بررسی قرار گرفته است. داده‌ها حاکی از این است که بین چندشکلی‌های مشاهده شده در ژن لپتین و افزایش وزن لاشه سرد، درصد چربی دنبه و کل وزن چربی بدن در نژاد شال و در نژاد زل با وزن لاشه سرد، وزن گوشت لخم، افزایش در درصد چربی دنبه و کاهش در وزن کشتار ارتباط معنی داری وجود دارد، در حالی که در نژاد زندی بین این چندشکلی‌ها با صفات لاشه ارتباط معنی داری مشاهده نمی‌شود (Barzehkar *et al.*, 2009). از آنجا که وجود یک خزانه ژنی بزرگ برای حفظ پتانسیل پرورش و اصلاح نژاد در آینده برای توسعه و تکامل سیستم تولیدات حیوانی پایدار مهم است، در سال‌های اخیر برای مطالعه و حفاظت از تنوع ژنتیکی این نژاد گام‌هایی برداشته شده است (Askari *et al.*, 2009; Mohammadabadi *et al.*, 2009; Alinaghizadeh *et al.*, 2010; Askari *et al.*, 2010; Hassani *et al.*, 2010; Askari *et al.*, 2011; Mohammadabadi, 2012; Aminafshar *et al.*, 2014; Tohidi nezhad *et al.*, 2015; Shamsalddini *et al.*, 2016: Mohammadabadi and Tohidinejad, 2017)، ولی تا کنون ارتباط ژن لپتین با صفات رشد در بزهای کرکی راینی بررسی نشده است. لذا، هدف از پژوهش حاضر، شناسایی موجود در ناحیه اینترون دو ژن لپتین و برآورد میزان فراوانی الگوهای ژنوتیپی مختلف این جایگاه و بررسی رابطه بین چندشکلی این الگوی ژنوتیپی با اندازه بدن در بزهای کرکی راینی با استفاده از تکنیک PCR-RFLP بود.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش مقدار ۲/۵ سی سی خون از سیاهرگ وداج ۱۵۰ رأس از بزهای کرکی راینی ایستگاه پرورش بز کرکی راینی شهرستان بافت به طور تصادفی (ازنظر جنس، سن و تیپ تولد) جمع آوری شد. استخراج DNA ژنومی با روش نمکی بهینه یافته انجام شد. آغازگرهای مورد استفاده برای تکثیر ناحیه مورد نظر هرکدام ٢٤ نوکلئوتید طول داشتند که برای تکثیر قطعه ٤٢٢ جفت باز از اینترون ۲ ژن

لپتین گاوی طراحی شده بودند. در داخل این قطعه دو ناحیه برشی برای آنزیم Sau3AI وجود دارد. توالی آغازگرهای مورد استفاده (Liefers *et al*., 2002) عبارت بودند از:

LeptinF: 5'-TGGAGTGGCTTGTTATTTTCTTCT-3'

LeptinR: 5'-GTCCCCGCTTCTGGCTACCTAACT-3'

برای به دست آوردن نتایج مطلوب در واکنش PCR، ۲۵ پیکومول از هر پرایمر، ۰/۲ میکرومولار dNTP، ۲/۵ میکرومولار $MgCl_2$، ۱/۵ میکرولیتر DNA به همراه ۰/۳ واحد آنزیم taq مورداستفاده قرار گرفت. برنامه حرارتی ۹٤ درجه سلسیوس جهت واسرشته سازی DNA به مدت ۳۰ ثانیه، دمای ٥٦/۹ درجه سلسیوس جهت اتصال پرایمرها به مدت ٤٥ ثانیه و دمای ۷۲ درجه سلسیوس جهت سنتز قطعه موردنظر به مدت ۳۰ ثانیه با ۳۵ چرخه به کار برده شد. هضم آنزیمی در حجم ۲۵ میکرولیتر با مصرف ۱/۵ میکرولیتر آنزیم تحت شرایط بافری و دمای ۳۷ درجه با استفاده از آنزیم برشی *Sau3AI* صورت گرفت. جهت مشاهده محصولات PCR از الکتروفورز ژل آگارز ۱٪ وقدرت ۹۰ ولت به مدت ۱ ساعت استفاده گردید و رنگ آمیزی ژل با اتیدیوم بروماید انجام شد. برای برآورد فراوانی آلل ها، محاسبه هتروزایگوسیتی و آزمون کای اسکور از نرم افزار $PopGene_{32}$ استفاده گردید (Yeh, *et al*., 1999).

