دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشهای تولیدات دامی

بررسی چند شکلی اگزون ۴ ژن هورمون رشد و ارتباط آن با صفات رشد در گوسفندان نژاد کرمانی با روش PCR-SSCP

اکبر اسدی[۱]، حسین مرادی شهربابک[۲]، پرویز عزیزی[۳]، سعیده الهیان[۳] و سعید عباسی[۳]

۱- مربی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهربابک
۲- استادیار، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، (نویسنده مسوول: hmoradis@ut.ac.ir)
۳- دانش آموخته کارشناسی ارشد، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران
تاریخ دریافت: ۹۱/۱۱/۱۴ تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۰/۳

چکیده

در این مطالعه، از تعداد ۱۰۹ رأس گوسفند کرمانی مربوط به ایستگاه اصلاح نژاد گوسفند کرمانی (شهر بابک)، از سیاهرگ گردن خونگیری به‌عمل آمد و استخراج DNA به روش نمکی بهینه‌یافته و واکنش‌های زنجیره‌ای پلیمراز جهت تکثیر یک قطعه ۲۱۴ جفت بازی از اگزون ۴ ژن هورمون رشد انجام گرفت. از چندشکلی فضایی تک‌رشته‌های DNA (SSCP) برای تعیین ژنوتیپ نمونه‌ها، استفاده شد الکتروفورز عمودی نمونه‌ها روی ژل اکریل‌آمید ۱۲٪ به مدت ۱۷ ساعت و با اختلاف پتانسیل ۳۰۰ ولت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. رنگ‌آمیزی ژل به روش نیترات‌نقره انجام شد که در نتیجه آن الگوهای ژنوتیپی ۳،۲،۱ به‌ترتیب با فراوانی ۲۰/۱۸٪، ۳۵/۷۷٪ و ۴۴/۰۳٪ مشاهده شد. آنالیز واریانس صفات با نرم‌افزار SAS انجام گرفت. ارتباط الگوهای متفاوت ژنتیکی با صفات رشد (وزن تولد، وزن ۳ ماهگی، وزن ۶ ماهگی، وزن ۹ ماهگی و وزن ۱۲ ماهگی) معنی‌دار نبودند.

