

ارتباط چندشکلی‌های ژن FASN با صفات تولیدی و تولیدمثلی در گاوهای هلستاین استان کرمان

- هاجر رضاخانی نژاد

دانش آموخته کارشناسی ارشد اصلاح نژاد دام، گروه علوم دامی، دانشگاه زابل

- غلامرضا داشاب (نویسنده مسئول)

دانشیار ژنتیک و اصلاح دام، گروه علوم دامی، دانشگاه زابل

- مهدی وفای واله

استادیار ژنتیک و اصلاح دام، گروه علوم دامی، دانشگاه زابل

تاریخ دریافت: بهمن ۱۳۹۶ تاریخ پذیرش: اسفند ۱۳۹۷

شماره تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۵۵۴۴۱۴۷۹

Email: dashab@uoz.ac.ir

شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/asj.2018.120376.1622

چکیده

اسید چرب سنتتاز (*FASN*)، یک پروتئین چندعاملی است که سنتز اسیدهای چرب را انجام می‌دهد، توسط ژن *FASN* رمزگذاری می‌شود و یکی از ژن‌های کاندیدای عمده شناخته شده است که نقش اصلی در بازسازی سنتز چربی‌ها در پستانداران ایفا می‌کند. این مطالعه به منظور شناسایی چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی (SNPs) ژن *FASN* و کاوش ارتباط آنها با سه صفت اقتصادی مهم شامل تولید شیر (M)، فاصله گوساله‌زایی (CI) و نرخ آبستنی (CR) در گاوهای هلستاین استان کرمان انجام شد. نمونه‌های خون کامل مربوط به ۳۸ رأس گاو شیری هلستاین با ارزش‌های اصلاحی برآورد شده بالا و پایین جمع‌آوری شد. DNA ژنومی از نمونه‌های خون گاو با استفاده از کیت استخراج DNA ژنومی بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده استخراج شد. مواد ژنتیکی برای تکثیر قطعه ژن انتخابی (به طول ۷۵۰ جفت باز از اگزون ۳۷ تا ۳۹) با واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز استفاده شد. متعاقباً تمام قطعات تکثیری مستقیماً برای توالی‌یابی استفاده شدند. در ادامه تجزیه توالی‌های هدف با رگرسیون چندگانه اثرات متوسط جایگزینی آللی بر صفات تولید شیر، فاصله گوساله‌زایی و نرخ آبستنی ۵۸ نشانگر SNP را نمایان ساخت که از بین آنها هشت SNPs به طور کلی با صفات تولیدی و تولید مثلی مرتبط بودند. تولید شیر، فاصله گوساله‌زایی و نرخ آبستنی به ترتیب با سه (g.16593A>G, g.16670C>A, g.16776C>T)، سه (g.16594A,C>G, g.16830G,C,T>A, g.16833A,T>G) و دو (g.16594A,C>G and g.16811A,T>G) SNPs ارتباط معنی‌دار داشتند ($P < 0.05$). ارتباط چندشکلی جایگاه ژن *FASN* با صفات می‌تواند به‌عنوان نشانگر مولکولی در تعیین شایستگی ژنتیکی دام‌ها و همچنین راهبردهای اصلاح نژادی در جمعیت گاوهای هلستاین مورد استفاده قرار گیرد.

Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 121 pp: 253-262

Association of polymorphisms of FASN gene with productive and reproductive traits in Iranian Holstein cows of Kerman province

By: Hagar Rezakhani nejad¹, Gholam Reza Dashab^{2*}, Mehdi Vafaye valleh³

1 .MS.c of Animal Breeding, Department of Animal science, University of Zabol.

2,3. Associate and Assistant of Professor of Animal Breeding and Genetic, Department of Animal science, University of Zabol.

Received: February 2018

Accepted: April 2018

Fatty acid synthase (*FASN*), a multifunctional protein that carries out the synthesis of fatty acids, is coded by *FASN* gene which is known as major candied gene and plays a central role in de novo lipogenesis in mammals. This study was conducted to detect single nucleotide polymorphisms (SNPs) of the *FASN* gene and explore their relationships with three economically important traits including milk production (M), calving interval (CI) and conception rate (CR) in Holstein cows of Kerman province. The whole blood samples corresponding to the 38 Holstein cows with high and low estimate breeding values were collected. Genomic DNA was extracted from blood samples of the cows using a genomic DNA kit according to the manufacturer's instructions. The genetic material was used for polymerase chain reaction amplification of selected gene fragments (750bp length from exon 37 to 39). All of PCR products were subsequently used directly for sequencing. Analysis of the target sequence followed by multiple regression of average allele substitution effects on M, CI, and CR traits revealed 58 SNP markers, among which 8 SNPs were totally associated with productive and reproductive traits. (M), (CI) and (CR) were affected by three (g.16593A>G, g.16670C>A and g.16776C>T), three (g.16524G,C,T>A, g.16830G,C,T>A, g.16833A,T>G) and two (g.16594A,C>G and g.16811A,T>G) SNPs respectively ($P<0.05$). Association between polymorphism in *FASN* gene and traits could be used as molecular markers for determination of animal's genetic potential as well as breeding strategies in Holstein population.