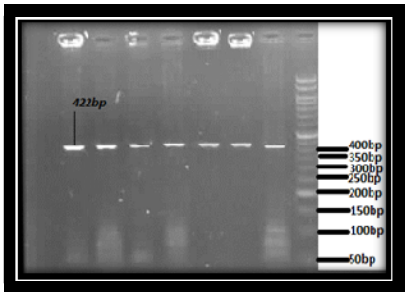
میانگین صفات مورد مطالعه، اثر افزایشی و غلبه نیز با نرم افزار SAS(9.1) برآورد شد. برای آنالیز داده ها جهت تعیین اثر ژنوتیپ‌های مختلف بر صفات مرتبط با اندازه بدن (وزن تولد، وزن از شیرگیری، طول تنه، ارتفاع بدن و دور سینه) از مدل آماری زیر استفاده شد:

$$Y_{ijklm} = \mu + G_i + Y_j + S_k + D_l + Age_m + e_{ijklm}$$

در این مدل: Y_{ijlm} = هر کدام از مشاهدات، μ = اثر میانگین، G_i = اثر ثابت ژنوتیپ ژن لپتین، Y_j = اثر ثابت سال، S_k = اثر ثابت جنس، D_l = اثر ثابت تیپ تولد، Age_m = اثر سن تولد در زمان رکوردگیری (به ماه) و e_{ijklm} = خطای باقی مانده.

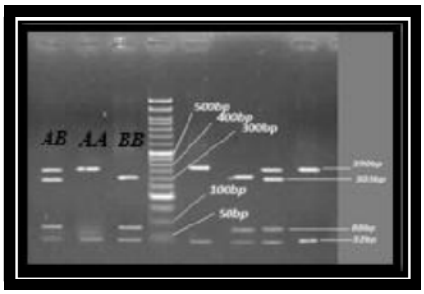
نتایج و بحث

با استفاده از یک جفت آغازگرهای اختصاصی طی واکنش زنجیره ای پلیمراز، قطعه ٤۲۲ جفت بازی از ناحیه اینترون ۲ ژن لپتین تکثیر گردید که به منظور تشخیص تکثیر قطعه مورد نظر، محصولات PCR با استفاده از الکتروفورز با ژل آگارز یک درصد مورد ارزیابی قرار گرفتند (شکل۱). تجزیه و تحلیل باندهای حاصل از الکتروفورز با ژل آگارز و رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید با استفاده از روش RFLP منجر به شناسایی سه الگوی باندی متفاوت در جمعیت مورد مطالعه گردید (شکل۲).



شکل ۱- ارزیابی محصول PCR

Figure1: PCR product evaluation



شکل ۲- الگوی باندی ژن لپتین

Figure2: Leptin gene bands pattern

الگوهای باندی به صورت AA، AB و BB مشخص بودند، که فراوانی آنها به ترتیب برابر با ۰/۵۷، ۰/۳ و ۰/۱۳ به دست آمد و دو آلل A و B به ترتیب با فراوانی ۰/۷۲ و ۰/۲۸ در جمعیت مورد مطالعه شناسایی شد که نشان دهنده جهش است. ولی اگر در گله جهش نباشد فقط باندهای ٤٢٢ جفت بازی مشاهده می‌شود (Dehnad *et al.*, 2008). نتایج تحقیقات انجام شده برروی گوسفندان سافولک و دورست (Boucher *et al.*, 2006) و همچنین پژوهش های انجام گرفته بر روی انسان (Iserentant *et al.*, 2005) با نتایج این مطالعه مطابقت داشت و سه الگوی باندی متفاوت نتیجه نهایی هر کدام ازمطالعات ذکر شده بود. همچنین نتایج تحقیق انجام شده با نتایج مطالعاتی که برروی برخی از گوسفندان ایرانی (بلوچی، زل و شال) انجام شد مطابقت دارد (Barzehkar *et al.*, 2009).