واژه‌های کلیدی: صفات رشد، هورمون رشد، چندشکلی، PCR-SSCP، گوسفند کرمانی

مقدمه

بسیاری از صفات اقتصادی که دربرگیرنده صفات تولیدی هستند از جمله صفات رشد، تحت کنترل تعداد زیادی ژن قرار دارند که به دنبال آن تعیین چندشکلی ژن‌های کاندیدای موثر بر صفات تولیدی و شناسایی آلل‌ها و ژنوتیپ‌های مطلوب برای صفات مورد نظر می‌تواند زمینه را برای انتخاب به کمک نشانگر فراهم کند (۶). در روش‌های پویش ژنومی برای ثبت ژنوتیپی جمعیت حاصل از آمیخته‌گری، زمان زیادی صرف می‌شود. استراتژی دیگری توسط تعداد زیادی از پژوهش‌گران برای نقشه‌یابی QTLها به کار گرفته شده است که روش ژن کاندیدا نامیده می‌شود. ژن‌های کاندیدا عبارتند از ژن‌های توالی‌یابی شده‌ای که فعالیت بیولوژیکی آنها شناخته شده است و در تکامل یا فیزیولوژی صفت مورد نظر دخالت دارند. مزیت اصلی روش ژن کاندیدا این است که در هر جمعیت دارای ثبت فنوتیپی صفات، به‌ویژه در گونه‌هائی که فاصله نسلی طولانی و تعداد فرزندان کمتری دارند، این روش کاربردی‌تر خواهد بود. با توجه به اینکه در این روش از شمار اندکی ژن استفاده می‌شود، هزینه‌ی پژوهش‌ها با این روش به مراتب کمتر از روش پویش ژنومی است (۱۴). هورمون رشد پلی پپتیدی تک زنجیره‌ای با وزن مولکولی ۲۲ کیلو دالتون دارای ۵ اگزون و ۴ اینترون است و چندشکلی‌های متعددی در اینترون ۳ و اگزون ۵ آن گزارش شده‌است (۵). هورمون رشد تنظیم‌کننده اصلی رشد و متابولیسم در پستانداران است، بنابراین بر سرعت رشد، ترکیبات بدن، سلامتی، تولید شیر و پیری از طریق تعدیل در بیان ژن‌های متعدد موثر است (۱). ترشح هورمون رشد توسط دو هورمون پپتیدی هیپوتالاموس یعنی فاکتور آزادکننده هورمون رشد یا سوماتوتروپین و فاکتور بازدارنده یا سوماتواستاتین کنترل می‌شود (۵). هورمون رشد دارای دو اثر فیزیولوژیک مستقیم و غیرمستقیم است. اثرات مستقیم نتیجه اتصال هورمون رشد به گیرنده‌هایش در سلول‌های هدف می‌باشد. برای مثال سلول‌های چربی حاوی این گیرنده‌ها هستند و هورمون رشد این گیرنده‌ها را برای تجزیه تری‌گلیسریدها تحریک می‌کند و مانع از جذب شدن لیپیدها در روده و تجمع آنها در خون می‌شود. اثرات غیرمستقیم نیز به وسیله فاکتور رشد شبه انسولین، IGF-I کنترل می‌شود. IGF-I هورمونی است که توسط کبد و سایر بافت‌ها در پاسخ به هورمون رشد ترشح می‌شود. تحریک رشد توسط هورمون رشد، به دلیل اعمال IGF-I در سلول‌های هدف است (۵). اثرات متابولیکی هورمون رشد شامل متابولیسم پروتئین‌ها و چربی‌ها است. هورمون رشد متابولیسم پروتئین‌ها را تحریک می‌کند و سبب افزایش جذب اسید آمینه و ساخت پروتئین و کاهش اکسیداسیون پروتئینی می‌شود. همچنین هورمون رشد باعث افزایش تجزیه تری‌گلسیریدها و اکسیداسیون در سلول‌های چربی در صورت تعادل منفی انرژی و ساخت

Archive of SID

www.SID.ir

لیپیدها در صورت تعادل مثبت انرژی و هیپوتروفی سلول‌های چربی می‌شود (۸). گوسفند یکی از مهم‌ترین منابع تامین پروتئین حیوانی در دنیا و به‌ویژه در ایران است. در ایران با توجه به اقلیم‌ها و شرایط گوناگون آب و هوایی، ۲۸ نژاد گوسفند که هر یک به شرایط اقلیمی خود سازگاری یافته‌اند وجود دارد که بیش از ۳۷ درصد از گوشت قرمز کشور را تامین می‌کنند (۱۳). نژاد کرمانی یکی از نژادهای سازگار با شرایط آب و هوایی گرم و خشک است و علاوه بر این که به جز گوشت در تولید پشم برای صنعت فرش ایران نیز از اهمیت به‌سزایی برخوردار است (۱۳). در یک مطالعه که توسط کاتو و همکاران (۱۲) انجام شد اثر متقابل چندشکلی‌های ژن هورمون رشد با وزن بدن و میزان عملکرد غدد درون‌ریز در گاوهای سیاه ژاپنی در سن ۱۰ ماهگی ارزیابی شد. میانگین وزن بدن برای ژنوتیپ BB به طور معنی‌داری (P=۰/۰۰۰۱۷) کمتر از ژنوتیپ‌های AA و AB بود. غلظت‌های انسولین و IGF-I پلاسما برای ژنوتیپ AA بیشتر از ژنوتیپ‌های BB و AB گزارش شده است. چیکونی و همکاران (۷) مشخص کردند که در مکان‌های ۱۲۷ و ۱۷۲ اگزون ۵ ژن هورمون رشد گاوی چندین SNP وجود دارد، در حالت هموزیگوت جهش موجود در مکان ۱۲۷ اسیدآمینه لوسین را برای ژنوتیپ AA و اسیدآمینه والین را برای ژنوتیپ BB کد می‌کند. یک SNP دیگر که در مکان ۱۷۲ مشاهده شده است ترئونین را جایگزین متیونین می‌نماید. این جهش‌ها هم در در گاوهای سیاه ژاپنی و هم در گاوهای آنگوس گزارش شده‌است (۹). گزارش شده است که در گاوهای سیاه ژاپنی حیوانات با آلل A وزن بدن بالاتر و سرعت رشد روزانه بالاتر اما امتیاز کمتری برای چربی ماربلینگ دارند، اما حیوانات دارای الل B امتیاز بالاتری را برای چربی ماربلینگ دارا می‌باشند (۱۹). هدف از انجام این مطالعه، بررسی چندشکلی اگزون ۴ ژن GH و ارتباط این چندشکلی‌ها با صفات رشد در گوسفند نژاد کرمانی بوده است.

