

آنالیز ژنتیکی اگزون ۴ ژن IGF-I و ارتباط آن با صفات لاشه و ترکیب اسیدهای چرب و متابولیت‌های خون در گوسفند زل

علی قاضی خانی شاد^{۱*}، حسین مرادی شهربابک^۲، مصطفی صادقی^۳ و رضا فرجی^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱۰/۲۶

تاریخ تصویب: ۱۳۹۱/۱۲/۲۶

چکیده

فاکتور رشد شبه انسولین (IGF-I) پپتید کوچکی (۷۵۰۰ دالتون) با ساختاری مشابه هورمون انسولین است که نقش مهمی در رشد و نمو بافت‌های مختلف بدن دارد و بوسیله ژن IGF1 رونویسی می‌شود. ژن فاکتور رشد شبه انسولین (IGF-I) روی کروموزوم شماره ۳ گوسفند قرار دارد. تحقیق حاضر با هدف مطالعه ارتباط چندشکلی این ژن با صفات لاشه و ترکیبات اسید چرب در گوسفندان بی‌دنبه زل به روش PCR-SSCP انجام شد. در این پژوهش ۱۲۰ راس گوسفند زل به طور تصادفی مورد رکوردگیری و کشتار و تفکیک لاشه قرار گرفت. برای مطالعه اسیدهای چرب نیز میزان ۶ میلی‌لیتر خون در ونوجکتهای حاوی EDTA جمع‌آوری و بلافاصله سانتریفیوژ شد تا مایع و پلاسما جدا شود. استخراج DNA از بافت ماهیچه بوسیله کیت شرکت بایونک صورت گرفت. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) جهت تکثیر قطعه ۲۶۵ جفت‌بازی اگزون ۴ ژن IGF1 انجام گرفت. برای تعیین ژنوتیپ نمونه‌ها الکتروفورز محصولات PCR پس از تک رشته شدن قطعات بر روی ژل اکریل آمید (روش SSCP) و رنگ آمیزی ژل به روش نیترا نقره انجام شد که نتایج بیانگر وجود چندشکلی بالا در این جایگاه بود. فراوانی الگوهای ژنوتیپی ۱، ۲ و ۳ IGF1 در گوسفندان زل به ترتیب ۵۶/۶۷، ۳۶/۶۷ و ۶/۶۶ درصد مشاهده شد. آنالیز داده‌های صفات با نرم‌افزار SAS انجام گرفت. در بین صفات مورد مطالعه، صفت وزن لاشه گرم در سطح ۰/۰۵ و ضخامت چربی پشت در سطح ۰/۰۱ ارتباط معنی‌داری با الگوهای متفاوت نشان داد. بین سایر صفات و اسیدهای چرب هیچ ارتباط معنی‌داری با ژنوتیپ‌های IGF1 در این تحقیق مشاهده نشد.

کلمات کلیدی: پلی مورفیسم، IGF1، اسیدهای چرب، PCR-SSCP، گوسفند زل

۱- استادیار گروه علوم دامی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ساوه، ساوه، ایران

۲- استادیار گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران

۳- دانشجوی کارشناسی ارشد اصلاح نژاد دام، گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران

* مؤلف مسئول (A.ghazikhani@iauh.ac.ir)