هم‌چنین مطالعات نشان داد که این جهش در نژاد های ماکویی (Hashemi *et al.*, 2011)، مهربان (Behzadi., 2011)، لری_بختیاری و زل (Azizi *et al.*, 2012)، ماکویی و زل (Moradi., 2009) و کرمانی (Shojaei *et al.*, 2010) نیز وجود دارد. اما مطالعات انجام شده برروی گوسفند نژاد زندی (Barzehkar *et al.*, 2009) عدم وجود این جهش را اثبات کرده است.

از شاخص‌های مهم یک نشانگر مولکولی تعداد آلل، فراوانی آللی، تعداد آلل موثر و میزان هتروزیگوسیتی می‌باشد، که مقدار هر کدام از این پارامترهای موثر در تنوع درون جمعیت در جدول ۱ ذکر شده است. نتایج به دست آمده نشان داد که چندشکلی‌های مشاهده شده در سطح قطعه ٤٢٢ جفت بازی تکثیر شده از اینترون شماره دو ژن لپتین، اثر معنی داری بر وزن از شیر گیری، طول تنه، ارتفاع بدن و دور سینه داشت ($P<0.05$) (جدول ۲).

جدول ۱- برآورد پارامترهای آماری و ژنتیکی ژن لپتین در جمعیت بزهای کرکی راینی.

Table 1- Estimates of statistical and genetic parameters for leptin gene in the studied population of the Raeini cashmere goats.

0.5898	Shannon index	شاخص شانون
1.6673	Effective Number of alleles	تعداد آل موثر
0.4002	Nei Heterozygosis	هتروزیگوسیتی Nei
0.4016	Expected heterozygosity	هتروزیگوسیتی مورد انتظار
0.5984	Expected homozygosity	هموزیگوسیتی مورد انتظار
0.3	Observed heterozygosity	هتروزیگوسیتی مشاهده شده
0.7	Observed homozygosity	هموزیگوسیتی مشاهده شده

جدول۲- مقایسه میانگین و خطای استاندارد برای صفات مرتبط با اندازه بدن اندازه گیری شده ژنوتیپ‌های لپتین.

Table 2- Comparison of mean and standard error for measured traits related to body size of leptin genotypes.

ژنوتیپ Genotype	وزن تولد Birth weight	صفات مرتبط با اندازه بدن Traits related to body size			
		وزن از شیرگیری Weaning weight	طول تنه Body length	ارتفاع تنه Body height	دورسینه Chest circumference
AA	1.81±0.10 a	10.00±0.24 b	50.25±1.39 c	55.61±1.52 c	34.45±1.55 bc
AB	1.92±0.11 a	10.36±0.26 ac	54.28±1.49 a	60.19±1.63 ab	36.49±1.66 a
BC	1.83±0.12 a	10.23±0.28 bc	54.59±1.62 a	59.34±1.77 b	36.42±1.80 ab

a، b و c:در هر ستون میانگین هایی که حرف مشابه ندارند، اختلاف معنی دار دارند. (P<0.05)

میانگین، کمترین و بیشترین مقدار، انحراف معیار و ضریب تغییرات مربوط به صفات مورد مطالعه در جدول ۳ نمایش داده شده است.