مواد و روش‌ها

خون‌گیری و استخراج DNA

در این مطالعه از ۱۰۹ رأس گوسفند نژاد کرمانی واقع در ایستگاه اصلاح نژاد گوسفند کرمانی (شهر بابک) با استفاده از ونوجکت‌های حاوی به EDTA از سیاهرگ گردنی خون‌گیری شد. استخراج DNA از ۲۵۰ میکرولیتر خون کامل به روش بهینه‌یافته نمکی انجام گرفت (۱۵). کمیت و کیفیت DNA استخراج‌شده با استفاده از الکتروفورز روی ژل آگارز ۲ درصد و نیز روش اسپکتروفتومتری با دستگاه نانودراپ اندازه‌گیری شد.

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR)

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز جهت تکثیر یک قطعه ۲۱۴ جفت بازی از اگزون ۴ ژن هورمون رشد انجام گرفت. آغازگرهای اختصاصی رفت:

F: 5′-CCACCAACCACCCATCTGCC3′ و برگشت R: 5′-GAAGGGACCCAAGAACGCC -3′ که جهت تکثیر مورد استفاده قرار گرفتند، توسط باستوس و همکاران (۳) طراحی و معرفی و توسط شرکت سیناژن ساخته شدند. برنامه دمایی و زمانی ذکر شده در جدول ۱ شرایط بهینه برای تکثیر اگزون چهار GH را نشان می‌دهد. واکنش PCR برای جایگاه ژن هورمون رشد، در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۵۰ نانوگرم DNA ژنومی، بافر ۱X، ۰/۵ میکرومولار از هر پرایمر، ۰/۲ میلی‌مولار از هر dNTP، ۲/۵ میلی‌مولار $MgCl_2$، یک واحد آنزیم تک‌پلیمراز و آب دیونیزه انجام شد. برای تکثیر جایگاه ژن GH از دستگاه ترموسایکلر مدل FTGRAD2D شرکت TECHNE استفاده شد. پس از انجام واکنش PCR برای اطمینان از صحت تکثیر و تعیین میزان DNA تکثیر شده، الکتروفورز محصولات PCR روی ژل آگارز ۲ درصد انجام شد. برنامه دمایی و زمانی برای تکثیر ژن گیرنده هورمون رشد با ۳۵ چرخه شامل دمای واسرشت‌سازی اولیه ۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت پنج دقیقه، دمای واسرشت ۹۵ درجه سانتی‌گراد در ۳۰ ثانیه، اتصال پرایمرها در ۵۶ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه ، بسط در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و تکثیر نهایی ۷۲در درجه سانتی‌گراد به مدت پنج دقیقه.