Key words: FASN gene, sequencing, polymorphism, Holstein cattle

مقدمه

یک آنزیم چندمنظوره (Fatty acid syntase) انجام می‌شود. این آنزیم سیتوزولی شکل‌گیری میریستیک، پالمیتیک و استتاریک اسید را از استیل کوآنزیم آ و مالونیل کوآنزیم آ در حضور NADH کاتالیز می‌کند (Smith و همکاران، ۲۰۰۳). پروتئین *FASN* پستانداران از ۲ پلی‌پپتید با وزن مولکولی مشابه تشکیل شده است که وزن مولکولی هر زیر واحد آن ۴۸۰۰۰۰ دالتون بعد از تفکیک با سولفات سدیم دودسیل است. *FASN* پستانداران علاوه بر این که آنزیم ضروری در سنتز اسیدهای چرب و هموستازی انرژی از طریق تبدیل مواد غذایی به چربی و تامین

گاوه‌های هلشتاین در سراسر جهان به‌عنوان گاوهای شیری ممتاز برای تولید شیر معرفی شده‌اند. در بین نژادهای شیری دنیا، بزرگ-ترین جمعیت گاوهای جهان را به خود اختصاص می‌دهند و بالاترین تولید فرآورده‌های لبنی را دارند. همچنین، جمعیت غالب گاوهای شیری ایران نیز هستند و بعد از این که تولید شیر آنها افزایش قابل توجهی یافته است، کیفیت شیر شامل چربی و پروتئین آن و همچنین افزایش بازده باروری مورد توجه محققین قرار گرفته است (بیگی نصیری، ۱۳۸۳؛ رضوی و همکاران، ۱۳۸۶). سنتز مجدد اسیدهای چرب در سیتوزول سلول‌های حیوانی توسط

مثلی در جمعیت گاوهای هلشتاین استان کرمان بود.

مواد و روش‌ها

این تحقیق روی جمعیت گاو هلشتاین استان کرمان انجام گرفت. بدین منظور از بین گله‌هایی که رکورد منظم تولید شیر داشتند، یک گله به تصادف انتخاب و ارزش اصلاحی دام‌ها بر پایه رکوردهای تولید شیر ۳۰۵ روز و چربی ۳ درصد تصحیح شده، با مدل دام و روش REML و نرم‌افزار DMU برآورد گردید. دام‌های بدون رکورد با رکورد کم، دام‌هایی که ارزش اصلاحی آنها از رکورد خویشاوندان دور برآورد شده بود و دام‌هایی که خطای پیش‌بینی ارزش اصلاحی آنها بیش از دو برابر میانگین خطای پیش‌بینی کل گله بودند، حذف و مابقی دام‌ها بر پایه ارزش‌های اصلاحی برآورد شده رتبه‌بندی شدند. در نهایت از بین دام‌هایی که در ۱۰ درصد بالایی (گروه پرتولید) و ۱۰ درصد پایین (گروه کم تولید) تولید شیر قرار داشتند به ترتیب تعداد ۲۰ و ۱۸ رأس گاو شیرده به تصادف انتخاب شدند. میانگین و انحراف معیار تولید شیر روزانه دام‌ها برحسب چربی ۳ درصد در گروه کم تولید به ترتیب برابر با ۹/۷ و ۲/۲ کیلوگرم و در گروه پرتولید به ترتیب برابر ۲۰/۲ و ۲/۵ کیلوگرم بودند. خونگیری از ۳۸ رأس گاو انتخابی در لوله‌های حاوی EDTA (۰/۵ درصد) از ورید دمی انجام گرفت و نمونه‌ها تا زمان استخراج در فریزر در دمای ۲۰- درجه نگهداری شدند. استخراج DNA با استفاده از کیت Asia Dnazist (محصول شرکت ماکروژن کره جنوبی) انجام گرفت. کمیت و کیفیت DNA استخراج شده به روش طیف سنجی با استفاده از دستگاه طیف‌سنج نوری (اسپکتوفتومتر) سنجیده شد. تکثیر بخشی از جایگاه ژنی *FASN* شامل نواحی اگزون ۳۷ تا ۳۹ جایگاه مذکور با استفاده از یک جفت آغازگرهای اختصاصی (پرایمرهای رفت و برگشت) انجام شد که با نرم‌افزار Primer Premier (Singh) و همکاران، ۱۹۹۸) طراحی گردید. ناحیه مورد مطالعه مکانی است که در مطالعات پیشین بیشترین تعداد جهش‌ها گزارش شده بود. ویژگی آغازگرهای اختصاصی مورد استفاده در جدول ۱ آورده شده است. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز برای تکثیر قطعه ۷۵۰ جفت بازی شامل ۳۵ چرخه بودند (جدول ۲). محصول واکنش زنجیره‌ای پلیمرز روی ژل آگارز ۱/۵ درصد الکتروفورز شد.

