



ارزیابی بیوتکنولوژی میوستاتین و عملکرد آن در اصلاح دام

بهاره صوفی¹، محمدرضا محمدآبادی²

¹ دانشجوی کارشناسی ارشد بخش علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل
² عضو هیأت علمی بخش علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان

mmohammadabadi@yahoo.ca

چکیده

میوستاتین یا فاکتور 8 رشد و تمایز به عنوان عاملی که منجر به ماهیچه مضاعف می شود معرفی شده است که اگر موتاسیونی در ناحیه کد کننده پروتئین این ژن اتفاق افتد باعث تغییر نقش تنظیم کنندگی این ژن شده و افزایش عضله را سبب می شود. این امر در گاو گزارش شده که از طریق افزایش سنتز پروتئین صورت می گیرد. گزارشاتی مبنی بر این وجود دارد که 9 موتاسیون در ناحیه کد کننده میوستاتین منجر به تغییرات غیر مشابهی می شود که 3 تا از آنها منجر به موتاسیونهای بی معنی می شود که 2 موتاسیون در اگزون 1 و موتاسیون دیگر در اگزون 2 می باشد. 6 موتاسیون باقیمانده در اگزون 2 و 3 قرار دارد که منجر به کدهای پایان زودرس می شود، که این موتاسیونها مسئول فنوتیپ ماهیچه مضاعف است. متأسفانه مشکلات مدیریتی، از جمله مشکلات مربوط به تولد و زایمان گریبانگیر گاوهای با ماهیچه مضاعف می شود که می تواند به برنامه های کنترل و اصلاح ژنتیکی غلبه کند. هدف این مقاله بررسی عملکرد میوستاتین و مزایا و معایب آن در اصلاح دام می باشد؛ با توجه به تعداد زیاد دام در ایران، کمبود گوشت، خشکسالی و کمبود علوفه شناسایی دام های دارای ژن ماهیچه مضاعف و ازدیاد آنها توصیه می شود.

واژه های کلیدی: میوستاتین، فاکتور 8 رشد و تمایز، ماهیچه مضاعف

مقدمه

اولین نوشته ها در مورد هایپر تروفی ماهیچه ای در گاو توسط یک کشاورز انگلیسی در مزرعه اش گزارش شد (Culley 1807) و گزارشات بعدی در این زمینه بوسیله Kaiser (1888) شرح داده شد، که یک جنبه تازه در اصلاح نژاد حیوانات در رابطه با صفات لاشه شان را نشان داد. این فنوتیپ از آن زمان به طور وسیعی در بین گاوهای گوشتی اروپایی افزایش یافت. این فنوتیپ شامل رشد و توسعه زیاد ماهیچه هاست که در اصطلاح ماهیچه مضاعف نامیده می شود (DM=Double Muscle). علائم مختلفی توسط نویسندگان زیادی برای تشخیص بین حیوانات با فنوتیپ ماهیچه مضاعف و حیوانات طبیعی مورد استفاده قرار گرفته است. از جمله، DM یا N، D یا n، DM یا dm، C یا c، N یا n، A یا a، mh یا +. فنوتیپ DM با هایپر تروفی ماهیچه ها مشخص شد. در این حیوانات اندامهای خلفی به صورت گرد و برجسته هستند و ماهیچه ها حالت بیرون زدگی دارند و خطوط آشکاری در زیر پوست قابل دیدن است. از دیگر مشخصه های فیزیکی آشکار می توان به استخوانهای ظریف، دستگاه تناسلی نابالغ و زبان بزرگ در گوساله های تازه متولد شده اشاره کرد. حیوانات با فنوتیپ ماهیچه مضاعف دارای استخوان و چربی کمتر و ماهیچه بیشتری هستند و نسبت قسمت های ارزشمند گوشت بیشتر است. از معایب ماهیچه مضاعف می

توان به کاهش باروری، کاهش بقای گوساله ها، افزایش حساسیت به استرس و بیماریهای تنفسی اشاره نمود (Arthur et al. 1988).