جدول ۳- میانگین، حداقل و حداکثر مقدار، انحراف معیار و ضریب تغییرات مربوط به صفات مورد مطالعه

Table 3- Mean, minimum and maximum values, standard deviation and coefficient of variation for the studied traits

صفت Trait	میانگین Mean	حداقل Minimum	حداکثر Maximum	انحراف معیار Standard deviation	ضریب تغییرات Coefficient of variation
وزن تولد **Birth weight**	2.18	1.50	3.00	0.30	13.76
وزن ازشیرگیری **Weaning weight**	10.37	8.70	12.60	0.89	8.58
طول تنه **Body length**	54.90	42.48	65.50	4.53	8.25
ارتفاع تنه **Body height**	58.31	44.20	68.46	4.89	8.38
دورسینه **Chest circumference**	36.77	25.98	45.80	4.37	11.88

برآورد اثر افزایشی(Additive) و غلبه ژنی(Dominance)

منظور از اثرات افزایشی تفاوت دو ژنوتیپ هموزایگوت در تأثیرگذاری بر فنوتیپ است و انحراف میانگین ژنوتیپ های هتروزایگوت از میانگین دو هموزایگوت اثر غلبه را برآورد می کند. برای برآورد اثر افزایشی ژن به ژنوتیپ های AA و AB و BB به ترتیب کدهای صفر و یک و دو و برای بررسی اثر غلبه ژن به ژنوتیپ های AA و AB و BB به ترتیب کدهای صفر و یک و صفر داده شد. به منظور برآورد اثر افزایشی و غلبه در مدل آماری دوم اثرات افزایشی و غلبه به صورت کوواریت وارد شد. نتایج حاصل از این آنالیز در جدول ٤ آورده شده است.

جدول ٤- برآورد اثرات افزایشی و غلبه برای ژن لپتین در جمعیت بزهای کرکی راینی مورد مطالعه.

Table 4- Estimated effects of additive and dominance leptin gene effects in the studied population of the Raeini cashmere goats

صفت trait		اثر effect	
		افزایشی Additive	غلبه dominance
دور سینه	مقدار P P-value	0.06	0.20
Chest circumference	خطای استاندارد± برآورد Estimate±SE	0.983±0.53^{ns}	1.053±0.83^{ns}
ارتفاع تنه	مقدار P P-value	0.0006	0.0012
Body height	خطای استاندارد± برآورد Estimate±SE	1.861±0.52**	2.710±0.81**
طول تنه	مقدار P P-value	0.0001	0.0001
Body length	خطای استاندارد± برآورد Estimate±SE	2.166±0.48**	2.166±0.48**
وزن از شیرگیری وزن تولد	مقدار P P-value	0.18	0.18
Weaning weight	خطای استاندارد± برآورد Estimate±SE	0.114±0.08^{ns}	0.114±0.08^{ns}
وزن تولد	مقدار P P-value	0.72	0.72
Birth weight	خطای استاندارد± برآورد Estimate±SE	0.012±0.03^{ns}	0.012±0.03^{ns}

*، **و^{ns} به ترتیب وجود رابطه معنی دار در سطح احتمال پنج درصد، وجود رابطه معنی دار در سطح احتمال یک درصد و عدم وجود ارتباط معنی دار.

براساس نتایج به دست آمده از این تحقیق می‌توان گفت که تنوع آللی و ژنتیکی برای این ناحیه از ژن لپتین در جمعیت مورد آزمایش تقریبا بالا می باشد، و می تواند به عنوان یک نشانگر ژنتیکی در بررسی ها و مطالعات آینده از آن بهره گرفت و در صورت در دست داشتن رکوردهای تولیدی و اقتصادی، می توان در جهت به‌نژادی و انتخاب ژنوتیپ های برتر با توجه به صفات اقدام کرد و همچنین می توان برای مطالعه چند شکلی ها و تنوع بیشتراینترون و اگزون های دیگر این ژن را در برنامه های اصلاح نژادی مورد بررسی قرار داد.

منابع

Alinaghizadeh H, Mohammad Abadi MR, Zakizadeh S (2010). Exon 2 of BMP15 gene polymorphismin Jabal Barez Red Goat. Journal of Agricultural Biotechnology 2: 69-80 (In Farsi).

