Archive of SID

مجله پژوهش های علوم دامی/ جلد ۲۱ شماره ۱/ سال ۱۳۹۰

# ارزیابی چند شکلی ژن کاپاکازئین (CSN3) در بزهای نژاد مرخز با روشهای RFLP و SSCP

ام‌البنین اسدپور[۱] و نصراله پیرانی*[۲]

تاریخ دریافت:۸۸/۷/۷ تاریخ پذیرش:۸۸/۹/۲۲

۱- دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد ژنتیک و اصلاح نژاد دام، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان

۲- دانشیار گروه علوم دامی دانشگاه تبریز

*مسئول مکاتبه: Email: npirany@gmail.com

**چکیده**

ارتباط کازئینهای موجود در شیر بز با ترکیبات شیر و نقش آن درپنیر سازی، مطالعه چند شکلی کازئینها را مورد توجه خاصی قرار داده است. همچنین شیر بز به دلیل دارا بودن ترکیب کاملاً متفاوت نسبت به شیر گاو در رژیم غذائی انسان حائز اهمیت می‌باشد. در این تحقیق نمونه های خون ۸۰ رأس بز مرخز از گله موجود در ایستگاه تحقیقاتی سنندج جمع-آوری شد. پس از استخراج DNA، دو قطعه ۴۰۷ و ۲۷۹ جفت‌بازی از اگزون ۴ ژن کاپاکازئین توسط آغازگرهای اختصاصی تکثیر و به ترتیب توسط تکنیکهای PCR-SSCP وPCR-RFLP مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. آنزیمهای *Hae*III و *Taq*I به ترتیب جهت تشخیص آللهای E وK روی قطعه ۲۷۹ جفت بازی استفاده شدند که در این جمعیت مشاهده نشدند. اما با استفاده از تکنیک SSCP، ۱۳ آلل مختلف بنامهای A، G، 'C، J، M، C، H، "B، D/I/L و B'/B مشاهده شدند. از بین آللهای مشاهده شده دو آلل A و B به ترتیب با فراوانی ۰/۴۰۱ و ۰/۰۱۸ دارای بیشترین و کمترین فراوانی بودند. نتایج حاکی از این بود که تلفیق این دو روش بخوبی توانست چند شکلی موجود در جمعیت مورد بررسی را مشخص کند.

**واژه‌های کلیدی**: بز مرغز، چند شکلی، کاپاکازئین، PCR- RFLP، PCR-SSCP

www.SID.ir

Archive of SID



# Evaluation of Kappa-Casein (CSN3) Gene Polymorphism of Markhoz Goats by RFLP and SSCP Methods

**O Asadpour[1] and N Pirany[*2]**

Received: 28 September, 2009 Accepted: 13 December, 2009
[1]Former M. Sc. Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Kurdistan University, Sanandaj, Iran
[2]Associate Professor, Department of Animal Science, University of Tabriz., Iran
[*]Corresponding author: Email: npirany@ gmail.com

**Abstract**
The genetic polymorphism of goat caseins has raised a considerable research interest due to its relationship with milk composition and technological characteristics important for cheese making. The goat milk also is important in human nutrition because of its quite different composition from bovine milk. In this study, the blood samples of 80 goats were collected from a herd kept in Sanandaj research station. After extraction of genomic DNA, two separate fragments of 407 and 279bp of goat kappa-casein gene located on exon four were amplified using specific primers and analyzed using PCR-SSCP and PCR-RFLP techniques, respectively. The 279-bp fragment had polymorphic restriction sites for *Hae*III and *Taq*I endonucleases for alleles E and K, respectively but these alleles were not seen in this population. In the SSCP, 13 different alleles such as A, G, C', J, M, C, H, B'', D/I/L and B'/B were identified. The allele A and B with frequencies of 0.401 and 0.018 were the most frequent and the lowest frequency respectively. The results of this research showed that combination of these two techniques can determine polymorphism presented in the studied population.