تاریخچه ماهیچه مضاعف در گاو

در ابتدا جزئیات توسط Kaiser (1888) شرح داده شد و بعدها Wriedt (1929) این فنوتیپ را مونو فاکتوریال معرفی کرد (بوسیله یک ژن کنترل می شود) که بعدها نتایجش توسط Kronacher (1934) مورد تردید قرار گرفت و گفت که این فنوتیپ سه عاملی است، که دو تا از ژن ها تا حدودی تغییر پذیری صفت را مشخص می کنند و بیان ژن یا جلوگیری از بیان آن نیز بوسیله ژن دیگر کنترل می شود. سپس بوسیله Quesada & Cachaferio (1971) پیشنهاد شد که ماهیچه مضاعف توسط یک مدل دو عاملی با 9 ژنوتیپ مختلف که به 4 فنوتیپ مختلف طبقه بندی می شوند بیان می شود. گاوهای Belgian Blue به عنوان نژادی که دارای فراوانی وقوع ماهیچه مضاعف هستند به طور دقیق مورد بررسی قرار گرفتند.

بررسی فیزیولوژیکی ماهیچه مضاعف

علی رغم آنچه گفته شد ماهیچه مضاعف ارتباطی با دوبرابر شدن ماهیچه ها ندارد، اما به نسبت، یک افزایش در تعداد فیبرهای ماهیچه ای (هیپر پلازی) و طولیل شدن فیبر ها (هایپر تروفی) را ایجاد می کند. در گاوهای ماهیچه مضاعف تعداد فیبر های ماهیچه ای در زمان تولد دو برابر گاوهای عادی است (Gerrard et al. 1991). گاوهای ماهیچه مضاعف دارای درصد بیشتری از فیبر های ماهیچه ای سفید هستند، و مقدار کلاژن کمتری دارند. همچنین گزارش شده که گاوهای با ماهیچه مضاعف دارای بافتهای همبند کمتری هستند که می تواند به افزایش تردی گوشت کمک کند (Hanset 1991). افزون بر این تفاوتهایی در میزان هورمونهای موجود در جریان خون گاوهای با ماهیچه مضاعف در مقایسه با گاوهای عادی وجود دارد. در ابتدا عقیده بر این بود که سطوح هورمون رشد در گاوهای با ماهیچه مضاعف در مقایسه با گاوهای عادی بالاتر است. هر چند در مطالعه ای که توسط Hocquette و همکاران در سال 1999 صورت گرفت نشان داده شد که سطوح پلاسمایی هورمون رشد در گاوهای با ماهیچه مضاعف در مقایسه با گاوهای عادی به طور پیوسته پایین تر است. در نتایج مشابهی سطوح انسولین نیز در گاوهای عادی نسبت به گاوهای با ماهیچه مضاعف بالاتر بود (Arthur et al. 1990). در طی فعالیتهای شدید گاوهای با ماهیچه مضاعف نسبت به گاوهای عادی زودتر خسته می شوند که مربوط به اسیدوز متابولیکی است که علت آن کاهش جریان خون است (حجم خون و مقدار هماتوکریت کمتر است) که منجر به کاهش انتقال اکسیژن از یک طرف و کاهش فعالیت متابولیسم هوازی در گاوهای با ماهیچه مضاعف نسبت به بقیه می شود. توده بزرگ عضلانی در گاوهای با ماهیچه مضاعف منجر به تولید حرارت بیشتر در طی استرس های گرمایی می شود که توانایی کمتری برای انتشار حرارت دارند (کاهش ظرفیت تنفسی). هر چند این نکته را باید متذکر شد که فنوتیپ ماهیچه مضاعف نه تنها بوسیله نژاد بلکه توسط تغذیه و جنس نیز تحت تاثیر قرار می گیرد. قبلاً گفته شد که مقدار چربی لاشه در گاوهای با ماهیچه مضاعف در مقایسه با گاوهای عادی به طور معنی داری کمتر است به خصوص چربی داخل ماهیچه ای که به عنوان ماربلینگ شناخته می شود و توسط فنوتیپ ماهیچه مضاعف تحت تاثیر قرار می گیرد (Hanset 1991). ماربلینگ کمتر باعث کاهش طعم و مزه می شود و در نتیجه، این کاهش ماربلینگ منجر به کاهش چربی زیر جلدی و کاهش اندازه بافت آدیپوز چربی می شود اگر چه به نظر می رسد اندازه آدیپوز در



چربی داخل ماهیچه ای در بین گاوهای با ماهیچه مضاعف و گاوهای عادی مشابه باشد (Hocquette et al. 1999). حیوانات ماهیچه مضاعف گوشت ظریف تر و تردتری تولید می کنند. همچنین گوشت حیوانات ماهیچه مضاعف به طور معنی داری حاوی مقدار چربی کمتری است (Smet et al. 2000). این ویژگیها به طور زیادی منطبق با استانداردهای سلامتی است. گاوهای با ماهیچه مضاعف در مقایسه با گاوهای عادی کاهش در باروری را نشان دادند. همچنین اشاره شده که میزان مرگ و میر جنین های با ماهیچه مضاعف بیشتر است.