در پرورش گوسفند به منظور تامین منبع پروتئینی (گوشت) مورد نیاز مردم، عواملی نظیر شرایط اقلیمی، سیستم‌های پرورشی باز، شرایط محیطی فقیر، محدودیت‌های اقتصادی و عدم استقبال مردم از چربی (به دلیل ارتباط آن با بیماری‌های قلبی و عروقی) باعث کاهش روز افزون صرفه اقتصادی تولید چربی (دنبه و چربی بین بافتی) شده است. از این رو به نظر می‌رسد که کاهش اندازه دنبه یا درصد دنبه نسبت به لاشه و تغییر ترکیب اسیدهای چرب گوشت به سمت کاهش چربی‌های اشباع (سخت) و افزایش اسیدچرب‌های مطلوب و مفید نظیر امگا ۳ (C18:3) و امگا ۶ (C18:2) و در نتیجه کاهش چربی لاشه و بهبود کیفیت لاشه امری لازم و اقتصادی محسوب می‌شود. گوسفند زل در مناطق ساحلی دریای خزر و قسمتی از دشت گرگان پرورش داده می‌شود. خصوصیت منحصر به فرد گوسفند زل این است که به جای دنبه دارای یک دم می‌باشد که از ۷ مهره تشکیل شده که طول آن حدود ۱۰-۱۲ سانتیمتر است و در مقایسه با نژادهای دم دار خارجی بسیار کوتاه است. این نژاد به رنگ‌های سیاه، سفید و قهوه‌ای روشن تا تیره دیده می‌شود. پوست آن به دلیل کوچک و نازک بودن مرغوب نیست. فاکتور رشد شبه انسولین (IGF-1) پپتید کوچکی است که رشد و نمو بسیاری از سلول‌ها از طریق چرخه سلولی را کنترل می‌کند. این هورمون در بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیکی بدن مثل رشد، شیردهی، تولید مثل و سیستم ایمنی نقش دارد. اگر چه مقادیر کمی IGF-1 در بعضی از بافت‌ها ساخته می‌شود، اما بخش عمده این هورمون در کبد سنتز می‌شود. هورمون رشد یا سوماتوتروپین یکی از عواملی است که ممکن است سبب افزایش سنتز IGF-1 در کبد شود و همچنین تولید موضعی این هورمون را در دیگر بافت‌ها تحریک کند (۲۲).

محورسوماتوتروپیک بعنوان یکی از مهمترین محورهای هورمونی در بدن شامل هورمون رشد، IGF-1 تیپ ۱ و ۲، گیرنده‌های تیپ ۱ و ۲ مربوط به IGF و ۶ پروتئین باند شونده (IGFBP1-6) میباشد. اولین بار هورمون‌های IGF در دهه ۱۹۵۰ در موش شناسائی و تحت عنوان عوامل واسطه محرک رشد نامگذاری شدند (۲۲). در سال ۱۹۶۳ مشخص شد که این هورمون‌ها فعالیتی شبیه انسولین در بدن دارند. در سال ۱۹۷۲، نام سوماتومدین برای این هورمون‌ها انتخاب گردید و در نهایت در دهه ۱۹۷۰ هورمون‌های IGF در پلاسمای انسان خالص سازی و با شناسائی دو پپتید فعال، نام IGF تیپ ۱ و ۲ در آنها مرسوم شد (۲). هورمون‌های IGF-1 و IGF-2، پپتیدهای تک زنجیره‌ای با وزن مولکولی ۷۵۰۰ دالتون می‌باشند. هورمون IGF-1 از ۷۰ و IGF-2 از ۶۷ اسید آمینه تشکیل شده است که ۶۲ درصد از توالی اسید آمینه‌های آنها با هم مشابه میباشد (۲۲). تفاوت عمده IGF-1 و انسولین انسانی که تشابه توالی اسید آمینه آنها (۵۰ درصد) و عمل تقریباً مشابه آنهاست، در نحوه گردش این دو هورمون در خون است. نتایج تحقیقات بسیاری نشان می‌دهد که غلظت IGF-1 پلازما در زمان بلوغ گاوهای نر و ماده به اوج می‌رسد. افزایش غلظت این هورمون در زمان اوج رشد بدن تلیسه‌ها، مشاهده شده است و غلظت IGF-1 پلازما در گاوهای ماده جوان در حال رشد در مقایسه با دامهای مسن، بالاتر می‌باشد (۵). ارتباط بین سطح IGF-1 پلازما

با تعادل انرژی، تولید و تولید مثل، این امکان را می‌دهد که IGF-1 را به عنوان ابزاری در برنامه‌های اصلاحی و مدیریتی دام‌ها مورد استفاده قرار دهیم. موقعیت کروموزومی ژن IGF-1 در حیوانات مختلف مانند گوسفند روی کروموزوم ۳، در گاو و خوک بر روی کروموزوم ۵، در جوجه بر روی کروموزوم ۱ و در انسان بر روی کروموزوم ۱۲ تشخیص داده شده است (۱).