انرژی از طریق اکسیداسیون است، بلکه نقش مهم در توسعه جنین دارد (Chirala و همکاران، ۲۰۰۳). ژن *FASN* بر روی کروموزم ۱۹ گاو نقشه‌یابی شده است (Morris *et al.*, 2007). جایگاه ژن *FASN* در گاو شامل ۴۲ اگزون و ۴۱ اینترون است (Oztabak و همکاران، ۲۰۱۴)، که در آن QTL‌های تاثیرگذار بر مقدار چربی لاشه و مقدار چربی شیر گزارش شده است (Morris و همکاران، ۲۰۰۷).

جهش در ناحیه g.17924A>G با مقدار و ترکیب اسیدهای آمینه پروتئین شیر ارتباط معنی‌دار دارد (Ciecierska و همکاران، ۲۰۱۳). گزارش شده است تولید شیر در اولین شیردهی با ژنوتیپ‌های جایگاه *FASN* مرتبط هستند، به نحوی که گاوهای با ژنوتیپ AA نسبت به گاوهای با ژنوتیپ AG تولید شیر بیشتری داشتند و این تغییر در شیردهی‌های بعدی نیز مشاهده شد (Ciecierska و همکاران، ۲۰۱۳).

در تحقیقی بر روی شش نژاد مختلف گاو شامل گاو بومی کره (هانوو) و نژادهای لیموزین، انگوس، سیمتال، براهمن و گاوهای بنگلادشی پنج ناحیه چندشکلی شامل g.17924G>A، g.18043C>T، g.18440G>A، g.18529G>A و g.18663C>T در محدوده دامین^۱ انتهایی ژن *FASN* گزارش شد که از این میان دو جهش g.17924G>A و g.18663C>T صرفاً در جمعیت گاوهای هانوو بوده و جهش g.17924G>A یک جهش غیرمترادف است و ارتباط معنی‌داری با مقدار پالمیتیک و اولئیک اسید چربی لاشه دارد (Bhuiyan و همکاران، ۲۰۰۹). در بررسی دیگر در گاوهای هلشتاین-فریزین دانمارکی یک جهش در ناحیه g.17924G>A جایگاه ژن *FASN* مشاهده شد که اثر معنی-داری بر درصد چربی شیر داشت (Schennik و همکاران، ۲۰۰۹). شناسایی نشانگرهای ژنتیکی مرتبط با صفات تولید شیر یکی از مهم‌ترین اهداف مطالعات مکان‌یابی ژن‌ها (QTL) در دام‌ها است. با توجه به این که در جایگاه ژنی *FASN* در گاو جهش‌های تک نوکلئوتیدی متعددی مرتبط با مقدار چربی، ترکیبات اسید چرب و تولید شیر گزارش شده است (Roy و همکاران، ۲۰۰۶)، لذا هدف از مطالعه حاضر بررسی ارتباط چندشکلی‌های جایگاه ژنی *FASN* بر صفات تولید شیر و تولید-

¹ Domain

جدول ۱- توالی آغازگرهای مورد استفاده جهت تکثیر جایگاه ژن *FASN*

جایگاه ژنی	توالی پرایمرهای رفت و برگشت	اندازه (جفت باز)	دمای ذوب
<i>FASN</i>	5'-GTCTTCCGAGTCTGGTCT-3'	۷۵۰	۵۰/۳
	5'-TGAGCCGTGTCAAGGTC-3'		۵۱/۲

جدول ۲- برنامه‌ی گرمایی چرخه‌ی تکثیر جایگاه ژنی *FASN* در گاوهای هلشتاین

واکنش تکثیر	گامه واکنش	دما (درجه سانتی-گراد)	زمان
<i>FASN</i>	واسرشته سازی اولیه	۹۴	۱۰ دقیقه
	واسرشته سازی ثانویه	۹۴	۴۵ ثانیه
	اتصال	۶۳	۱ دقیقه
	بسط اولیه	۷۲	۱ دقیقه
	بسط نهایی	۷۲	۱۵ دقیقه
	نگهداری	۴	-

۳۵ چرخه

FASN

$$Y_{ij} = \mu +$$
 (مدل ۲)

$$M_1 + M_2 + \dots + M_n + e_{ij}$$

در مدل بالا Y_{ij} فاصله گوساله‌زایی بر حسب روز، M اثر ثابت ژنوتیپ‌های نشانگر، n تعداد جایگاه‌های چندشکل و e_{ij} خطاهای تصادفی هستند. اثر سن مادر و دوره شیردهی بر صفت فاصله گوساله‌زایی غیرمعنی‌دار بود، لذا از مدل حذف شدند. در نهایت برای آنالیز نرخ آبستنی یا تعداد تلقیح به ازای هر آبستنی از مدل Cumulative logit رویه Logistic نرم افزار SAS استفاده گردید. مدل آماری به شرح ذیل می‌باشد.

$$Y_{ijk} = \mu + L_i + D_j +$$
 (مدل ۳)

$$M_1 + M_2 + \dots + M_n + e_{ijk}$$

در مدل بالا Y_{ijk} نرخ آبستنی یا تعداد تلقیح به ازای هر آبستنی، L_i دوره شیرواری، D_j سن مادر در هنگام زایش، M اثر ثابت ژنوتیپ‌های نشانگر، n تعداد جایگاه‌های چندشکل و e_{ijk} خطاهای تصادفی هستند. جهت برآورد اثرات آلی در هر جایگاه

قطعات تکثیری حاصل از ۳۸ نمونه توسط شرکت بایونیر کره جنوبی توالی‌یابی شدند. سپس میزان همپوشانی توالی‌های به‌دست آمده با استفاده از نرم‌افزار Bio Edit (Hall, 1999) و ابزار BLAST در پایگاه NCBI^۲ سنجیده شد.