Askari N, Baghizadeh A, Mohammadabadi MR (2008). Analysis of the Genetic Structure of Iranian indigenous Raeni Cashmere goat populations using microsatellite markers. Biotechnology 2: 1-4.

Askari N, Baghizadeh A, Mohammadabadi MR (2010). Study of genetic diversity in four populations of Raeini cashmere goat using ISSR markers. Modern Genetics Journal 5: 49-56.

Askari N, Mohammadabadi MR, Baghizadeh A (2011). ISSR markers for assessing DNA polymorphism and genetic characterization of cattle, goat and sheep populations. Iranian Journal of Biotechnology 9: 222-229.

Askari N, Mohammadabadi MR, Beygi Nassiry MT, Baghizadeh A, Fayazi J (2009). Study of Genetic Diversity of Raeini Cashmere Goat Based on Microsatellite Markers. Journal of Agricultural Science 18: 155-161 (In Farsi).

Baghizadeh A, Bahaaddini M, Mohamadabadi MR, Askari N (2009). Allelic Variations in Exon 2 of Caprine MHC Class II DRB3 Gene in Raeini Cashmere Goat. American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science 6: 454-459.

Barazandeh A, Moghbeli SM, Vatankhah M, Mohammadabadi MR (2012). Estimating non-genetic and genetic parameters of pre-weaning growth traits in Raini Cashmere goat. Tropical Animal Health and Production 44: 811-817.

Azizi PM, Moradi Shahbabak H, Moradi Shahbabak V, Talebi MA (2012). The study of polymorphism of exon 3 gene of leptin and its relationship with biometric characteristics and blood parameters in Iranian sheep, Lori_bakhtieari and Zel by PCR-SSCP method. Iranian Congress of Animal Science, Isfahan University.

Barzehkar R, Salehi A, Mahjoubi F (2009). Polymorphisms of the ovine leptin gene and its association with growth and carcass traits in three Iranian sheep breeds. Iranian Journal of Biotechnology 7: 241-246.

Behzadi Sh (2011). Identification of polymorphisms in IGF-1 and LEPTIN genes and their relationship with subcutaneous fat, tail fat and some blood parameters in Mehraban sheep. MSC Thesis. Faculty of Agriculture Sciences and Engineering, College of Agriculture and Natural Resources, Tehran University.

Boucher D, Palin MF, Castonguay F, Gariépy C, Pothier F (2006). Detection of polymorphisms in the ovine leptin(LEP) gene: Association of a single nucleotide polymorphism with muscle growth and meat quality traits. Canadian Journal Animal Science 86: 31–35.

Buchanan FC, Fitzsimmons CJ, Van Kessel AG, Thue TD, Winkelman-Sim C, Schmutz SM (2002). Association of a missense mutation in the bovine leptin gene with carcass fat content and leptin mRNA levels. Genetic Selection Evolution 34: 105–116.

Dehnad A, Javanmard A, Afraz F, Zarrin Ghabaei GH (2008). Comparison of polymorphisms in the second intron of leptin gene in Telshi and Holstein cows using PCR-RFLP technique. Journal of Modern Agriculture 4: 21-26 (In Farsi).

Fitzsimmons CJ, Schmutz SM, Bergen RD, McKinnon JJ (1998). A potential association between the BM 1500 microsatellite and fat deposition in beef cattle. Mammalian Genome 9: 432-434.

Friedman JM, Halaas JL (1998). Leptin and the regulation of body weight in mammals. Nature 395: 763-770.

Hassani MN, Asadi Fozi M, Esmailizadeh AK, Mohammadabadi MR (2010). A genetic analysis of growth traits in raieni cashmere goat using multivariate animal model. Iranian Journal of Animal Science 41: 323-329 (In Farsi).

Hashemi A, Mardani K, Farhadian M, Ashrafi I, Ranjbari M (2011). Allelic polymorphism of Makoei sheep leptin gene identified by polymerase chain reaction and single strand conformation polymorphism. African Journal of Biotechnology 10: 17903-17906.