اولین بار لی و همکاران (۱۹۹۷) با استفاده از تکنیک SSCP یک موتاسیون تک نوکلوتیدی در ژن IGF-1 را گزارش نمودند. جی و همکاران (۲۰۰۱) مشخص کرد که در ناحیه ۵' فلانکینگ این ژن و ۵۱۲ جفت قبل از اولین کدون آگرون اول، یک جایگزینی نوکلئوتیدی T به جای C اتفاق افتاده است. توماس و همکاران (۲۰۰۷) اثر معنی دار چند شکلی در ناحیه پروموتور این ژن را بر روی وزن بدن گوسفند نشان دادند. ایسلام و همکاران (۲۰۰۹) در گاوهای گوشتی آنگوس نشان دادند که ژنوتیپ TT یا آلل جهش یافته (A) سبب کاهش معنی داری در ضخامت چربی پشت (اندازه گیری شده توسط اولتراسوند) می‌شوند ($P < 0.03$) آنها اثر متوسط جایگزینی آللی را برابر 0.57 میلی متر گزارش کردند. شرمین و همکاران (۲۰۰۸) اثر معنی دار ژن IGF-1 در گاوهای آنگوس و شاروله را بر چربی پشت (اندازه گیری شده با اولتراسوند)، افزایش وزن روزانه و ضریب تبدیل خوراک نشان دادند ($P < 0.05$). ایلماز و همکاران (۲۰۰۵) اولین بار با استفاده از تکنیک SSCP دو جهش تک نوکلوتیدی در پروموتور ژن IGF-1 را در گوسفندان خالص Polypay گزارش نمودند. کیوری و همکاران (۲۰۰۵) در گاوهای گوشتی آنگوس و سمینتال نشان دادند که اثر این جایگاه ژنی بر وزن بدن و ضخامت چربی پشت معنی دار است ($P < 0.05$).

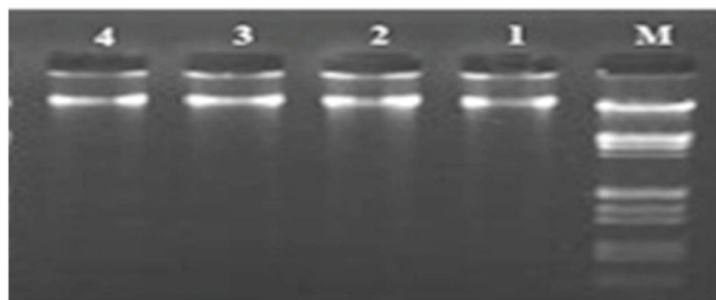
هدف از تحقیق حاضر، شناسایی چندشکلی‌های موجود در ژن فاکتور رشد شبه انسولین و تعیین فراوانی الگوهای ژنوتیپی مختلف این جایگاه و نیز بررسی رابطه بین چندشکلی این الگوهای ژنوتیپی با صفات رشد، ترکیب اسیدهای چرب و برخی متابولیتهای خون در گوسفندان زل می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تعداد ۱۲۰ رأس گوسفند زل بطور تصادفی از بین گوسفندان که از اوسط تیر ماه تا اواخر شهریور ماه سال ۱۳۸۸ برای ذبح به کشتارگاه صنعتی آورده شده بودند انتخاب شده و مورد رکوردبرداری قرار گرفتند. گوسفندان مورد آزمایش در این مطالعه به صورت تصادفی از بین گوسفندان ارائه شده جهت فروش انتخاب گردیدند. بدین صورت که در خلال مدت داده برداری در هر هفته ۵ تا ۶ روز به کشتارگاه مراجعه می‌شد و به طور متوسط روزانه ۷ تا ۸ رأس گوسفند به طور تصادفی مورد رکورد برداری قرار می‌گرفت. گوسفندان مورد مطالعه بین سنین مختلف و تحت شرایط اقلیمی، پرورشی و مدیریتی متفاوتی قرار داشتند. خونگیری‌ها با استفاده از ونوجکت‌های EDTA دار انجام و سپس دام‌ها کشتار شده و عملیات تفکیک لاشه و رکورد برداری صفات شامل وزن زنده، وزن لاشه

آنالیز ژنتیکی اگزون ۴ IGF-I و ارتباط آن با صفات لاشه و ترکیب اسیدهای چرب و متابولیت‌های خون در گوسفند...