برای بررسی اثرات نواحی چندشکل بر صفت تولید شیر، در جمعیت مورد مطالعه، از رگرسیون چندگانه نشانگرها با مدل ۱ استفاده شد.

(مدل ۱)

$$Y_{ijk} = \mu + L_i + D_j + M_1 + M_2 + \dots + M_n + e_{ijk}$$

در مدل بالا Y_{ijk} مقدار تولید شیر ۳۰۵ روزه تصحیح شده بر اساس چربی ۳ درصد، L_i دوره شیرواری (شامل سه سطح اول، دوم و سوم)، D_j سن مادر در هنگام زایش، M اثر ثابت ژنوتیپ-های نشانگر، n تعداد جایگاه‌های چندشکل و e_{ijk} خطاهای تصادفی هستند. برای بررسی اثرات نشانگرهای چندشکل بر صفت فاصله گوساله‌زایی در جمعیت گاو هلشتاین از مدل ۲ استفاده شد.

² National Center for Biotechnology Information

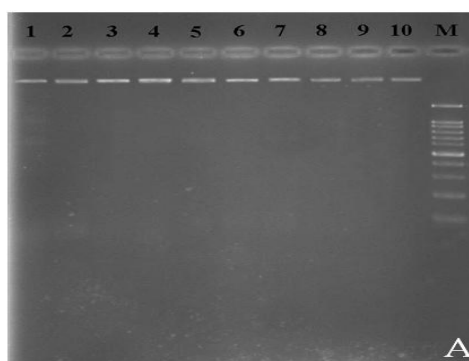
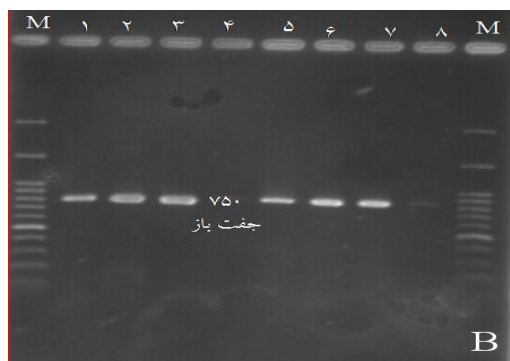
که در فرمول فوق صورت کسر مجموع مربعات مدل بدون اثر QTn و مخرج کسر مجموع مربعات با اثر QTn هستند.

نتایج و بحث

محصول واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز ناحیه مورد مطالعه بر روی ژل آگارز ۱/۵ الکتروفورز شد که نتایج در شکل ۱ نمایش داده شده و حاکی از تولید یک قطعه اختصاصی برای ژن *FASN* به طول ۷۵۰ جفت باز بود.

چندشکل از مدل رگرسیون چندگانه نشانگرها بر روی رکوردهای فنوتیپی استفاده گردید. سپس بررسی فرضیات اثرات نشانگرهای مرتبط با صفات تولیدی و باروری و عدم ارتباط آنها در قالب فرض اولیه با آماره نسبت درستمایی (LRT) در سطح احتمال آماری ۰/۰۵ مورد ارزیابی قرار گرفت.

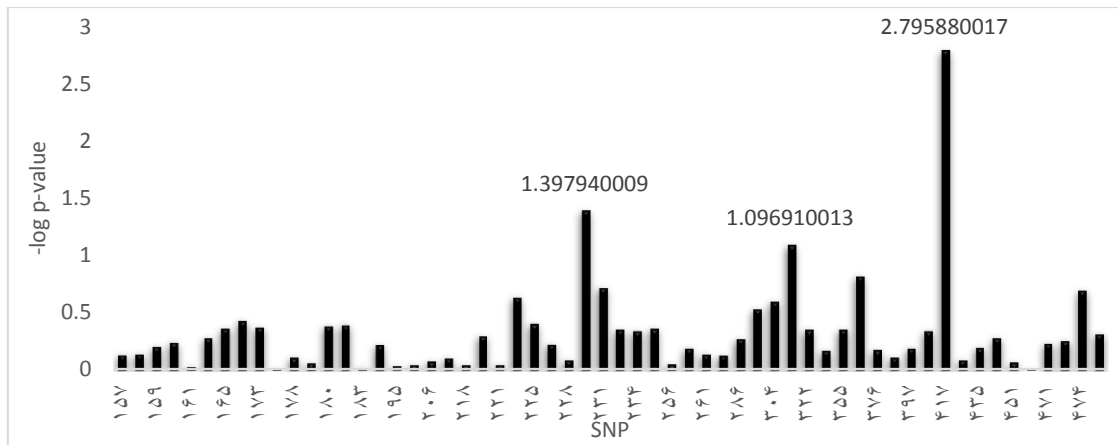
$$LR = -n \ln \left(\frac{ss_{\text{reduced mod el}}}{ss_{\text{full mod el}}} \right) \quad (\text{مدل ۴})$$



شکل ۱- A: شماره‌های ۱ تا ۱۰ نمونه DNA استخراج شده از گاوهای هلشتاین؛ B: شماره‌های ۱ تا ۸ الکتروفورز قطعه ۷۵۰ جفت بازی تکثیر شده از جایگاه ژن *FASN* در جمعیت گاوهای هلشتاین و M نشانگر اندازه ۱۰۰ جفت بازی می‌باشد.