**Keywords**: Goat, Kappa-Casein Markhoz goat, Polymorphism, PCR-RFLP, PCR-SSCP

**مقدمه**

مطالعه پروتئینهای شیر اولین بار توسط دی لوسیا و همکاران (۱۹۹۰) آغاز شد و سپس توسط کارولی و همکاران (۲۰۰۱) در سطح پروتئین و DNA مورد تایید قرار گرفت، این تحقیقات امروزه بدلیل روابط آنها با کیفیت، ترکیبات و ویژگیهای فناوری شیر همچنان ادامه دارد (کارولی و همکاران ۲۰۰۱، آنجیولیلو و همکاران ۲۰۰۲، استانکوا و همکاران ۲۰۰۵، پرینزنبرگ و همکاران ۲۰۰۵).

کازئینها و پروتئینهای آب پنیر دو گروه عمده پروتئینی در شیر می باشند که چند شکلی قابل مشاهده در آنها در نتیجه تنوع ژنتیکی ایجاد می‌شود. این چند شکلی ها توسط وراثت ساده مندلی به ارث می‌رسند و معمولاً دارای اثرات غالبیت نمی‌باشند و توسط تکنیکهای الکتروفورزی قابل تشخیص می‌باشند (اوتاویانو و همکاران ۲۰۰۵، کامینسکی و همکاران ۲۰۰۷).

کاپاکازئین مهمترین پروتئین موجود در شیر پستانداران می‌باشد که ۱۵ درصد کل کازئینها را تشکیل می‌دهد و بدلیل نقش آن در اندازه و پایداری میسل، تعیین کننده خصوصیات کارخانه‌ای شیر می باشد. پروتئین کاپاکازئین بز دارای ۱۷۱ اسیدآمینه است (مرسیر و همکاران ۱۹۷۶ الف و ب). و ژن آن از ۵ اگزون تشکیل یافته است که نواحی کدکننده شامل بخشی از اگزون ۳ با ۹ اسیدآمینه و اگزون ۴ با ۱۶۲ اسیدآمینه می‌باشد (وارد و همکاران ۱۹۹۷، یاهیوئی و همکاران ۲۰۰۳ و رئال و همکاران ۲۰۰۵).

با توسعه تکنیکهای مولکولی، نشانگرهای مختلفی برای شناسائی DNA پدید آمده اند. استفاده از نشانگرهای DNA ضمن تعیین ژنوتیپ افراد در اکثر

www.SID.ir

Archive of SID



جایگاههای ژنی موجب فراهم آمدن اطلاعاتی از جمله فراوانی آللی می‌شود که در انتخاب دامها نقش بسزائی دارد (بایس و همکاران ۲۰۰۵).

تکنیک SSCP روش موثری در شناسائی تنوع توالی در DNA تکثیر شده می‌باشد (اوریتا و همکاران ۱۹۸۹). اساس این تکنیک مهاجرت DNA از میان ژل پل‌آکریلامید غیردناتوره براساس اندازه و توالی آن می-باشد. بنابراین وجود حتی یک جهش نقطه‌ای، با تفاوت حرکت در روی ژل قابل مشاهده می‌باشد (باروسو و همکاران ۱۹۹۸، بونیفاسیو و همکاران ۲۰۰۱).

تکنیک RFLP بر اساس عملکرد آنزیمهای محدود کننده استوار بوده و می تواند تفاوت نوکلئوتیدی قطعات DNA را در افراد (حتی دو فرد یک گونه با ژنومهای تقریبا یکسان) نمایان سازد. در این تکنیک قطعات DNA دو رشته‌ای و یا محصول PCR توسط آنزیمهای محدود کننده در مکانهای خاصی بریده می-شود. سپس قطعات حاصله بر اساس طولشان در روی ژل الکتروفورز تفکیک می‌گردند (سگمن و همکاران ۲۰۰۶).