گرم، بازده لاشه، ضخامت چربی پشت بین دنده دوازده و سیزده، پروتئین خام گوشت صورت گرفت. از طرفی سرم پلاسما بوسیله سانتریفیوژ نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ g جداسازی و جهت تعیین ترکیبات اسیدهای چرب (تری گلیسرید، کلسترول، اسیدهای چرب مریستیک اسید، پالمیتیک و پالمیتولئیک) به آزمایشگاه فرستاده شد. در این مدت نمونه‌ها در میکروتیوب ۱/۵ میلی لیتری در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند. استخراج DNA از بافت ماهیچه بوسیله کیت شرکت بایوتک با پروتکل اختصاصی توصیه شده انجام شد. کمیت و کیفیت DNA استخراج شده با روش اسپکتروفوتومتری و روش الکتروفورز روی ژل آگارز (۱%) تعیین شد (شکل ۱). برای انجام واکنش PCR از مواد مخصوص PCR شرکت GENNET جهت تکثیر رشته‌ی مورد نظر استفاده شد. غلظت نهایی واکنش ۲۵ میکرولیتر بود که به شرح در جدول ۱ آمده است:



شکل ۱- طیف الکتروفورز DNAهای استخراج شده بر روی ژل آگارز (۱%)

جدول ۱- غلظت مواد مورد استفاده برای انجام PCR

غلظت نهایی	مقدار مورد استفاده	نام ماده
1.5 Mm/μL	1.5 μL	MgCl ₂
1 X	2.5 μL	PCR buffer
0.8 Mm/μL	2 μL	dNTPs
0.5 pm/μL	1.25 μL	Primer (Forward)
0.5 pm/μL	1.25 μL	Primer (Reverse)
0.06 unit/μL	0.3 μL	Taq DNA Polymerase
-	2 μL	DNA
-	14.2 μL	dH ₂ O

با استفاده از پرایمرهای طراحی شده، یک قطعه ۲۶۵ جفت بازی از اگزون ۴ ژن فاکتور رشد شبه انسولین بوسیله واکنش چند زنجیره‌ای پلی‌مرز تکثیر شد. توالی آغازگرها به شرح زیر می‌باشد:

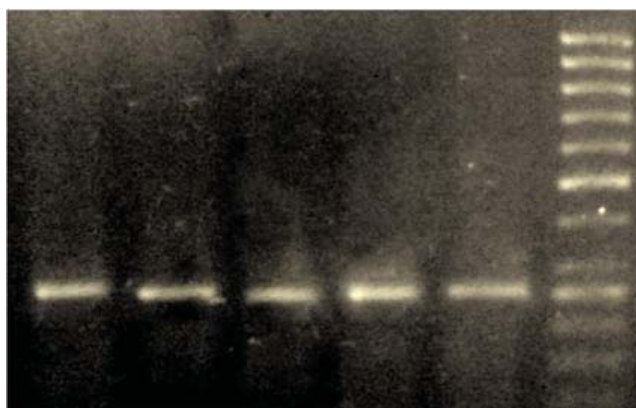
Forward	Reverse
5'-ATTACAG CTGCCTGCCCTT-3'	5'-CACATCTGCTTACACCTTACCCG-3'

تکثیر قطعه مورد نظر با استفاده از دستگاه ترموسایکلر نوع TECHNE انجام شد.

جدول ۲- برنامه مورد استفاده در انجام واکنش PCR

مرحله	زمان	دما	تعداد چرخه
واسرشت سازی اولیه DNA	۴ دقیقه	۹۴°C	یک چرخه
واسرشت سازی DNA	۴۵ ثانیه	۹۵°C	
اتصال آغازگر به DNA	۵۰ ثانیه	۵۸°C	۳۵ چرخه
بسط	۱ دقیقه	۷۲°C	
تکمیل بسط	۲ دقیقه	۷۲°C	یک چرخه

الکتروفورز محصولات PCR روی ژل آگارز ۲ درصد با ولتاژ ۸۸ ولت و مدت ۳۰ دقیقه صورت گرفت و ژل مربوطه پس از رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید زیر اشعه ماورای بنفش بررسی شدند. به منظور انجام SSCP، رشته‌های DNA تکثیر شده با استفاده از SSCP dye به نسبت ۱۶ به ۴ به مدت زمان ۱۰ دقیقه در دمای ۹۶°C تک‌رشته‌ای شدند و بلافاصله پس از این مرحله در داخل یخ قرار گرفتند. الکتروفورز محصولات تک‌رشته‌ای شده روی ژل اکریل آمید ۱۲ درصد با ولتاژ ۷۲۰ V به مدت ۱۷ ساعت جهت بررسی چند شکلی‌ها انجام و رنگ آمیزی ژل با استفاده از نترات نقره طی سه مرحله تثبیت، لکه-گذاری و ظهور صورت گرفت.