تعیین ژنوتیپ محصولات PCR به روش چندشکلی فضایی تک رشته‌ها (SSCP)

تعیین ژنوتیپ نمونه‌ها به روش PCR-SSCP با استفاده از الکتروفورز عمودی روی ژل پلی‌اکریل‌آمید و رنگ‌آمیزی با نیترات نقره انجام گرفت. بنابراین ۲۰ میکرولیتر بافر بارگذاری مخصوص SSCP (شامل فرمامید ۹۹٪، EDTA ۶ مولار، برموفنل و زینول‌سیانید ۰/۱٪) با ۵ میکرولیتر محصول PCR مخلوط و ورتکس شد و سپس در دستگاه ترموسایکلر به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۹۶ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شد تا رشته‌های DNA واسرشت شوند. نمونه‌های واسرشت‌شده به مدت ۱۰ دقیقه روی یخ قرار گرفتند تا از پیوند دوباره رشته‌های مکمل جلوگیری شود. برای مشاهده الگوهای باندی از تانک الکتروفورز عمودی شرکت Bio Rad با صفحات شیشه‌ای به ابعاد ۰/۱ × ۲۰ × ۱۸ سانتی‌متر و ژل اکریل‌آمید ۱۲ درصد استفاده شد. به این ترتیب که مخلوط محصول PCR و بافر بارگذاری مخصوص SSCP درون چاهک‌های ژل بارگذاری شدند. سپس الکتروفورز نمونه‌ها به مدت ۱۷ ساعت و با اختلاف پتانسیل ۳۰۰

Archive of SID

www.SID.ir

ولت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و با بافر TBE (۰/۵X) و رنگ‌آمیزی ژل جهت مشاهده الگوهای باندی به‌روش نیترات‌نقره انجام گرفت (۲).

تجزیه آماری

پس از تعیین ژنوتیپ دام‌ها برای جایگاه مورد بررسی این اطلاعات به همراه داده‌های مربوط به وزن تولد، وزن از شیرگیری، وزن شش ماهگی، وزن نه ماهگی، وزن یک سالگی، سال تولد حیوان، ماه تولد حیوان، تعداد بره متولد شده در هر زایش، جنس حیوان و الگوهای ژنوتیپی وارد نرم‌افزار Excel و پس از ویرایش وارد برنامه SAS شده و با رویه MIXED تجزیه شدند. در این آزمایش اثر الگوهای باندی برای اگزون شماره چهار ژن GH به‌عنوان عامل ثابت در مدل قرار داده شدند. سایر عوامل ثابت شامل سال تولد حیوان، ماه تولد حیوان، تعداد بره متولد شده در هر زایش و جنس حیوان بود. همچنین وزن حیوان در هنگام تولد، وزن سه ماهگی، وزن شش ماهگی و وزن نه ماهگی به‌ترتیب برای وزن سه ماهگی، وزن شش ماهگی، وزن نه ماهگی و وزن یک سالگی به‌عنوان عامل همبسته و اثر حیوان به‌عنوان عامل تصادفی در مدل قرار داده شدند. معادله مدل به شکل زیر بود:

$$y_{ijklmno}= \mu+Ye_i+M_j+S_k+A_l+G_m+b(W_o-\overline{W})+Animal_o+e_{ijklmno}$$

$y_{ijklmno}$: هر یک از مشاهدات مربوط به وزن تولد، وزن سه ماهگی، وزن شش ماهگی، وزن نه ماهگی و وزن یک سالگی.

μ: میانگین صفت در جامعه

Ye_i: اثر iامین سال تولد حیوان

M_j: اثرjامین ماه تولد حیوان

S_k: اثر kامین تعداد بره متولد شده در هر زایش

A_l: اثر lامین جنس حیوان

P_m: اثر mامین الگوی باندی دیده شده (GH)