بز مرخز به عنوان یکی از ذخایر ژنتیکی و از سرمایه‌های ملی کشور به حساب می‌آید. شروع پرورش بز مرخز به ۱۰۰۰ سال قبل باز می‌گردد. فروش موهر و بزغاله منبع اصلی درآمد تولیدکنندگان بز مرخز می‌باشد در صورتیکه تولید شیر این حیوان در درجه دوم اهمیت قرار دارد (رشیدی و همکاران ۲۰۰۶). در حال حاضر پرورش بز مرخز به منطقه کوچکی در شهرستان بانه واقع در استان کردستان محدود شده بطوریکه جمعیت بز مرخز به کمتر از ۲۰۰۰ راس کاهش یافته است. دلایل زیادی از جمله مشکلات اقتصادی و اجتماعی پرورش دهندگان و از همه مهمتر جنگ بین ایران و عراق نیز بعنوان عوامل کاهش تعداد بزها نام برده شده است.

با شناسائی ژنوتیپهای کنترل‌کننده تولید شیر دراین حیوان می‌توان انتخاب برای شیر را به تدریج در برنامه‌های اصلاح این نژادی منظور و از این دام به عنوان نژادی دومنظوره برای تولید موهر و شیر استفاده نمود. علاوه بر این وجود گزارشاتی مبنی بر همبستگی ژن دوقلوزائی با آللهای مختلف ژن کاپاکازئین و بالابودن در صد دوقلوزائی در نژاد بز مرخز شناسائی آللهای مختلف کاپاکازئین این نژاد بز را مورد اهمیت قرار می‌دهد (چن و همکاران ۲۰۰۶).

هدف این مطالعه بررسی چند شکلی ژنتیکی بخشی از توالی‌کدکننده پروتئین شیر در ژن کاپاکازئین توسط دو تکنیک PCR-SSCP و PCR-RFLP بود.

## مواد و روشها

تعداد ۸۰ نمونه خون از گله بز مرخز واقع در مرکز تحقیقات سنندج جمع‌آوری شد که با روش اصلاح شده نمکی (میلر و همکاران ۱۹۸۸) DNA آنها استخراج شد. برای تکثیر قطعات مختلف از آغازگر KCNIF بعنوان آغازگر رو به جلو در هر دو تکنیک و از آغازگر KCNIR بعنوان آغازگر برگشتی در روش SSCP استفاده شد لازم به ذکر است آغازگر برگشتی مورد استفاده در روش RFLP با بررسی جایگاه برش آنزیمهای مورد استفاده در این مطالعه طراحی شد (پرینزنبرگ و همکاران ۲۰۰۵) جدول ۱ ترتیب بازی آغازگرها را نشان می‌دهد.

**جدول ۱- توالی پرایمرهای استفاده شده در تکنیکهای SSCP و RFLP**

| | |
|---|---|
| **پرایمر رو به جلو مشترک در هر دو روش (KCNIF)** | 5'-GGTATCCTAGTTATGGACTCAAT-3' |
| **پرایمر برگشتی در روش SSCP (KCNIR)** | 5'-GTTGAAGTAACTTGGGCTGTGT-3' |
| **پرایمر برگشتی در روش RFLP** | 5'-TAGCAATGGTATTGATGGCAGGTA-3' |

www.SID.ir

Archive of SID



در روش SSCP قطعه‌ای با طول ۴۰۷ جفت‌باز در یک واکنش حاوی ۲۰ میکرولیتر تکثیر شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز شامل یک مرحله واسرشته سازی اولیه ۹۴ درجه سانتیگراد بمدت ۴ دقیقه، ۳۵ چرخه تکثیر (۹۴ درجه‌سانتیگراد بمدت ۱ دقیقه، ۵۸ درجه-سانتیگراد بمدت ۱ دقیقه و ۷۲ درجه‌سانتیگراد بمدت ۱ دقیقه) و مرحله بسط نهائی ۷۲ درجه‌سانتیگراد بمدت ۷ دقیقه بود. بعد از مخلوط کردن ۳ میکرولیتر از هر محصول PCR با ۸ میکرولیتر از بافر بارگذاری دناتوره کننده، این مخلوط تحت‌تاثیر دمای ۹۵ درجه-سانتیگراد بمدت ۵ دقیقه قرار گرفت و بلافاصله برای مدت حداقل ۵ دقیقه بر روی یخ خرد شده قرار داده شد.

