

تعیین چندشکلی ژن‌های *POUIF1* و *STAT5A* و ارتباط آنها با صفات تولید شیر در گاو

سونیا زکی زاده^{۱*} - رامین حائری^۲، اکبر سلیمانی^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۹/۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۸/۱۹

چکیده

ژن‌های کاندیدا برای صفات خاص، ژن‌های توالی‌یابی شده‌ای هستند که فعالیت بیولوژیکی آنها شناخته شده است. در این میان نقش ژن‌های *POUIF1* و *STAT5A* روی صفات تولید شیر گاو در تحقیقات مورد بررسی قرار گرفته است. ژن *POUIF1* روی نسخه‌برداری پرولاکتین و هورمون رشد تأثیر دارد و ژن *STAT5A* به عنوان تنظیم کننده اصلی فعالیت هورمون رشد در سلول‌های هدف و مبدل سیگنال داخل سلولی پرولاکتین عمل می‌کند. از آنجا که این ژن‌ها برای توسعه و تکامل سیستم پستانی و تولید شیر مهم هستند، هدف از این تحقیق بررسی چندشکلی جایگاه آنها و ارتباطشان با ارزش اصلاحی صفات تولید شیر در گاوهای براون سوییس بود. بدین منظور ۹۰ رأس گاو شیری بطور تصادفی خونگیری شدند. استخراج DNA از خون تام به روش نمکی تغییر یافته انجام گرفت و واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز (PCR) جهت تکثیر قطعات مورد نظر انجام شد. قطعات تکثیر شده با آنزیم‌های محدودالتر اختصاصی هضم و ژنوتیپ‌ها تعیین شدند. فراوانی ژنی و ژنوتیپی، شاخص‌های هتروزیگوتی، تعداد آلل مؤثر و واقعی، برآورد ارزش اصلاحی صفات تولیدی و ارتباط ژنوتیپ با ارزش اصلاحی صفات، در این تحقیق مورد بررسی قرار گرفت. فراوانی آلل‌های A و C ژن‌های *POUIF1* و *STAT5A* به ترتیب ۰/۴۵۵ و ۰/۴۸۹ و آلل‌های B و T این جایگاه‌ها به ترتیب ۰/۵۴۵ و ۰/۵۱۱ برآورد شد. جمعیت مورد مطالعه در هر دو جایگاه در تعادل هاردی واینبرگ بود. ارتباط معنی‌داری بین جایگاه‌های مورد مطالعه و ارزش اصلاحی صفات پیدا نشد، اگرچه آلل *POUIF1**B گرایش به تولید شیر بیشتر و *POUIF1**A تمایل به تولید بالاتر درصد چربی شیر و پروتئین نشان دادند.

واژه‌های کلیدی: *STAT5A*، *POUIF1*، صفات تولید شیر، براون سوییس، ارزش اصلاحی.

مقدمه

STAT5A گاوی اشاره نمود که با آنزیم‌های محدودالتر *HinfI* و *MspII* قابل شناسایی است (۱۵، ۲۴).

فاکتور اختصاصی مؤثر بر نسخه‌برداری در هیپوفیز یا *PIT-1*^۳ پروتئینی با ۲۹۱ اسید آمینه است که ناحیه POU برای باند شدن با DNA دارد. مشخص شده است که *PIT-1* فاکتور مهم اختصاصی سلول برای فعال کردن نسخه‌برداری ژن‌های پرولاکتین و هورمون رشد در هیپوفیز پیشین است. همچنین سایر ژن‌های هیپوفیز مانند خود *POUIF1* و زیر واحد بتای هورمون تحریک کننده تیروئید^۴ را فعال می‌کند (۵). از آنجایی که پرولاکتین و هورمون رشد برای توسعه و تکامل سیستم پستانی و تولید شیر مهم هستند، ژن *POUIF1* به عنوان ژن کاندید برای تنوع صفات تولید شیر، مطرح است (۲۱). این ژن روی کروموزوم ۱ گاو قرار دارد و تاکنون چندشکلی‌های متعددی از آن در گاو گزارش شده است. از مهم‌ترین این چندشکلی‌ها می‌توان به جهش تک نوکلئوتیدی در اگزون ۶ اشاره کرد که دارای دو آلل A