Houseknecht KL, Portocarrero CP (1998). Leptin and its receptors: regulators of whole-body energy homeostasis. Domestic Animal Endocrinology 15: 457-75.

Javanmard A, Mohammadabadi MR, Zarrigabayi GE, Gharahedaghi AA, Nassiry MR, Javadmansh A, Asadzadeh N (2008). Polymorphism within the intron region of the bovine leptin gene in Iranian Sarabi cattle (Iranian Bos taurus). Russian Journal of Genetics 44: 495-497.

Iserentant H, Peelman F, Defeau D, Vandekerckhove J, Zabeau L, Tavernier J (2005). Mapping of the interface between leptin and the leptin receptor CRH2 domain. Journal of Cell Science 118: 2519-2527.

Konfortov BA, Licence VE, Miller JR (1997). Re-sequencing of DNA from a diverse panel of cattle reveals a high level of polymorphism in both intron and exon. Mammalian Genome 10: 1142-1145.

Liefers SCM, Tepas FW, Veerkamp RF (2002). Association between Leptin gene polymorphism and protein, live weight, energy balance, feed intake, and fertility in Holstein. Journal Dairy Science 85: 1633-1638.

Liefers SC, Veerkamp RF, TePas MFW, Chilliard Y, Lende TV (2004). A missense mutation in the bovine leptin receptor gene is associated with leptin concentrations during late pregnancy. Animal Genetics 35: 138–141.

Moghadaszadeh M, Mohammadabadi MR, Esmailizadeh Koshkoieh A (2015). Association of Exon 2 of BMP15 Gene with the Litter Size in the Raini Cashmere Goat. Genetics in the 3rd Millennium 13: 4062-4067.

Mohammadabadi MR (2012). Relationships of IGFBP-3 gene polymorphism with cashmere traits in raini cashmere goat. Modern Genetics Journal 7: 115-120 (In Farsi).

Mohammadabadi MR, Askari N, Baghizadeh A, Esmailizadeh A (2009). A directed search around caprine candidate loci provided evidence for microsatellites linkage to growth and cashmere yield in Rayini goats. Small Ruminant Research 81: 146-151.

Mohammadabadi MR, Tohidinejad F (2017). Characteristics Determination of Rheb Gene and Protein in Raini Cashmere Goat. Iranian Journal of Applied Animal Science 7: 289-295.

Mohammadi A, Nassiry MR, Mosafer J, Mohammadabadi MR, Sulimova GE (2009). Distribution of BoLA-DRB3 allelic frequencies and identification of a new allele in the Iranian cattle breed Sistani (Bos indicus). Russian journal of genetics 45: 198-202.

Moghbeli SM, Barazandeh A, Vatankhah M, Mohammadabadi MR (2013). Genetics and non-genetics parameters of body weight for post-weaning traits in Raini Cashmere goats. Tropical Animal Health and Production 45: 1519-1524.

Mousavizadeh A, Mohammad Abadi MR, Torabi A, Nassiry MR, Ghiasi H, Esmailizadeh AK (2009). Genetic polymorphism at the growth hormone locus in Iranian Talli goats by polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism (PCR-SSCP). Iranian Journal of Biotechnology 7: 51-53.

Moradi Shahrbabak H (2009). Polymorphism of calpastatin, myostatin, leptin genes and potassium with economic traits, blood metabolites and carcass traits in Maco and Zel sheep. Ph.D. Thesis. Faculty of Agriculture Sciences and Engineering, College of Agriculture and Natural Resources, Tehran University.

Perucatti A, Di Meo GP, Vallinoto M, Kierstein G, Schneider MP, Incarnato D, CaputiJambrenghi A, Mohammadi G, Vonghia A, Silva G, Brenig B, Iannuzzi L (2006). FISH-mapping of LEP and SLC26A2 genes in sheep, goat and cattle R-banded

chromosomes: comparison between bovine, ovine and caprine chromosome 4 (BTA4/OAR4/CHI4) and human chromosome 7 (HSA7). Cytogenetic and Genome Research 115: 7-9

Pfister-Genskow M, Hayes H, Eggen A, Bishop MD (1996). Chromosomal localization of the bovine obesity [OBS] gene. Mammalian Genome 7: 398-399.