نمونه‌ها سپس بر روی ژل پلی‌آکریلامید ۸٪ (۴۹ آکریلامید:۱ بیس آکریلامید) حاوی بافرX ۰/۵ TBE و ۵ درصد گلیسرول بارگذاری شد. الکتروفورز با شدت جریان ۱۰ میلی‌آمپر بمدت ۱۶ ساعت در درون یخچال انجام گرفت. ژل پلی‌آکریلامید بعد از جدا شدن از شیشه‌ها بمدت ۱۰ دقیقه در محلول رنگ‌آمیزی اول قرار گرفت (۴۰۰ میلی‌لیتر محلول ثابت کننده شامل ۱۰ درصد اتانول ۹۶ درصد، ۰/۵ درصد اسید استیک خالص ومابقی آب مقطر)، سپس ژل به مدت ۲۵ دقیقه در محلول رنگ‌آمیزی دوم (۱۰۰ میلی‌لیتر نیترات نقره ۰/۱ درصد) قرار گرفته و به آرامی تکان داده شد، این مرحله در تاریکی انجام گرفت. ژل فوق تقریباً به مدت ۲۰ دقیقه در محلول ظهور (۱۰۰میلی‌لیتر متشکل از ۴۵۰ میکرولیتر فرمالدئید ۳۷٪ ، ۱۵ میلی‌لیتر سود ۱۵درصد) قرار داده شد و تا زمان ظاهرشدن باندها به آرامی تکان داده شد و سپس به مدت ۱۰ دقیقه در محلول متوقف-کننده قرار گرفت (کربنات سدیم ۰/۷۵ درصد). در نهایت ژل بعد از خشک شدن نسبی با لایه نایلونی نازک پوشانده شد تا زمان عکسبرداری در دمای اتاق نگهداری شد. تصویر ژلهای اخذ شده توسط نرم‌افزار oneDscan برای تعیین ژنوتیپ دامها استفاده شد.

در روشRFLP، با استفاده از آغازگرهای طراحی شده (جدول ۱) و ۱۰۰ نانوگرم DNA استخراج شده در یک واکنش ۲۰ میکرولیتری قطعه ۲۷۹ جفت‌بازی با مراحل ذکر شده در روش SSCP برای واکنش زنجیره-ای پلیمراز تکثیر شد.

مقدار۱۰ میکرولیتر از هر محصول PCR در دو واکنش جداگانه تحت برش آنزیمی با آندونوکلئازهای *Hae*III (5'-gg↓cc-3') و *Taq*I (5'-t↓cga-3') قرار گرفتند. شرایط برش به مدت ۱۶ ساعت برای هر آنزیم در دماهای ۳۷ درجه‌سانتیگراد برای *Hae*III و ۶۵ درجه سانتیگراد برای *Taq*I بود. قطعات برش خورده توسط این آنزیمها بر روی ژل ۱/۵ درصد آگارز تفکیک و با اتیدیوم بروماید رنگ‌آمیزی شدند.

## نتایج و بحث

در این پژوهش تعداد ۸۰ راس حیوان از گله پرورش بز مرخز واقع در سنندج بطور تصادفی انتخاب شد. با توجه به گزارش فائو (۲۰۰۴) تعداد دام مورد نیاز برای بررسی جند شکلی یک گله بز مابین ۱۱ تا ۱۱۰ دام ذکر شده است، بنابراین انتخاب ۸۰ راس دام به منظور بررسی جند شکلی در گله موردنظر در حد مطلوبی بود.