جهش در موقعیت‌های $g.16593A > G$ ، $g.16670C > A$ و $g.16776C > T$ ، ارتباط معنی‌داری با تولید شیر داشتند (نمودار ۱). فراوانی این جهش‌ها در بین کل نواحی چندشکل مشاهده شده در جایگاه ژن *FASN* به ترتیب ۳/۵۳، ۲/۴۷ و ۶/۵۱ درصد بودند. نمودار ۱ اثرات متوسط جایگزینی آلل‌ها در نواحی چندشکل (جهش‌ها) توالی ژنی *FASN* بر تولید شیر را نشان می‌دهد.

در این تحقیق، اثر متوسط جایگزینی آلل‌ها در نواحی چندشکل (SNP) بر صفات تولیدی و تولیدمثلی بر اساس مدل‌های رگرسیون چندگانه پیش‌بینی شد. در توالی جایگاه ژنی *FASN*، ۵۸ ناحیه چندشکل شناسایی گردید. نتایج تجزیه مدل رگرسیون چندگانه نشانگرهای تک‌نوکلئوتیدی جایگاه ژنی *FASN* در جمعیت گاوهای هلشتاین وجود سه مکان معنی‌دار در کنترل تولید شیر را تأیید نمود ($P < 0.05$). از میان ۵۸ ناحیه چندشکل تنها سه



نمودار ۱- مکان‌یابی جهش‌های مرتبط با صفت تولید شیر در جایگاه ژنی *FASN* بر اساس مدل رگرسیون چند گانه با اثرات افزایشی آلل‌ها

$g.16593A>$ در هر دو گروه گاوهای کم‌تولید و پرتولید مشاهده شد، اما فراوانی آن در دام‌های با دوره شیردهی اول، کمتر بود (جدول ۳).

در جمعیت مورد مطالعه، جایگزینی نوکلئوتید در موقعیت SNP های $g.16593A>G$ ، $g.16670C>A$ و $g.16776C>T$ به ترتیب باعث تبدیل اسید آمینه‌های ترئونین به پرولین، تریپتوفان به لوسین و سرین به آلانین شد. جایگزینی G

جدول ۳- جایگزینی $g.16593A>G$ SNP، در توالی ژن *FASN* در جمعیت گاوهای هلشتاین

دوره شیردهی	$g.16593A>G$	رأس دام	میزان تولید شیر روزانه (kg)	فراوانی (درصد)
اول	G	۳	۱۳	۸
	A	۲	۹	۵
دوم	G	۹	۱۵/۵	۲۴
	A	۸	۱۳	۲۱
سوم	G	۱۰	۲۲	۲۶
	A	۶	۱۶	۱۶

های با تولید کم، فراوانی نوکلئوتید A برابر با ۱۳ درصد کل جمعیت و ۴۵ درصد جمعیت کم‌تولید بود (جدول ۴).

جهش $g.16670 C>A$ ، در ۵۲ درصد کل جمعیت مورد مطالعه گاوهای هلشتاین و در هر سه سطح شیردهی رخ داده، اما در دام-

جدول ۴- جایگزینی جهش $g.16670C>A$ ، در توالی ژن *FASN* در جمعیت گاوهای هلشتاین

دوره شیردهی	$g.16670C>A$	رأس دام	میزان تولید شیر روزانه (kg)	فراوانی (درصد)
اول	A	۵	۱۰	۱۳
	C	۶	۱۳	۱۶
دوم	A	۷	۱۵	۱۸
	C	۷	۱۸	۱۸
سوم	A	۶	۱۷	۱۶
	C	۷	۲۱	۱۸

جایگزینی تک نوکلئوتید $g.16776 C>T$ در سه دوره شیردهی مطابق با جدول ۵ است.

در ۳۰ درصد کل جمعیت چندشکلی $g.16776 C>T$ مشاهده گردید، که همگی متعلق به دامهای با تولید شیر بالا بودند. نوکلئوتید C در ۲۲ درصد جمعیت با تولید کم مشاهده شد. توزیع

جدول ۵- جایگزینی جهش $SNP g.16776C>T$ ، در توالی ژن *FASN* در جمعیت گاوهای هلشتاین

دوره شیردهی	$SNP g.16776C>T$	رأس دام	میزان تولید شیر روزانه (kg)	فراوانی (درصد)
اول	C	۴	۱۰	۱۲/۵
	T	۴	۱۳/۵	۱۲/۵
دوم	C	۴	۱۵	۱۲/۵
	T	۸	۱۷	۲۵
سوم	C	۵	۱۶	۱۶
	T	۷	۲۰	۲۲