b: ضریب تابعیت Y از W

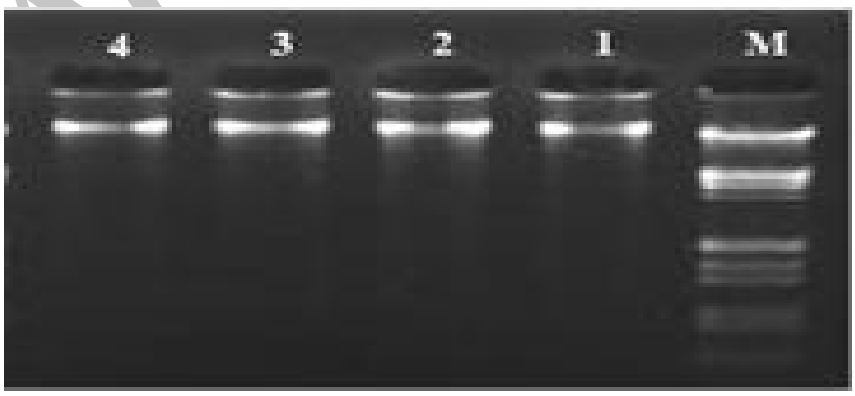
$\overline{W}$ و W_o به‌ترتیب میانگین وزن و وزن nامین حیوان (وزن تولد به‌عنوان عامل همبسته برای صفت وزن سه ماهگی، وزن سه ماهگی به‌عنوان عامل همبسته برای صفت وزن شش ماهگی، وزن شش ماهگی به‌عنوان عامل همبسته برای صفت وزن نه ماهگی و وزن نه ماهگی به‌عنوان عامل همبسته برای صفت وزن یک سالگی)

$Animal_o$: اثر oامین حیوان

$e_{ijklmno}$: اثر تصادفی عوامل باقی‌مانده

نتایج و بحث

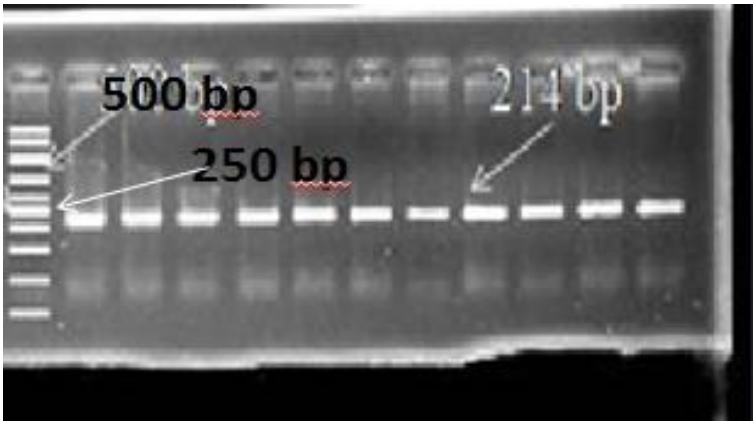
با استفاده از روش اسپکتوفتومتری و ژل آگارز ۱ درصد، کمیت و کیفیت DNA تکثیر شده تایید شد (شکل ۱). طی واکنش PCR قطعه ۲۱۴ جفت بازی ژن GH تکثیر شد (شکل ۲). در مرحله بعد از روش SSCP برای شناسایی تنوع در قطعه تکثیر شده استفاده شد. تکنیک SSCP روش موثری در شناسایی تنوع توالی تکثیر شده می‌باشد (۱۶). اساس این تکنیک مهاجرت DNA از میان ژل پلی اکریل‌آمید غیر دناتوره بر اساس اندازه و توالی آن می‌باشد. بنابراین وجود حتی یک جهش نقطه‌ای، با تفاوت حرکت روی ژل قابل مشاهده است (۳). نتایج حاصله از SSCP و رنگ‌آمیزی ژل پلی اکریل‌آمید بیانگر ۳ الگوی باندی متفاوت بود که در شکل ۳ مشاهده می‌شود. الگوهای باندی متفاوت حاکی از وجود تنوع در این جایگاه می‌باشد که فراوانی آنها محاسبه و برای الگوهای ۱ تا ۳ به ترتیب ۲۰/۱۸، ۳۵/۷۷ و ۴۴/۰۳ درصد بود.