شکل ۲- قطعه ۲۶۵ جفت بازی حاصل از تکثیر ژن IGF1 روی ژل آگارز ۲%



شکل ۳- الگوهای ژنوتیپی حاصل از تکثیر اگزون ۴ زن IGF1 (ژل اکریل‌آمید).

تجزیه آماری ژنوتیپ‌ها

پس از انجام مراحل آزمایشگاهی و تعیین الگوهای بانندی تمام نمونه‌ها، شمارش ژنوتیپ‌ها و تعیین فراوانی ژنوتیپ‌ها انجام و توسط نرم‌افزار آماری SAS مورد آنالیز آماری قرار گرفت.

روش آماری

خونگیری برای انجام استخراج DNA و گرفتن پلاسما جهت اندازه‌گیری پارامترهای خونی صورت می‌گرفت. پس از خونگیری، گوسفندان به روش مرسوم در کشتارگاه صنعتی، ذبح شدند و بعد از خونگیری، پوست کنی، تخلیه امعاء و احشاء از حفره بطنی، ارزیابی لاشه از نظر بهداشتی توسط دامپزشک صورت می‌گرفت. اندازه‌گیری ضخامت چربی پشت در ناحیه بین دنده دوازده و سیزده با استفاده از کولیس انجام می‌گرفت. در مرحله آخر وزن لاشه گرم توزین و ثبت می‌گردد. در این تحقیق پس از تعیین ژنوتیپ تک تک دامها برای جایگاه مورد بررسی، این اطلاعات به همراه داده‌های مربوط به وزن زنده، وزن لاشه گرم، بازده لاشه، ضخامت چربی پشت بین دنده دوازده و سیزده، پروتئین خام گوشت، تری‌گلیسرید خون، کلسترول خون، اسیدهای چرب (شامل: مرستیک اسید، اسید پالمیتیک، اسید پالمیتوئیک)، سن دام و جنس وارد برنامه Excel و پس از ویرایش وارد برنامه SAS شده و

با رویه GLM تجزیه تحلیل شدند. در این آزمایش اثر ژنوتیپ‌های IGF1 و سن در زمان کشتار و جنس حیوان به‌عنوان عامل ثابت و اثر وزن مربوط به وزن حیوان هنگام کشتار به عنوان کوواریت در مدل قرار داده شد. معادله‌ی مدل مورد استفاده برای آنالیز تمامی صفات به شکل زیر بود:

$$Y_{ijklko} = \mu + Age_i + G_j + S_k + b(W_{ijklko} - \bar{W}) + (AG)_{ij} + e_{ijklko}$$

y_{ijklko} : هر یک از مشاهدات مربوط به صفات
 Age_i : اثر آامین سن حیوان در هنگام کشتار
 S_k : اثر kامین جنس
 W_{ij} : وزن دام‌ها در هنگام خونگیری
 e_{ijklko} : اثر عامل تصادفی باقیمانده
 μ : میانگین صفت در جمعیت
 G_j : اثر jامین ژنوتیپ ژن IGF1
 b : ضریب تابعیت صفت روی وزن دام‌ها در هنگام خونگیری
 W : میانگین وزن دام‌ها در هنگام خونگیری

نتایج و بحث

طی واکنش PCR، قطعه ۲۶۵ جفت بازی اگزون ۴ ژن فاکتور رشد شبه انسولین (IGF1) تکثیر شد (شکل ۱). سپس الگوهای ژنوتیپی حاصل از SSCP نمونه‌ها (شکل ۲) مشخص شد که بیانگر ۳ الگوی تنوع این جایگاه در گوسفند زل بود که فراوانی آنها محاسبه و گزارش گردید (جدول ۳). فراوانی‌های ژنوتیپی بر اساس بررسی در جدول ۳ آورده شده است. ژنوتیپ‌های ۱، ۲ و ۳ مربوط به ژن IGF1 در گوسفندان زل به ترتیب با فراوانی‌های ۵۶/۶۷، ۳۶/۶۷ و ۶/۶۷ درصد مشاهده شدند.