نمونه‌ها با روش PCR-RFLP و با استفاده از دو آنزیم *Hae*III و*Taq*I مورد ارزیابی قرار گرفتند. ناحیه تکثیر شده از نظر ساختاری واجد توالیهای برش برای آنزیمهای *Hae*III و *Taq*I بودند که بترتیب بایستی آللهای E وK را از سایر آللهای موجود متمایز می-نمودند. جداول ۲ طولهای قطعات ژنوتیپهای مختلف مورد انتظار توسط دو آنزیم استفاده شده را نشان می-دهد. در جدول فوق N به‌معنی سایر آللها بغیر از آلل مورد نظر می‌باشد. با توجه به برشهائی که انجام شد آللهای K وE در این جمعیت مشاهده نشدند. شکل ۱ نشان دهنده نتایج الکتروفورز بعد از برشهای آنزیمی می‌باشد. لازم بذکر است قطعه ۶۰ جفت‌بازی حاصل شده از برش آنزیمی توسط آنزیم *Hae*III به دلیل کوچکی اندازه و حرکت سریع از ژل خارج شده و در شکل مربوطه قابل مشاهده نمی‌باشد. با توجه به گزارشات موجود تعداد ۱۶ آلل مختلف در قطعه تحت تکثیر شده قابل شناسائی می‌باشد و بنابراین برای

www.SID.ir

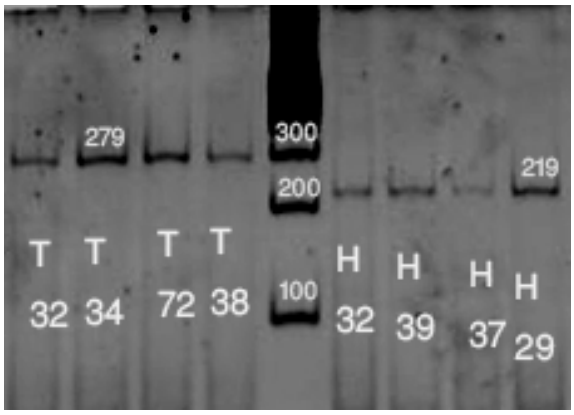
Archive of SID



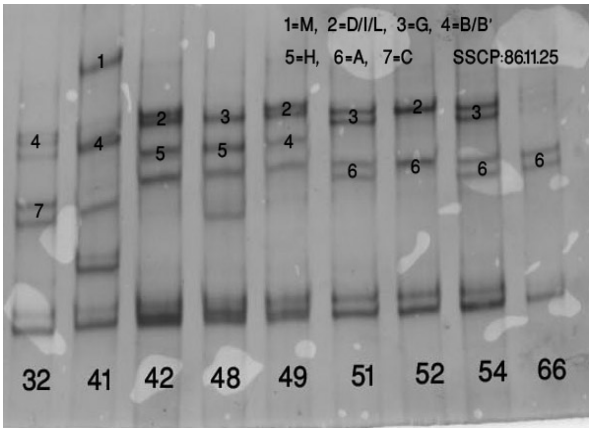
شناسایی کل این آللها حداقل ۱۵ آنزیم مورد نیاز می باشد. این الزام، روش PCR-RFLP را وقتگیر و پرهزینه نموده است.

**جدول ۲- اندازه قطعات مختلف حاصل از برش با آنزیمهای مورد استفاده**

| آنزیم *Hae*III | | آنزیم *TaqI* | |
|---|---|---|---|
| ژنوتیپ | اندازه قطعات | ژنوتیپ | اندازه قطعات |
| KK | ۲۹-۲۵۰ | EE | ۶۰-۵۰-۱۶۹ |
| KN | ۲۹-۲۵۰-۲۷۹ | EN | ۶۰-۵۰-۱۶۹-۲۱۹ |
| NN | ۲۷۹ | NN | ۶۰-۲۱۹ |