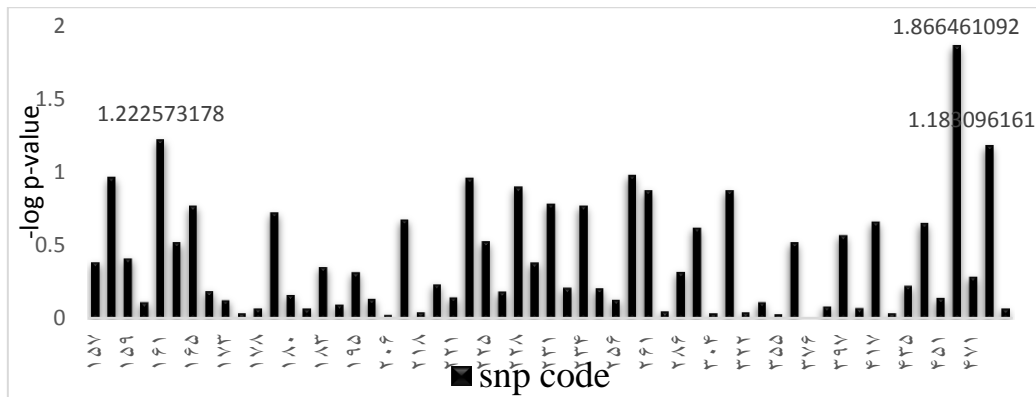
صفات تولیدی در مطالعات قبلی، انتخاب می شوند. گزارش شده است چندشکلی ناحیه $g.17924A>G$ در جایگاه ژنی *FASN* با صفات تولید شیر، پروتئین و چربی شیر ارتباط معنی داری دارد (Ciecierska و همکاران، ۲۰۱۳). محققین گزارش نموده اند که جهش در ناحیه $g.17924A>G$ در گاو آنگوس و گاوهای کره ای ارتباط معنی داری با مقدار چربی گوشت دارد و بر ترکیب اسیدهای چرب در گاوهای کره ای تأثیر می گذارد (Bhuiyan و همکاران، ۲۰۰۹، Zhang و همکاران، ۲۰۰۸). مطالعات اخیر گزارش کردند که این جهش ها روی ترکیب اسید چرب لاشه در گاو هلشتاین تأثیر معنی داری ندارد. مغایرت نتایج محققین مختلف

مطالعه چندشکلی جایگاه ژنی *FASN* در گاوهای هلشتاین امریکا سه جهش در نواحی $g.16593A>G$ ، A، $g.16670C>T$ و $g.16776C>T$ در گاوهای شکم اول که در اوج شیردهی ۴۰-۴۵ کیلوگرم تولید شیر داشتند و همچنین در گاوهای شکم دوم زایش با تولید شیر ۵۰-۵۵ کیلوگرم در روز شیر گزارش گردید (Lopez و همکاران، ۲۰۰۵) که با نتایج مطالعه حاضر در جمعیت گاوهای هلشتاین استان کرمان مطابقت داشت.

ژن های کاندیدا بر پایه شواهد فیزیولوژیکی و یا فرآیندهای بیوشیمیایی مرتبط با صفات تولید و یا ارتباط معنی دار آنها با

ممکن است به دلیل نژاد یا متفاوت بودن اهداف انتخاب در جمعیت‌های مختلف گاوهای شیری باشد. علاوه بر این دو جهش در موقعیت‌های $g.16929G>A$ و $g.16907T>C$ در نژاد هانوو گزارش شده‌اند، اما اثر معنی‌داری بر تولید شیر نداشتند (Yeon و همکاران، ۲۰۱۳).

از تعداد ۵۸ جایگاه چندشکل شناسایی شده، ۳ جهش در موقعیت‌های $g.16830G,C,T>A$ ، $g.16524G,C,T >A$ و



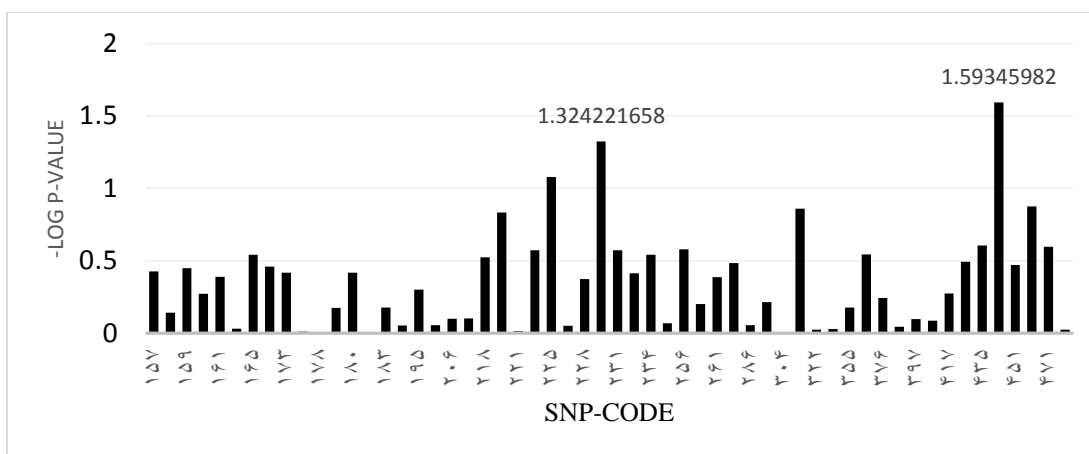
نمودار ۲- مکان‌یابی جهش‌های مرتبط با صفت فاصله گوساله‌زایی در جایگاه ژنی *FASN* بر اساس مدل رگرسیون چندگانه با اثرات افزایشی آلل‌ها در جمعیت گاو هلشتاین