ملاحظه می‌شود که بیشترین فراوانی ژنوتیپی مربوط به ژنوتیپ اول می‌باشد. این الگوهای ژنوتیپی متفاوت بین افراد درون یک نژاد بیانگر وجود جهش‌های تک نوکلئوتیدی است که سبب بروز تفاوت‌های ژنتیکی بین افراد درون یک نژاد شده است. حاجی حسینلو (۱۳۹۰) نیز فراوانی سه الگوی بانده I1، I2 و I3 را در گوسفند نژاد ماکوئی به ترتیب ۰/۰۶، ۰/۴۲ و ۰/۵۲ گزارش کردند.

جدول ۳- فراوانی الگوهای ژنوتیپی مرتبط با ژن IGF1 در گوسفند زل

فراوانی ژنوتیپی (درصد)	الگوی ژنوتیپی IGF1
۵۶/۶۷	ژنوتیپ ۱
۳۶/۶۷	ژنوتیپ ۲
۶/۶۷	ژنوتیپ ۳

تأثیر چند شکلی زن IGF-I بر صفات

همانطور که نتایج آنالیز واریانس صفات لاشه در جدول ۴ نشان می‌دهد، اثر ژنوتیپ‌های IGF-I تنها بر صفت ضخامت چربی پشت ($P < 0.01$) و وزن لاشه گرم ($P < 0.05$) معنی‌دار شد و بر سایر صفات لاشه شامل وزن کشتار، بازده لاشه، پروتئین خام، غیر معنی‌دار بود ($P > 0.05$).

جدول ۴- میانگین حداقل مربعات (LSM±SE) اثرالگوهای ژنوتیپی مختلف IGF1 بر صفات لاشه و پارامترهای خونی در

گوسفند زل

ژنوتیپ			صفت
الگوی ۳	الگوی ۲	الگوی ۱	
۳۵/۸۸±۱/۱۶	۳۲/۰۰±۴/۴۱	۳۴/۰۰±۳/۴۹	وزن کشتار (کیلوگرم) ^{n.s}
^a ۱۵/۸۳±۱/۸۲	^b ۱۱/۸۳±۱/۰۰	^a ۱۳/۱۵±۰/۷۸	وزن لاشه گرم (کیلوگرم)*
۴۶/۲۵±۵/۳۴	۳۳/۶۶±۲/۹۴	۳۷/۱۶±۲/۲۹	بازده لاشه درصد) ^{n.s}
^b ۰/۶۸±۰/۰۵	^{ab} ۱/۲۸±۰/۵۸	^a ۲/۳۹±۰/۴۵	ضخامت چربی پشت (میلی متر)**
۱۸۰/۵۶±۱/۱۸	۱۷۸/۹۷±۰/۶۵	۱۷۸/۸۷±۰/۵۰	پروتئین خام (گرم در کیلوگرم لاشه) ^{n.s}
۳۸/۵۳±۱۱/۷۰	۲۳/۸۴±۶/۳۳	۲۸/۳۵±۴/۹۲	تری‌گلیسرید (میلی گرم در دسی لیتر) ^{n.s}
۸۵/۷۴±۲۷/۴۸	۸۰/۷۵±۱۴/۸۷	۶۷/۹۵±۱۱/۵۵	کلسترول (میلی گرم در دسی لیتر) ^{n.s}

در مقایسه سه الگوی ژنوتیپی برای ضخامت چربی پشت ژنوتیپ ۱ با میانگین $۰/۳۹±۰/۴۵$ بطور معنی‌داری از ژنوتیپ ۳ با میانگین $۰/۶۸±۱/۰۵$ ضخامت چربی پشت بیشتری داشت، اما ژنوتیپ ۲ با هیچکدام از دو ژنوتیپ دیگر تفاوت معنی‌داری نداشت.

این نتایج با دستاوردهای توماس و همکاران (۲۰۰۷) که اثر معنی‌دار چند شکلی در این ژن را روی وزن بدن گوسفند گزارش کردند متناقض بود. همچنین طهمورث پور و همکاران (۱۳۸۷) اثر ژنوتیپ این ژن را بر افزایش وزن روزانه از تولد تا سه ماهگی معنی‌دار گزارش نمودند و پیشنهاد استفاده از اطلاعات این ژن را در شاخص انتخاب گوسفندان بلوچی را دادند. نتایج آنالیز واریانس پارامترهای خونی که در جدول ۴ ارائه شده است، نشان می‌دهد که اثرات ژنوتیپ‌های مختلف زن‌های IGF-I برای تری‌گلیسرید و کلسترول خون معنی‌دار نبودند ($P > 0.05$)، اما در مقایسه ژنوتیپ سوم برای هر دو صفت دارای میانگین تری‌گلیسرید و کلسترول بالاتری