**شکل ۱- الگوهای نواری فراورده‌هایحاصل ار برش توسط دو آنزیم *HaeIII* (H) و*TaqI* (T) در روش PCR-RFLP.**




**شکل ۲- الگوی نواری آللهای مختلف قابل تشخیص در روش PCR-SSCP.**

استانکوا و همکاران (۲۰۰۵) که مطالعات مشابهی را در دو نژاد بز لهستانی انجام دادند جایگاه ژنی کاپاکازئین چند شکلی فراوانی را نشان داد بطوریکه فراوانی آللهای A، B وC بترتیب ۰/۱۵، ۰/۸۰و۰/۰۵ در نژاد بز شیری سفید موی کوتاه و ۰/۵۲، ۰/۴۰ و ۰/۰۸ در نژاد سیاه بود. رئال و همکاران (۲۰۰۵) با مطالعه‌ای

www.SID.ir

Archive of SID



که بر روی ۱۷۰ حیوان از شش نژاد بز جنوب ایتالیا انجام دادند گزارش نمودند که آللهای A وB در همه نژادها دارای بیشترین فراوانی، آلل D در دو نژاد با فراوانی بسیار کم در صورتی که آلل G در همه نژادها مشاهده شد. آللهای C، E وF در هیچ کدام از نژادهای تحت بررسی یافت نشد. نتایج حاصل از این آزمایش نیز فقدان آلل E را در جمعیت تحت بررسی نشان داد. بنابراین کاربرد روش PCR-RFLP برای تشخیص جهش های جدید زمانی عملی می‌باشد که این جهش ها حداقل یک جایگاه برشی بوجود بیاورند.

تکنیک PCR-SSCP در مقایسه با PCR-RFLP نیازمند آنزیمهای گرانقیمت نمی‌باشد، لذا هزینه ژنوتیپ-یابی به مقدار قابل توجهی کاهش می‌یابد. و از طرفی SSCP تحت تاثیر نوع جانشینی نوکلئوتیدی واقع نمی شود تشخیص جهش های انجام یافته راحتر انجام می شود (شیفیلد و همکاران ۱۹۹۳ و باروسو و همکاران ۱۹۹۸). از این رو با توجه به عدم مشاهده چند شکلی در RFLP، به منظور تعیین جند شکلی در این جایگاه از SSCP نیز استفاده شد.

برای محاسبه توزیع موقعیتهای چند شکلی ژن کاپاکازئین توسط روش SSCP، قطعه‌ای ۴۰۷ جفت-بازی واقع در اگزون ۴ مورد ارزیابی قرار گرفت. در ژلهای حاصله از SSCP، DNA به شکل تک رشته‌ای مهاجرت می‌نماید می‌آید و هر آلل از دو باند نزدیک بهم تشکیل یافته است،. بنابراین باندهای دوتائی هموزیگوت و چهار باندیها هتروزیگوت می باشند (چسا و همکاران ۲۰۰۳، پرینزنبرگ و همکاران ۲۰۰۵).

با آنالیز تصاویر حاصله از اسکن ژلها ۱۳ نوع آلل متفاوت (B/B'، A، G، C'، J، M، C، H، D/I/L و B") از ۱۶ (B/B'، A، G، C'، J، M، C، K، E، F، H،B"، D/I/L) آللی که تاکنون شناسائی و در بزهای اهلی گزارش شده در نژاد بز مرخز مشاهده شد. آللB با آلل'B و آللهای D، I، K و L با همدیگر باند واحدی را در روی ژل تشکیل می‌داد. بنابراین تفکیک آنها فقط توسط روش SSCP ممکن نبوده و تنها استفاده از آنزیم های محدودگر خاص و یا تعیین توالی ممکن می-باشد.

فراوانی آللهای یافت شده توسط این تکنیک در جدول ۳ نشان داده شده است. بیشترین فراوانی مربوط به آللA (۰/۴۰۱) و سپس مربوط به آللهای 'C و B'/B با فراوانیهای ۰/۱۲۵ و کمترین فراوانی نیز مربوط به آلل H با فراوانی ۰/۸۰۱ بود و هیچ الگوی جدیدی در SSCP مازاد بر الگوهای معرفی شده در بررسیهای قبلی مشاهده نشد.