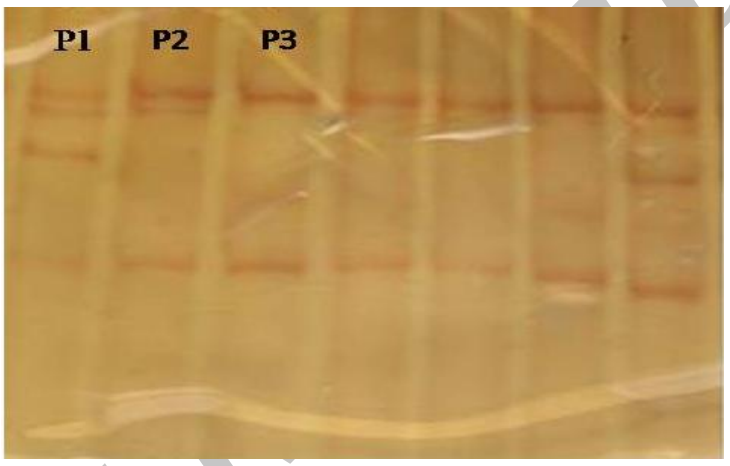
شکل ۱- نمونه‌های DNA روی ژل آگارز

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۲- تکثیر اختصاصی یک قطعه ۲۱۴ جفت بازی از اگزون ۴ ژن هورمون رشد در گوسفند نژاد کرمانی



شکل ۳- الگوهای باندی مشاهده شده برای اگزون ۴ ژن هورمون رشد با تکنیک SSCP در گوسفند نژاد کرمانی

جدول ۱- مقایسه حداقل مربعات (±SE) الگوهای مختلف اگزون ۴ ژن GH

ژنوتیپ	وزن تولد (kg)^{ns}	وزن از شیرگیری (kg)^{ns}	وزن ۶ ماهگی (kg)^{ns}	وزن ۹ماهگی (kg)^{ns}	وزن یک سالگی (kg)^{ns}
۱	۱/۱۴۹±۰/۰۱۲۲	۰/۰۳۳±۲/۸۹۴	۳/۰۱±۰/۰۳۸	۳/۰۶±۰/۰۲۷	۳/۱۲۷±۰/۰۲۸
۲	۱/۱۴۱±۰/۰۱۱۲	۰/۰۳±۲/۸۹۳	۲/۹۸±۰/۰۳۴	۳/۰۵±۰/۰۲۵	۳/۱۲±۰/۰۲۶
۳	۱/۱۴۴±۰/۰۱۱۵	۲/۸۹۳±۰/۰۳	۳/۰۲±۰/۰۳۵	۳/۰۸±۰/۰۲۵	۳/۰۸۵±۰/۰۲۸

بزهای بنگال نیز در اگزون ۴ ژن هورمون رشد، در کدون‌های ۶، ۳۶ و ۵۴ چندشکلی‌های گوناگونی نشان دادند. در کدون ۶ اسیدآمینه آرژنین تبدیل به هیستیدین و در کدون ۳۶ تبدیل اسیدآمینه‌ای آسپارتیک به والین رخ داد و در کدون ۵۴ نیز گلیسین به گلوتامیک اسید تبدیل شد. به‌نظر می‌رسد این جهش‌ها در افزایش وزن لاشه موثر باشند (۱۰). همچنین اثرات معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های حاصل از ژن هورمون رشد در گاوهای آمیخته کرولایس و زبو و وزن پایان دوره به‌دست آمد که اثرات مثبتی با تبدیل اسیدآمینه لوسین به والین داشت (۱۸). در پژوهشی که روی ۵۰ رأس بز نژاد بوئر انجام شد ۵ جایگزینی در ناحیه ۵' ژن هورمون رشد با استفاده از تکنیک PCR-RFLP نشان داد که ژنوتیپ AA به‌طور معنی‌داری نسبت به ژنوتیپ‌های BB و AB سبب افزایش وزن تولد و وزن پایان دوره می‌شود (۱۶). در یک مطالعه دیگر با شناسایی ۷ جهش در ناحیه اگزون ۴ و ۵ بزهای سیاه بنگال هیچ ارتباط آماری بین صفات رشد و ژنوتیپ‌های حاصل پیدا نشد که با نتایج این مطالعه همخوانی دارد (۱۰). هو و همکاران (۱۱) در ۱۵۴ راس از بزهای بوئر با استفاده تکنیک PCR-RFLP ارتباط بین ژنوتیپ‌های متفاوت و صفات