در خون نسبت به دو ژنوتیپ دیگر بود. از سوی دیگر نتایج آنالیز واریانس ترکیبات اسیدهای چرب که در جدول ۵ ارائه شده که نشان می‌دهد اثر ژنوتیپ‌های IGF-1 بر هیچ یک از اسیدهای چرب مریستیک اسید، اسید پالمیتیک و اسید پالمیتولئیک معنی‌دار نبوده است ($P>0.05$). این نتایج نشان می‌دهد که اسیدهای چرب موجود در خون نیز همانند پروفایل تری گلسرید و گلسترول متأثر از این جایگاه ژنی نیست و هیچگونه ارتباط معنی‌دار بین این ژن فاکتور رشد شبه انسولین و پارامترهای مرتبط با چربی لاشه و خون وجود ندارد.

جدول ۵- میانگین حداقل مربعات (LSM±SE) اثر ژنوتیپ‌های مختلف IGF بر ترکیبات اسیدهای چرب در گوسفند زل

الگوهای ژنوتیپی ژن IGF			
۳	۲	۱	صفت (اسید چرب)
۲/۷۵±۱/۰۵	۲/۰۰±۰/۵۷	۲/۵۳±۰/۴۵	C14:0 (مریستیک اسید)
۲۴/۵۷±۳/۳۱	۲۶/۵۵±۱/۷۹	۲۶/۱۵±۱/۴۲	C16:0 (اسید پالمیتیک)
۵/۲۸±۱/۳۸	۴/۱۳±۰/۷۵	۳/۷۵±۰/۵۹	C16:1 (اسید پالمیتولئیک)

از آنجایی که ژن فاکتور رشد شبه انسولین نقش کلیدی در محور سوماتوتروپیک دارد و همچنین به عنوان یک مارکر مولکولی مهم در بررسی صفات رشد و تولیدمثلی در دام‌های مزرعه‌ای می‌تواند استفاده شوند و با توجه به اینکه داده‌های این تحقیق مربوط به صفات لاشه و برخی اسیدهای چرب موجود در خون است و ارتباط بین الگوهای ژنوتیپی و اکثر این صفات غیر معنی‌دار بود و تنها دو صفت وزن لاشه گرم و ضخامت چربی پشت ارتباط معنی‌دار از خود نشان دادند از اطلاعات ژنتیکی این جایگاه فقط در انتخاب برای این صفات میتوان استفاده نمود.

منابع

- ۱- حاجی حسینلو. ع، ن. پیرانی، ع. هاشمی، ف. فیلکوش مقدم و ش. جعفری. ۱۳۹۰. بررسی چند شکلی ژن IGF1 با استفاده از PCR-SSCP در گوسفند ماکویی. اولین همایش ملی نقش بیوتکنولوژی در علوم دامی. دانشگاه صنعتی اصفهان.
- 2- Abdolmohammadi A, Moradi shahrehabak M, Mehrabani Yeganeh H (2008). Study of Genetic Variation for Four Candidate Genes Using PCR-RFLP and HRM and Their Association with Reproduction and Production Traits in Holstein Cows of Iran. Thesis of Ph.D. University of Tehran.
- 3- Beuzen, N. D., M. J. Stear and K. C. Chang. 2000. Molecular markers and their use in animal breeding. *The Veter. J.* 160: 42–52.
- 4- Curia RA, De HN, Oliveirab A, Silveirab C, Lopesa CR. 2005. Association between IGF-I, IGF-IR and GHRH gene polymorphisms and growth and carcass traits in beef cattle . *Livestock Production Science.* 94: 159–167..
- 5- Ge, W., Davis, M.E., Hines, H.C., Irvin, K.M., Simmen, R.C., 2001. Association of a genetic marker with blood serum insulin-like growth factor-I concentration and growth traits in Angus cattle. *J. Anim Sci.* 79, 1757-1762.
- 6- Ge, W., Davis, M.E., Hines, H.C., 1997. Two SSCP alleles detected in the 5'-flanking region of bovine IGF-I gene. *J. Anim. Genet.* 28, 155-156.
- 7- Islam K, Vinsky KM, Crews REE, Okine S, Moore S, Crews DH. 2009. Association analyses of a SNP in the promoter of IGF1 with fat deposition and carcass merit traits in hybrid, Angus and Charolais beef cattle. *Animal Genetics.* 40: 766–769.
- 8- Li CJB, Snelling WM, Benkel B, Kneeland J, Murdoch B, Hansen C, Moore SS. 2004. Identification and fine mapping of quantitative trait loci for backfat on bovine chromosomes 2, 5, 6, 19, 21, and 23 in a commercial line of *Bos taurus*. *J Anim Sci.* 82: 967-972.
- 9- Rashidi A, Mokhtari MS, Jahanshahi A, Abadi M. 2008. Genetic parameter estimates of pre-weaning growth traits in Kermani sheep. *Small Ruminant Research.* 74:165-171.
- 10- Sherman EL, Nkrumah JD, Murdoch BM, Li C, Wang Z, Fu A, Moore SS. 2008. Polymorphisms and haplotypes in the bovine neuropeptide Y, growth hormone receptor, ghrelin, insulin-like growth factor 2, and uncoupling proteins 2 and 3 genes and their associations with measures of growth,