با توجه به مشاهده ۱۳ آلل مختلف در این جمعیت، وجود انواع متنوعی از ژنوتیپها مورد انتظار بود. ژنوتیپ AG با ۷ تکرار دارای بالاترین فراوانی بود. در صورتیکه ژنوتیپهای C'J، B/B' C، JC، JJ، GJ، HH،J B/B' GC هر کدام با یک تکرار کمترین فراوانیها را بخود اختصاص داده‌اند. برای اطمینان بیشتر از فراوانی آللهای شناسائی شده تکرار آزمایش با تعداد بیشتری افراد و در صورت ممکن تعیین ترتیب نوکلئوتیدی ناحیه اگزون ۴ ژن کاپاکازئین لازم می‌باشد. بررسی تنوع بخش کوچکی از زن کاپاکازئین حاکی از آنست که بز نژاد مرخز دارای چندین آلل با فراوانی بالا در این ناحیه می باشد.

**جدول ۳- فراوانی آللی برای الگوی باندهای حاصله در SSCP**

| آلل | B" | A | G | C' | J | M | H | C | D/I/L | B/B' |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| فراوانی | ۰/۰۴۵ | ۰/۴۰۱ | ۰/۱۲۵ | ۰/۰۲۷ | ۰/۰۸۰ | ۰/۰۴۵ | ۰/۰۱۸ | ۰/۰۷۱ | ۰/۰۶۳ | ۰/۱۲۵ |

www.SID.ir

Archive of SID



بونیفاسیو و همکاران (۲۰۰۱) با انجام مطالعه‌ای بر روی بز بومی پرتقالی با استفاده از روش PCR-SSCP دو آلل A و B را با فراوانی هایی به ترتیب ۰/۷۵ و ۰/۲۵ گزارش نمودند. در واقع با توجه به کوچک بودن اندازه مؤثر جمعیت مورد استفاده توصیه می شود تا با استفاده از نشانگرهای با چند شکلی بالا شده مطالعات تکمیلی تر در این جمعیت انجام شود تا علاوه بر تعیین میزان تنوع موجود در جمعیت، با تعیین میزان تنگنای ژنتیکی نسبت به حفظ این ذخیره بارزش ژنتیکی در کشور کمک کرد. توصیه می شود با بررسی سایر قسمتهای این ژن مهم نسبت به مطالعه تغییرات موجود در کل این ژن نیز اقدام شود. از طرفی تکنیک SSCP همراه با رنگ‌آمیزی نقره با اینکه روش موثری در یافتن جهش های نقطه ای می‌باشد ولی از نظر تشخیص همزمان تعداد زیاد آللها دارای محدودیت می باشد. استفاده همزمان از RFLP وSSCP می تواند منجر به نتایج دقیق تری شود.

**تشکر و قدردانی**

بدینوسیله از آقایان دکتر حریقی مدیر گروه گیاهپزشکی و دکتر کمانگیر استاد گروه شیلات دانشکده کشاورزی دانشگاه کردستان بدلیل در اختیار نهادن تجهیزات آزمایشگاهی سپاسگزاری می‌شود.

**منابع مورد استفاده**

Angiolillo A, Yahyaoui MH, Sanchez A, Pilla F and Folch JM, 2002. Characterization of a New Genetic Variant in the Caprine k-casein gene. J Dairy Sci 85:2679-2680.

Barroso A, Dunner S and Canon J, 1998. Detection of bovine kappa-casein variants a, b, c, and e by means of polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism. J Anim Sci 76: 1535-1538.

Biase FH, Del A, Garnero V,. Bezerra LAF, Rosa AJM, Lobo RB and Martelli L, 2005. Analysis of restriction fragment length polymorphism in the kappa-casein gene related to weight expected progeny difference in Nellore cattle. Gene Molecular Biol 28: 84-87.

Bonifacio C, Santos IC, Belo C and Cravador A, 2001. Single-strand conformation polymorphism analysis of αs1-casein, β-casein and κ-casein genes in charnequeira Portuguese indigenous goat breed. Archivos de Zootecnia 50:105-111.