ژن‌های کاندیدا برای یک صفت خاص، عبارت از ژن‌های توالی-یابی شده‌ای هستند که فعالیت بیولوژیکی آنها شناخته شده است. بر اساس فرضیه ژن کاندیدا بخش اعظمی از تنوع ژنتیکی صفات کمی به واسطه تنوع نوع عمل ژن‌هایی است که مستقیماً در فیزیولوژی و یا تولید دخیل هستند. اعتقاد بر این است که چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی (SNP) در بعضی ژن‌ها رخ داده و ممکن است روی محصول ژن و یا حداقل روی نشانگر DNA نواحی فرودست ژنوم تأثیر بگذارند (۶). برخی از چندشکلی‌های شناخته شده در گاو توسط آنزیم‌های محدودالتر قابل شناسایی هستند. از جمله این نواحی می‌توان به اینترون ۵ و اگزون ۶ ژن *POUIF1* و اگزون ۱۶ ژن

۱- استادیار ژنتیک و اصلاح نژاد دام، گروه علوم دامی موسسه آموزش عالی علمی کاربردی جهاد کشاورزی.

۲- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد و استادیار گروه علوم دامی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کاشمر.

*-نویسنده مسئول: (Email: sonia_zaki@yahoo.com)

3- Pituitary- Specific Transcription Factor 1
4- Thyroid-Stimulating Hormone- β

استخراج نمکی تغییر داده شده^۲ (۱۴) انجام شد. کمیت DNA استخراج شده با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر اندازه گیری و کیفیت آن از طریق الکتروفورز بررسی شد.

واکنش PCR و اجزای آن

واکنش PCR با استفاده از ۵۰ نانوگرم DNA ژنومی، ۰/۲ میلی مولار dNTP، ۲/۵ میلی مولار $MgCl_2$ ، بافر PCR 1X و یک واحد آنزیم Taq پلیمرز و در حجم ۲۵ میکرولیتر انجام گرفت. برای ژن *STAT5* از مقدار ۰/۵ پیکومول از هر پرایمر و برای ژن *POUIF1* از ۰/۲ پیکومول از هر پرایمر استفاده گردید. توالی پرایمرهای استفاده شده در جدول ۱ آورده شده است.

برای ژن *STAT5* دور اول واکنش PCR از رژیم حرارتی ۹۴ درجه به مدت ۲ دقیقه و سپس برای ۳۴ دور از شرایط دمایی ۹۴ درجه سانتیگراد ۱ دقیقه، ۶۱ درجه سانتیگراد ۱ دقیقه و ۷۲ درجه سانتیگراد ۱ دقیقه و دور انتهایی ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۳ دقیقه استفاده شد. شرایط حرارتی تکثیر ژن *POUIF1* در دور اول واکنش به صورت ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۲ دقیقه، ۵۶ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۴۰ ثانیه انجام شد. در ۳۵ سیکل بعدی حرارت ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۱ دقیقه، ۵۶ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۴۰ ثانیه اعمال گردید. بسط نهایی شامل ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه بود.

تعیین ژنوتیپ

به منظور هضم آنزیمی، محصولات تکثیر شده هر دو ژن با استفاده از آنزیمهای اختصاصی (*HinfI*) برای ژن *POUIF1* و *MspI* برای ژن *STAT5* (در حجم ۲۰ میکرولیتر و با مصرف ۵ واحد آنزیمی در ۳۷ درجه و به مدت لازم (طول شب برای ژن *POUIF1* و ۳ ساعت برای *STAT5*) گرمخانه گذاری گردید. محصولات هضم روی ژل آگارز ۲٪ حاوی اتیدیوم بروماید با ولتاژ ۹۰ و به مدت ۷۵ دقیقه الکتروفورز و تحت لامپ ماوراء بنفش ژنوتیپها تعیین شدند. برای اطمینان از صحت قطعه تکثیر شده و قطعات حاصل از برش آنزیمی، از نشانگر M100 استفاده شد. سایت برش آنزیم *HinfI* به صورت زیر