performance, feed efficiency, and carcass merit in beef cattle. *J Anim Sci* . 86: 1-16.

11- Siadkowska, E., Zwierzchowski, L., Oprządek, J., Strzałkowska, N., Bagnicka, E., Krzyżewski, J., 2006. Effect of polymorphism in IGF-I gene on production traits in Polish Holstein-Friesian cattle. *J. Anim. Sci.* 24, 225-237.

12- Tahmoorespur. M, Mehdi VafayeValeh, Mohammad Reza Nasiry, mousavi and Ansary. 2009. Association of the polymorphism in the 5 flanking region of the ovine IGF-1 gene With growth trait in the Baluchi sheep .*South African Journal of Animal Science.*39 (Supplement 1) 97-101.

13- Thomas MG, Enns RM, Shirley KL, Garcia MD, Garrett AJ, Silver GA. 2007. Associations of DNA polymorphisms in growth hormone and its transcriptional regulators with growth and carcass traits in two populations of Brangus bulls. *Genet. Mol. Res.* 6: 222-237.

14 – yilmaz A, michael E, Harold D, Hines C, Chung H. 2005. Detection of two nucleotide substitutions and putative promoters In the 5' flanking region of the ovine IGF-I gene . *J Appl Genet* 46(3): 307-309.

Genetic Analysis of Exon 4 in Ovine IGF-I Gene and Its Association with Carcass Traits and Fatty Acids Profiles in Zel Sheep

A. Ghazikhani Shad*¹, H. Moradi Shahrabak.², M. Sadeghi² and R. Faraji²

Received Date: 16/01/2013

Accepted Date: 17/03/2013

Abstract

Insulin-like growth factor (IGF-I) is a small peptide (7500 Da) with a structure similar to insulin, the hormone that plays an important role in the development of various tissues of the body which transcribes by the IGF1 gene. Insulin-like growth factor gene is located on chromosome 3 of the sheep genome. The purpose of our work is to study polymorphism of IGF-1 gene and its association with carcass traits and fatty acids profile in Iranian Zel sheep breed (a tailed sheep breed) using PCR-SSCP. In this study 30 sheep were sampled. To check the fatty acids, 6ml blood was collected by venojects containing EDTA and immediately centrifuged (10 min, 3000g) to separate the serum and plasma liquid. DNA was extracted from muscle tissue by extraction kit (BIOTECH company). The polymerase chain reaction (PCR) used to amplify 265 bp fragment of exon 4 of IGF-1. For genotyping of animals, PCR products were electrophoresed in polyacrylamide gel (method SSCP) and stained with silver nitrate. The results indicated the different pattern due to polymorphism pattern. Frequency of 1, 2 and 3 were 56.57, 67.36 and 66.6 percent, respectively. Data were analyzed using SAS software. IGF1 gene has significantly associated with carcass weight and back fat thickness. The genotype patterns had no significant association with other carcass traits and fatty acids profiles.

Keywords: Ovine IGF-I Gene, Polymorphism, PCR-SSCP, Fatty Acids Profile

1- Department of Animal Science, Islamic Azad University, Saveh Branch, Saveh, Iran.

2- Department of Animal Science, Faculty of Agricultural Science and Engineering, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Alborz, Iran.

*Corresponding author: (A.ghazikhani@iauh.ac.ir)