جدول ۶- درصد فراوانی جایگزینی نوکلئوتیدها در ناحیه $g.16524C,T,G>A$ در جمعیت گاوهای هلشتاین مورد مطالعه

تغییر اسیدآمین	فراوانی (درصد)	جهش $g.16524C,T,G>A$
Met	۴۲	A
Ciys > Met	۵۲	C
Ciys > Met	۳	T
Synonymous	۳	G

در جمعیت مورد مطالعه، جایگزینی نوکلئوتید C در ناحیه $g.16524G,C,T >A$ در گروه دام‌های با تولید بالا رخ داده است، در حالی که نوکلئوتید A در جمعیت دام‌های با تولید کم یافت شد. همچنین، جایگزینی نوکلئوتید G و C به ترتیب باعث جابجایی ترئونین و آسپاراژین با والین شد. جایگزینی نوکلئوتید G و C در جایگاه $g.16830G,C,T>A$ به ترتیب باعث جایگزینی ترئونین و آسپاراژین با والین شد. جایگزینی نوکلئوتید T در جایگاه $g.16833A,T>G$ باعث تغییر اسیدآمین گلوتامین با والین گردید. جایگزینی نوکلئوتید A، از نوع مترادف

(Synonymous) بوده و باعث تغییر اسیدآمین نشد. این جایگزینی نوکلئوتید G در جمعیت دام‌های با تولید کم، جایگزینی نوکلئوتید T کاملاً در جمعیت دام‌های با تولید بالا مشاهده شد و این دام‌ها فاصله گوساله‌زایی کمتری نسبت به دام‌های پرتولید در این تحقیق داشتند. از تعداد نواحی چندشکل شناسایی شده در جایگاه ژنی *FASN* دو جایگاه $g.16594A,C>G$ و $g.16811A,T>G$ با صفت تعداد تلقیح به‌ازای آبستنی اثر معنی‌داری داشت (نمودار ۳).



نمودار ۳- مکان‌یابی جهش‌های مرتبط با صفت تعداد تلقیح به ازای هر آبستنی در جایگاه ژنی *FASN* بر اساس مدل رگرسیون چندگانه با اثرات افزایشی آلل‌ها در جمعیت گاو هلشتاین

دوره شیردهی باعث افزایش فاصله زایش، تعداد روزهای باز و تعداد تلقیح به ازای آبستنی می‌گردد (Caldow و همکاران، ۲۰۰۵). گاوهای پرتولید چرخه فعلی کوتاه‌تر، رفتارهای ایستاده کمتر و مدت زمان فعلی کمتری داشته که باعث عدم تشخیص به موقع زمان فعلی و در نتیجه لقاح به موقع نشده و بدین ترتیب تعداد تلقیح به ازای هر آبستنی افزایش می‌یابد (Weigel، ۲۰۰۶).

نتیجه‌گیری

جایگاه ژنی *FASN* در جمعیت گاوهای هلشتاین استان کرمان چندشکلی بالایی را نشان داد که تعدادی از آنها مرتبط با میزان تنوع در صفات تولید شیر و صفات تولیدمثلی شامل فاصله گوساله زایی و نرخ آبستنی بودند. با توجه به این که اکثر این جهش‌ها با تغییر در ترکیب اسیدهای آمینه آنزیم *FASN* همراه بودند، ممکن است موجب تغییر فعالیت آنزیم مذکور در بازسازی مجدد اسیدهای چرب به ویژه در سیستم پستانی گاو شیری گردد. بنابراین، جهش‌های مذکور می‌توانند به عنوان نشانگرهای مؤثر برای صفات تولیدی و تولیدمثلی در قالب مدل‌های جدید انتخاب ژنومی در جمعیت مذکور مورد استفاده قرار گیرند و بدین ترتیب صحت برآورد ارزش اصلاحی دام‌ها افزایش یابد.

جایگزینی نوکلئوتید A در موقعیت g.16594A,C>G باعث جایگزینی اسید آمینه آلانین با گلوتامین و جایگزینی نوکلئوتید C باعث تغییر اسید آمینه نشد. همچنین، جایگزینی نوکلئوتیدهای A و C در جایگاه مذکور در گاوهای که در شکم سوم زایش بودند مشاهده گردید، اما جایگزینی نوکلئوتید G در تمام گاوهای شیری اعم از شکم اول، دوم و سوم دیده شدند. البته با توجه به محدود بودن تعداد نمونه‌ها این توزیع الگوی جایگزینی نوکلئوتیدها در جهش ناحیه g.16594A,C>G ممکن است تصادفی باشد.