ارزیابی ژنتیکی میوستاتین ونقش آن در تنظیم ماهیچه

میوستاتین یا فاکتور 8 رشد و تمایز، که به میزان زیادی در بین گونه ها وجود دارد روی توسعه و بلوغ ماهیچه های اسکلتی اثر می گذارد (Mcpherron et al. 1997). ژن میوستاتین در ناحیه سانترومری کروموزوم شماره 2 گاو قرار دارد ((Grobet et al. 1997) و دارای 3 اگزون و 2 اینترون است و جایگاه آن در گونه های مطالعه شده از جمله خوک (AY208121)، بوفالو (AH013313)، مرغ (AF346599) و موش خانگی (AY204900) مشخص شده است (et al. 1997; Grobet et al. 1997). میوستاتین یکی از اعضای تغییر شکل یافته فاکتور رشد از خانواده بزرگ β TGF- است. میوستاتین باعث میانجیگری بیان ژن در کنترل شکل فیبری ماهیچه است و با جلوگیری از تکثیر میو بلاستها عملاً رشد عضلانی را متوقف می کند و این عمل میوستاتین بطور عمده به رشد ماهیچه های پیش از تولد یعنی زمان تکثیر و تمایز میو بلاستها بر می گردد و انتظار می رود چنانچه جهشی بتواند باعث کاهش mRNA میوستاتین گردد، رشد عضلانی بیشتری در حیوان مشاهده شود. حضور ال جهش یافته mh کمترین عملکردش در هموزیگوت ها منجر به هایپر تروفی ماهیچه ای می شود. در حال حاضر 6 جهش در توالی میوستاتین مشخص شده که باعث هایپر تروفی ماهیچه ای، که در اثر غیر فعال شدن ژن است می شود.

مشکلات گوساله زایی

Hanset در سال 1991 مشخص کرد که دوره آبستنی برای گوساله های با ماهیچه مضاعف طولانی تر است که نتیجه آن وزن تولد بیشتر این گوساله ها در مقایسه با گوساله های طبیعی است که منجر به موارد بیشتر دیستوزیا (مشکلات گوساله زایی) می شود و اگر در زمان تولد به آنها کمک نشود باعث افزایش میزان تلفات می شود (Wiener et al. 2002). به علاوه این مشکل با وجود مقدار بیشتر ماهیچه در ناحیه لگن خاصره گاو که از انبساط لگنی جلوگیری می کند تشدید می شود (Wiener et al 2002). حیواناتی که برای ماهیچه مضاعف هتروزیگوت هستند نسبت به حیوانات تیپ وحشی بزرگترند و از مشکلات گوساله زایی که هموزیگوت های موتانت با آن مواجهند رنج نمی برند. به دلیل اینکه ماده ای که برای صفت ماهیچه مضاعف هموزیگوت است احتمال کمی وجود دارد که بتواند بدون کمک گوساله اش را به دنیا بیاورد. یک ماده هتروزیگوت توان بیشتری برای گوساله زایی بدون کمک دیگران دارد. این مشکل ارزش فنوتیپ ماهیچه مضاعف را بی اثر می سازد زیرا نیاز قطعی برای کمک به گوساله زایی بدون تشخیص هموزیگوسیتی و هتروزیگوسیتی حیوان ماده ممکن نیست. زیرا مادری که برای الهای mh موتانت هموزیگوت است در هنگام زایمان با مشکل مواجه است. یک روش ساده و موثر برای کمک به اصلاح کنندگان، انتخاب مادران هتروزیگوت از نظر ال mh موتانت است که باعث می شود دام با مشکلات کمتری در زمان تولد مواجه شود و احتمال نجات بره های هموزیگوت برای ال mh موتانت بیشتر شود. کاهش مشکلات تولد نه تنها باعث کاهش هزینه ها، بلکه باعث کاهش خطر مرگ مادر و گوساله می شود.