Shamsalddini S, Mohammadabadi MR, Esmailizadeh AK (2016). Polymorphism of the prolactin gene and its effect on fiber traits in goat. Russian Journal of Genetics 52: 405-408.

Shojaei M, Mohammad Abadi MR, Asadi Fozi M, Dayani O, Khezri A, Akhondi M (2010). Association of growth trait and Leptin gene polymorphism in Kermani sheep. Journal of Cell and Molecular Research 2: 67-73.

Shojaei M, Mohammadabadi MR, Asadi Fozi M, Esmailizadeh AK, Ferdowsi MH, Torabi A, Tayyarzadeh M, Mirzakhan H (2010). Using PCR-SSCP Technique to Investigate Polymorphism of Leptin Gene in Kermani Sheep. Journal of Animal Science Research 20: 115-122.

Singh SK, Rout PK, Agarwal R, Mandal A, Shukla SN, Roy R (2012). Characterization of Exon 2 and Intron 2 of Leptin Gene in Indian Goats. Animal Biotechnology 20: 80-85.

Tahmoorespour M, Ansari M, Mousavi H, Eftekhari Shahroudi F (2008). Leptin gene polymorphism and its relationship to daily weight gain in Baluchi sheep. 3rd Congress on Animal Science. Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

Tahmoorespour M, Taheri A, Vafaye Valeh M, Saghhi DA, Ansary M (2010). Assessment relationship between leptin and ghrelin gene polymorphisms and estimated breeding values (EBVs) of growth traits in Baluchi sheep. Journal of Animal and Veterinary Advances 9: 2460-2465.

Tohidi nezhad F, Mohammadabadi MR, Esmailizadeh AK, Najmi Noori A (2015). Comparison of different levels of Rheb gene expression in different tissues of Raini Cashmir goat. Journal of Agricultural Biotechnology 6: 35-50 (In Farsi).

Zamani P, Akhondi M, Mohammadabadi MR, Saki AA, Ershadi A, Banabazi MH, Abdolmohammadi AR (2013). Genetic variation of Mehraban sheep using two intersimple sequence repeat (ISSR) markers. African Journal of Biotechnology 10: 1812-1817.

Yeh FC, Yang RC, Timothy BJ, Ye Z, Judy M (1999). POPGENE, theuser-friendly shareware for population genetic analysis. Molecular Biology and Biotechnology 95: 615-712.

Association of leptin gene polymorphism with body size in Raeini cashmere goats

Zieaadini M.[*1], Sanjari E.[1], Esmailizadeh A.K.[2], Mohammadabadi M.R.[2]

[1]MSc graduate, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.
[2]MSc graduate, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

Abstract

Leptin is produced by adipocytes and plays a critical role in the regulation of body-weight through reducing food intake and stimulating energy expenditure. Leptin gene can participate in many physiological functions and regulation of food intake. In order to identify the polymorphism in a region of the second intron of the leptin gene, blood samples were taken randomly from 150 Raeini cashmere goats. Genomic DNA was extracted and a fragment with a length of 442 bp was amplified from the second intron of leptin gene using PCR-RFLP method. The statistical analysis identified three band patterns of AA, AB and BB with frequencies of 57.0, 3.0 and 13.0, respectively. The A and B alleles showed frequency of 72.0 and 28.0, respectively. Shannon index and effective number of alleles for the leptin gene were 5898/0 and 6673/1 respectively. Analysis of the body size related traits with leptin genotypes showed that while birth weight was not associated with this gene weaning weight, body length, body height and chest circumference were significantly associated with identified polymorphisms in this gene ($P<0.05$).

Keywords*: Body size, Polymorphism, Leptin gene, Raeini cashmere goats, PCR-RFLP.*

[*] Corresponding Author: Zieaadini M. Tel: 09140658313 Email: : ziyamahdiyeh@yahoo.com