Caroli A, Jann O, Budelli E, Bolla P, Jager S and Erhardt G, 2001. Genetic polymorphism of goat κ-casein (CSN3) in different breeds and characterization at DNA level. Anim Genet 32: 226-230.

Chen H, Lan XY, Lei CZ, Pan CY, Zhang RF, Zhang YD and Li RB, 2006**.** Association of CSN3 and CSNS2 genes with litter size in Chinese Xinong Saanen dairy goat. 8th world congress on genetics applied to livestock production. Horizonte, M, Brazil.

Chessa S, Budelli E, Gutscher K, Caroli A and Erhardt G, 2003. Short communication: Simultaneous identification of five κ-casein (CSN3) alleles in domestic goat by polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism. J Dairy Sci 86:3726-3729.

Di luccia A, Mauriell OR, Chianese L, Moio L and Addeo F, 1990. Kappa casein polymorphism in Caprine milk. Scienza e Tecnica Lattiero-casearia 41:305-314.

Anonymous, 2004. Measurement of domestic animal diversity. A review of recent diversity.FAO-commission on genetic resources for food and agriculture, working group on animal genetic resources for food and agriculture, Third session, Rome.

Kaminski S, Cieoelinska A and Kostyra E, 2007. Polymorphism of bovine beta-casein and its potential effect on human health. J Appli Genet 48: 189-198.

www.SID.ir

Archive of SID



Mercier JC, Addeo F and Pelissier JP, 1976a. Structure primaire du case inomacropeptide de la caseine kappa Caprine. Biochimie 58: 1303-1310.

Mercier JC, Chobert JM and Addeo F, 1976b. Comparative study of the amino acid sequences of the caseinomacropeptides from seven species. FEBS Letters 72: 208-214.

Miller SA, Dykes DD. and Polesky HF, 1988. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic Acids Res 16:1215.

Orita M, Suzuki Y, Sekiya T and Hayashi K, 1989. Rapid and sensitive detection of point mutations and DNA polymorphisms using the polymerase chain reaction. Genomics 5:874-879.

Otaviano AR, Tonhati H, Desiderio Sena JA and Cern Muoz MF, 2005. Kappa-casein gene study with molecular markers in female Buffaloes. Genetics Mol Biol 28: 237-241.

Prinzenberg EM, Gutscher K, Chessa S, Caroli A and Erhardt G, 2005. Caprine κ-casein polymorphism: New developments in molecular knowledge. J Dairy Sci 88: 1490-1498.

Rashidi A, Ramazanian M, and Vaez torshizi R, 2006. Genetic parameter estimates for growth traits and fleece weight in Markhoz goats. 8th world congress on genetics applied to livestock production. Augus Horizonte, M, Brasil.

Reale S, Yahyaoui MH, Folch JM, Sanchez A, Pilla F and Angiolillo A, 2005. Genetic polymorphism of the k-casein gene in goats reared in Southern Italy. J Anim Sci 4: 97-101.

Semagn K, Bjornstad A and Ndjiondjop MN, 2006. An overview of molecular marker methods for plants. Africa Biotechnol 5: 2540-2568.

Sheffield VC, Beck JS, Kwitek AE, Sandstrom DW and Stone EM, 1993. The sensitivity of single-strand conformation polymorphism for the detection of single base substitutions. Genomics 16: 325-332.

Sztankoova Z, Senese C, Czernekova V, Dudkova G, Kott T, Matlova V and Soldat J, 2005. Genomic analysis of the CSN2 and CSN3 loci in two Czech goat breeds. Anim Sci Papers and Reports 23:67-70.

Ward TJ, Honeycutt RL and Derr JN, 1997. Nucleotide sequence evolution at the casein locus: Evidence for positive selection within the family Bovidae. Genetics 147:1863-1872.

Yahyaoui MH, Angiolillo A, Pilla F, Sanchez A and Folch JM, 2003. Characterization and genotyping of the Caprine κ-casein variants. J Dairy Sci 86:2715-2720.

www.SID.ir