شناسایی ماهیچه مضاعف

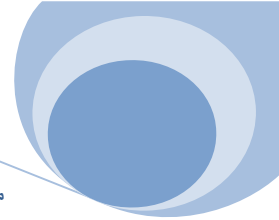
شناسایی ماهیچه مضاعف به عنوان مثال بر پایه درجه هایپرتروفی که به واسطه وجود خطوط داخل ماهیچه و مشخصات ظاهری مرتبط با این فنوتیپ همانند شیب لگنی و اتصالات آشکار بیشتر در ناحیه دم مشخص می شود صورت می گیرد. شناسایی در گذشته معمولاً توسط مشخصات فنوتیپی بود اما از زمانی که ژن میوستاتین توسط McPherron و همکارانش در سال 1997 شناسایی شد و به محض شناسایی ال (mh موتانت در گاو (Grobet et al. 1997) تقریباً به طور کلی شناسایی از طریق آزمایشهای بر پایه نشانگرهای ژنتیکی صورت گرفت. در گذشته گفته شد که لوکوس mh توسط حذف 11 جفت باز در اگزون 3 نژاد Belgian Blue مشخص شد. به طوریکه این نقص در ناحیه فعالیت زیستی پایانه کربوکسی مشخص شد که می تواند به عنوان یک نشانگر برای ماهیچه مضاعف استفاده شود. تکنیک های مولکولی مختلفی برای شناسایی وجود جایگاه mh موتانت مورد استفاده قرار گرفته است.

نتیجه گیری

در گاو فنوتیپ شناخته شده ماهیچه مضاعف (DM) نشان دهنده وقوع موتاسیون در ژن میوستاتین است که توانایی تنظیم ذخایر ماهیچه را نشان می دهد. میوستاتین یک تنظیم کننده منفی جهت رشد سلولهای ماهیچه ای است که کمترین عملکرد آن که تا کنون شناخته شده است منجر به فنوتیپ ماهیچه مضاعف در چندین نژاد گاو و فنوتیپ های مشابه در دیگر گونه های حیوانات می شود. شناسایی و جداسازی ژن میوستاتین به بحث هایی که نزدیک به دو قرن در مورد علت ماهیچه مضاعف وجود داشت و به مشاهدات فیزیکی جهت تشخیص ماهیچه مضاعف بستگی داشت. پایان داد. امروزه از طریق تعیین ژنوتیپ امکان تشخیص بین هتروزیگوت های ناقل و هموزیگوت های دارای اللهای mh وجود دارد (Fahrenkrug et al. 1999; Karim et al. 2000). هر چند موتاسیونهای ژن میوستاتین بیشتر در نژادهای مختلف گاو بررسی شده از این رو بررسی تغییرات ژنتیکی در دیگر گونه های تجاری مهم مانند گوسفند، بز و خوک بدون طی مسیر طولانی میسر نیست. هر چند موانعی در این راه وجود دارد ولی پیش بینی جنبه های مختلف جهش در ژن میوستاتین از لحاظ اقتصادی حایز اهمیت است.

منابع

1. Arthur P.F., Makarechian M., Salmon R.K. & Price M.A. 1990. Plasma growth hormone and insulin concentrations in double-muscling and normal bull calves. *Journal of Animal Science* 68, 1609–15.
2. Casas E., Keele J.W., Shackelford S.D., Koohmaraie M., Sonstegard T.S., Smith T.P., Kappes S.M. & Stone R.T. 1998. Association of the muscle hypertrophy locus with carcass traits in beef cattle. *Journal of Animal Science* 76, 468–73.
3. Culley G. 1807. *Observations in Livestock*. G. Woodfall, London. Dunner S., Miranda M.E., Amigues Y., Canon J., Georges M., Hanset R., Williams J. & Menissier F. 2003. Haplotype diversity of the myostatin gene among beef cattle breeds. *Genetics Selection Evolution* 35, 103–18.
4. Fahrenkrug S.C., Casas E., Keele J.W. & Smith T.P. 1999. Technical note: direct genotyping of the double-muscling locus (mh) in Piedmontese and Belgian Blue cattle by fluorescent PCR. *Journal of Animal Science* 77, 2028–30.
5. Grobet L., Poncelet D., Royo L.J., Brouwers B., Pirottin D., Michaux C., Menissier F., Zanotti M., Dunner S. & Georges M. 1998. Molecular definition of an allelic series of mutations disrupting the myostatin function and causing double-muscling in cattle. *Mammalian Genome* 9, 210–3.