Archive of SID

www.SID.ir

رشد شامل وزن بدن، طول بدن، ارتفاع بدن، محیط سینه در هنگام تولد و از شیرگیری و وزن بدن در ۱۱ ماهگی را در ۲ جایگاه A781G و A1575G بررسی کردند که ژنوتیپ‌های حاصل از جایگاه اول AA و AB و در جایگـــاه دوم CC و CD بـــود. در جایـــگاه اول ژنوتیپ‌های AA و AB با محیط سینه ارتباط معنی‌داری داشت و همچنین ژنوتیپ AA با وزن تولد و ژنوتیپ AB نیز با وزن از شیرگیری ارتباط معنی‌داری از خود نشان داد و با بقیه صفات ارتباط آماری معنی‌داری مشاهده نشد. در جایگاه دوم ۲ ژنوتیپ CC و CD تنها با ارتفاع بدن در هنگام از شیرگیری ارتباط معنی‌داری نشان دادند و با بقیه صفات ارتباط معنی‌داری مشاهده نشد (۱۲). در ناحیه ۵' flanking ژن هورمون رشد در گاوهای آنگوس ۳ SNP مشخص نمودند که نشان‌دهنده وجود تنوع بالا در این بخش است. آنالیز آماری SNPهای موجود در ناحیه ۵' flanking هیچ ارتباط معنی‌داری را با صفات رشد و غلظتI -IGF سرم خون آشکار نکرد که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد (۹).