فراوانی جهش در ناحیه چندشکل g.16811A,T>G در کل جمعیت برابر با ۱۰ درصد بود. جایگزینی نوکلئوتید G در هر دو گروه با تولید بالا و پایین با دوره‌های شیردهی متفاوت مشاهده شد. همچنین، جایگزینی نوکلئوتید A باعث تغییر اسید آمینه ترئونین با آرژنین و جایگزینی نوکلئوتید T باعث تغییر اسید آمینه-ای نشد. طبق نتایج مشاهده شده، جایگزینی نوکلئوتید در درصد کمی از جمعیت مورد مطالعه رخ داده و از آنجا که در هر دو گروه با تولید بالا و پایین مشاهده شده است، می‌توان پیشنهاد کرد که صفت تعداد تلقیح به ازای هر آبستنی بیشتر تحت تأثیر عوامل محیطی قرار دارد. گزارشات محققین نشان داده است که افزایش

منابع

- M., McEwan, J. C., Pitchford, W. S., Bottema, C. D. and Lee, M. A. (2007). Fatty acid synthase effects on bovine adipose fat and milk fat. *Mammalian Genome*. 18: 64-74
- Oztabak, K., Gursel, F. E., Akis, I., Ates, A., Yardibi, H. and Turkay, G. (2014). *FASN* Gene Polymorphism in Indigenous Cattle Breeds of Turkey. *Folica Biologica (Krakaw)*. 62: 29-35
- Roy, R., Ordovas, L., Zaragoza, P., Romero, A., Moreno, C., Altarriba, J. and Rodellar, C. (2006). Association of polymorphisms in the bovine *FASN* gene with milk-fat content. *Animal Genetics*. 37(3): 215-218.
- Schennink, A., Bovenhuis, H., Léon-Kloosterziel, K. M., van Arendonk, J. A. and Visker, M. H. (2009). Effect of polymorphisms in the *FASN*, *OLRI*, *PPARGCIA*, *PRL* and *STAT5A* genes on bovine milk-fat composition. *Animal Genetic*. 40: 909-916.
- Singh, V. K., Mangalam, A. K. Dwivedi S. and Naik, S. (1998). Primer Premier: Program for design of degenerate primers from a protein sequence. *BioTechniques*. 24: 318-319.
- Smith, S., Witkowski, A. and Joshi, A. K. (2003). Structural and functional organization of the animal fatty acid synthase. *Prog Lipid Research*. 42: 289-317.
- Weigel, K. A. (2006). Prospects for improving reproductive performance through genetic selection. *Animal Reproduction Science*. 9(63): 323-330.
- Yeon, S. H., Lee, S. H., Choi, B. H., Lee, H. J., Jang, G. W., Lee, K. T. and Chung, H. Y. (2013). Genetic variation of *FASN* is associated with fatty acid composition of Hanwoo. *Meat Science*. 94(1): 133-138
- Zhang, S., Knight, T. J., Reecy J. M. and Beitz, D. C. (2008). DNA polymorphisms in bovine fatty acid synthase are associated with beef fatty acid composition. *Animal Genetic*. 39: 62-70.
- بیگی نصیری، م.ت. ۱۳۸۳. بررسی قابلیت های ژنتیکی تولید شیر نژاد هلشتاین در شهرستان ساری. اولین کنگره علوم دامی و آبریان کشور. ص. ۶۲۱-۶۲۳.
- رضوی، س.م.، وطن خواه، م.، میرزایی، ح.ر. و رکوعی، م. ۱۳۸۶. برآورد روند ژنتیکی صفات تولیدی در گاوهای هلشتاین استان مرکزی. پژوهش و سازندگی، ۷۷: ۵۵-۶۲.
- Bhuiyan, M. S. A., Yu, S. L., Jeon, J. T., Yoon, D., Cho, Y. M., Park, E. W. and Lee, J. H. (2009). DNA polymorphisms in *SREBF1* and *FASN* genes affect fatty acid composition in Korean cattle (Hanwoo). *Asian-Australian Journal of Animal Science*. 22: 765-773.
- Caldow, G., Lowman, B. and, and Riddell, I. (2005). Veterinary intervention in the reproductive management of beef cow herds. *In Practice*. 27(8): 406-411.
- Chirala, S. S., Chang, H., Matzuk, M., Abu-Elheiga, L., Mao, J., Mahson, K., Finegold, M. and Wakil, S. J. (2003). Fatty acid synthesis is essential in embryonic development: Fatty acid synthase null mutants and most of the heterozygotes die in utero. *Proction Natl Academy Science USA*. 100: 6358-6363.
- Ciecierska, D., Frost, A., Grzesiak, W., Proskura, W. S., Dybus, A. and Olszewski, A. (2013). The influence of fatty acid synthase polymorphism on milk production traits in Polish Holstein-Friesian cattle. *The Journal of Animal and Plant Sciences*. 23: 376-379.
- Hall, T. A. (1999). BioEdit: A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*. 41: 95-98.
- Lopez, H., Caraviello, D. Z., Satter, L. D., Fricke, P. M., Wiltbank, M. C. (2005). Relationship between level of milk production and multiple ovulations in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 88: 2783-2793.
- Morris, C. A., Cullen, N. G., Glass, B. C., Hyndman, D. L., Manley, T. R., Hickey, S.