6. Hanset R. 1991. Breeding for disease resistance in farm animals. In: CAB International (Ed. by J. B. Owen & R. F. E. Axford), pp. 467–78. Axford, Wallingford, UK.
7. Hanset R. & Michaux C. 1982. Creatine and creatinine levels in plasma red cells and muscles as characteristics of double-muscled cattle. In: Muscle Hypertrophy of Genetic Origin and its Use to Improve Beef Production (Ed. by J.W.B. King & F. Menissier), pp. 237– 56. Martinus Nijhoff Publishers, The Hague.
8. Hocquette J.F., Bas P., Bauchart D., Vermorel M. & Geay Y. 1999. Fat partitioning and biochemical characteristics of fatty tissues in relation to plasma metabolites and hormones in normal and double-muscled young growing bulls. *Comparative Biochemistry and Physiology: Part A. Molecular and Integrative Physiology* 122, 127–38.
9. Kaiser .1888. Uber die sogenannten doppellendigen. Rinderrassenerhebung Landwirtschaftliche Jahrbuch 17, 387–403.
10. Karim L., Coppieters W., Grobet L., Valentini A. & Georges M. 2000. Convenient genotyping of six myostatin mutations causing double-muscling in cattle using a multiplex oligonucleotide ligation assay. *Animal Genetics* 31, 396–9.
11. Kronacher C. 1934. Genetik und Tierzuchtung. In: Handbuch der Vererbungswissenschaft (Ed. by E. Baur & M. Hartmann), 3:139.
12. McPherron A.C. & Lee S.J. 1997. Double muscling in cattle due to mutations in the myostatin gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 94, 12457–61.
13. McPherron A.C., Lawler A.M. & Lee S.J. 1997. Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF-beta superfamily member. *Nature* 387, 83–90.
14. Quesada S.A. & Cachafeiro B.M.E. 1971. Reproduction de la femelle cularde en race Asturienne. 22nd Reunion annuelle, Federation Europeenne de Zootechnie, Annales ge Genetique et de Selection Animale 4, 132.
15. Smet S.D., Webb E.C., Claeys E., Uytterhaegen L. & Demeyer D.I. 2000. Effect of dietary energy and protein levels on fatty acid composition of intramuscular fat in double-muscled Belgian Blue bulls. *Meat Science* 56, 73–9.
16. Webb E.C., De Smet S., Van Nevel C., Martens B. & Demeyer D.I. 1998. Effect of anatomical location on the composition of fatty acids in double-muscled Belgian Blue cows. *Meat Science* 50, 45– 53.
17. Wiener P., Smith J.A., Lewis A.M., Woolliams J.A. & Williams J.L. 2002. Muscle-related traits in cattle: the role of the myostatin gene in the South Devon breed. *Genetics Selection Evolution* 34, 221–32.
18. Wriedt C. 1929. Die Vererbung des Doppellender – Kharacters die Rindern. *Zeitschrift fuer Induktive Abstammung und Verebungslehre* 51, 482–6.

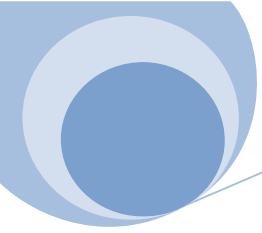
Biotechnological assay of myostatin and its performance in animal breeding

Soofi B.¹, Mohammadabadi M.R.²

¹MSc student, Department of Animal Science, Zabol University

²Assistant Professor, Department of Animal Science, Shahid Bahonar University of Kerman,
mmohammadabadi@yahoo.ca

Abstract



Myostatin (GDF-8) is introduced as factor affecting double muscling. If occurs mutation in coding region of this gene, this changes regulating role of gene and increases muscle growth and development. In cattle, this increases protein synthesis. Investigations have shown 9 mutations in exons of this gene that lead to different effects. From these 9 mutations, 3 are incense that 2 occur in exon 1 and one in exon 2. Other 6 mutations occur in exons 2 and 3 causing early stop codon and double muscle phenotype. Unfortunately animals with double muscles have pregnancy and calving problems dominating on controlling and breeding programs. The aim of study is determination of myostatin performance and its advantages and damages in animal breeding. Because of enormous number of animal in Iran, insufficient meat and inadequate animal feed, we need to increase animals with double muscles.

Key words: Myostatin, GDF8, Double muscle

Archive of SID