منابع

1. Akers , R. 2006. Major advances associated with hormone and growth factor regulation of mammary growth and lactation in dairy cows. Journal of dairy science, 89: 1222.
2. Bassam, B.J., G. Caetano-Anolles and P.M. Gresshoff. 1991. Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. Analytical biochemistry, 196: 80-83.
3. Bastos, E., A. Cravador, J. Azevedo and H. Guedes-Pinto. 2001. Single strand conformation polymorphism (SSCP) detection in six genes in Portuguese indigenous sheep breed" Churra da Terra Quente". BIOTECHNOLOGIE AGRONOMIE SOCIETE ET ENVIRONNEMENT 5: 7-16.
4. Bonifácio, C., I. Santos, C. Belo and A. Cravador. 2001. Single-Strand Conformation Polymorphism (SSCP) analysis of alfas1-casein, beta-casein and k-casein genes in Charnequeira Portuguese indigenous goat breed. 2001.
5. Burton, J.L., B.W. McBride, E. Block, D.R. Glimm and J.J. Kennelly. 1994. A review of bovine growth hormone. Canadian Journal of Animal Science, 74: 167-201.
6. Carrijo, S.M., M.M. Alencar, F.L.B. Toral and L.C.A. 2008. Regitano Association of PIT1 genotypes with growth traits in Canchim cattle. Scientia Agricola, 65: 116-121.
7. Chikuni, K., T. Nagatsuma, T. Tabata, M. Monma, M. Saito, S. Ozawa and K. Ozutsumi. 1994. Genetic variants of the growth hormone gene in Japanese cattle. Animal Science and Technology, 65.
8. Curi R., HN. Oliveira, A. Silveira and C. Lopes. 2005. Effects of polymorphic microsatellites in the regulatory region of IGF1 and GHR on growth and carcass traits in beef cattle. Animal genetics, 36: 58-62.
9. Ge, W., M. Davis, H. Hines, K. Irvin and R. Simmen. 2003. Association of single nucleotide polymorphisms in the growth hormone and growth hormone receptor genes with blood serum insulin-like growth factor I concentration and growth traits in Angus cattle. Journal of animal science, 81: 641-648.
10. Gupta, N., S. Ahlawat, D. Kumar, S. Gupta, A. Pandey and G. Malik. 2007. Single nucleotide polymorphism in growth hormone gene exon-4 and exon-5 using PCR-SSCP in Black Bengal goats-A prolific meat breed of India. Meat science, 76: 658-665.
11. Hua, G., S. Chen, J. Yu, K. Cai, C. Wu, Q. Li, C. Zhang, A. Liang, L. Han and L. Geng. 2009. Polymorphism of the growth hormone gene and its association with growth traits in Boer goat bucks. Meat science, 81: 391-395.
12. Katoh, K., S. Kouno, A. Okazaki, K. Suzuki and Y. Obara. 2008. Interaction of GH polymorphism with body weight and endocrine functions in Japanese black calves. Domestic Animal Endocrinology, 34: 25-30.
13. Khaldari, M. 2002. Sheep And Goat husbandry. Publications tehran university jihad organization.pp55.
14. Meadus, W.J. 1998. Molecular techniques used in the search for genetic determinants to improve meat quality. Canadian journal of animal science, 78: 483-492.
15. Miller, S., D. Dykes and H. Polesky. 1988. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic acids research, 16: 1215.
16. Min, L.J., M.Y. Li, G.Q. Sun, Q. Pan and H. Chen. 2005. [Relationship between polymorphism of growth hormone gene and production traits in goats]. Yi chuan xue bao= Acta genetica Sinica, 32: 650.
17. Orita, M., Y. Suzuki, T. Sekiya and K. Hayashi. 1989. Rapid and sensitive detection of point mutations and DNA polymorphisms using the polymerase chain reaction. Genomics, 5: 874.
18. Pereira, A.P., M.M. de Alencar, H.N. de Oliveira and L.C. de Almeida Regitano. 2005. Association of GH and IGF-1 polymorphisms with growth traits in a synthetic beef cattle breed. Genetics and Molecular Biology, 28: 230.
19. Sørensen, P., R. Grochowska, L. Holm, M. Henryon and P. Løvendahl. 2002. Polymorphism in the bovine growth hormone gene affects endocrine release in dairy calves. Journal of dairy science;85: 1887-1893.

Archive of SID

www.SID.ir

Investigation of Polymorphism in Exon 4 of GH Gene and Its Association with Growth Traits in Kermani Sheep using PCR- SSCP

Akbar Asadi[1], Hossein Moradi Shahrbabak[2], Parviz Azizi[3], Saeedeh Elahian[3] and Saeed Abassi[3]

1- Instructor, Islamic Azad University Shahrbabak Branch
2- Assistant Professor, University of Tehran, (Corresponding author: hmoradis@ut.ac.ir)
3- M.Sc., University of Tehran
Received: February 2, 2013 Accepted: December 24, 2013

Abstract

In this study, blood samples were collected from the jugular vein of 109 Kermani sheep from Kermani sheep breeding station. Genomic DNA was extracted from blood sample using modified salting out method and polymerase chain reactions were performed for amplification of 214 bp fragment containing a part of exon 4 of GH gene. Single Strand Conformation Polymorphism (SSCP) was used for genotyping**.** For this purpose, vertical electrophoresis of PCR products was performed on 12% acrylamide gel, at 300 V, for 17 h at 4 C˚. Silver-staining of gels, resulted three genotypic patterns of 1, 2 and 3 with frequencies of 20.18%, 35.77% and 44.03%, respectively. Analysis of variance was performed using SAS software. The results showed no significant association between the different patterns of GH gene and growth traits.

Keywords: Growth Traits, Growth Hormon, Polymorphism, PCR-SSCP , Kermani Sheep

Archive of SID

www.SID.ir