5... G↓ANTC...3
3... C TNA↑G...5

و سایت برش آنزیم *MspI* (*RseI*) به صورت زیر است:

5...CAYNN ↓ NNRT G...3
3...GTRNN ↓ NNYA C...5

و B است (۲۶). در تحقیقات متعددی ارتباط بین چندشکلی های مختلف ژن *POUIF1* با صفات رشد و تولید گوشت و لاشه (۲۰، ۸، ۲۷)، صفات تولیدی شیر (۹، ۱۷، ۱۳)، طول عمر (۱۳)، صفات تیپ مانند عمق بدن، زاویه دار بودن و فرم پاها (۲۱) مورد بررسی قرار گرفته است.

توالی یابی DNA برای بررسی چندشکلی اگزون ۱۶ ژن *STAT5A* گاوی حاکی از حذف نوکلئوتید C در موقعیت ۱۲۵۴۹ در اینترون ۱۵ و همچنین جایگزینی نوکلئوتید T به C (T→C) در موقعیت ۱۲۷۴۳ در اگزون ۱۶ است که سبب جانشینی اسید آمینه والین به جای آلانین در موقعیت ۶۸۶ می شود (۶، ۱۱). مبدل سیگنال و فعال کننده نسخه برداری یا *STAT*^۱ به عنوان پروتئینی شناخته شده است که در انتقال سیگنال از گیرنده های سیتوکین به ژن *STAT5* به اندازه ۴۰ Kb از منطقه *STAT* ها قرار گرفته و ژن های *STAT5B*، *STAT3* را هم در بر می گیرد (۱۸، ۲۲). ژن *STAT* گاوی ۱۵۹۴۷ جفت باز دارد که شامل ۱۹ اگزون کدکننده است. این ژن اسید آمینه ای به طول ۷۹۴ زنجیره را کد می کند (۱۱، ۲۲) و تاکنون تعداد هشت فاکتور رونویسی *STAT* شناسایی شده است که در تنظیم بیان ژن در پاسخ به سیگنال های گیرنده های سیتوکین دخیل می باشد (۱۲). در ابتدا پروتئین *STAT5* با نام فاکتور غدد پستانی^۲ (MGF) شناخته می شد، زیرا در غدد پستانی گوسفند کشف شده بود و گمان می رفت که در انتقال سیگنال از پرولاکتین به ژن های پروتئین شیر و در نتیجه افزایش بیان ژن پروتئین شیر تأثیر داشته باشد (۳، ۲۱). لذا، به عنوان ژن های کاندیدای پیشنهادی مرتبط با میزان پروتئین و درصد پروتئین شیر در گاوهای شیری مطرح شدند (۴، ۲۳).

به نظر می رسد با توجه به وظایف مهم فیزیولوژیکی ژن های *POUIF1* و *STAT5* در میان ژن های کاندید مختلف، انواع ژنوتیپ آنها روی صفات تولید شیر داشته باشد (۶). لذا، هدف از این تحقیق بررسی چندشکلی در جایگاه های ژنی *STAT5* و *POUIF1* و ارتباط آن با ارزش های اصلاحی صفات تولید شیر در گاوهای نژاد براون سوئیس بود.

مواد و روش ها

خونگیری و استخراج DNA

در این تحقیق از نمونه خون تعداد ۹۰ رأس گاو شیری نژاد براون سوئیس که دارای ثبت مشخصات و شجره، رکورد تولید شیر، چربی و پروتئین بودند، استفاده شد. استخراج DNA از خون تام و به روش

- 1- Signal Transducers and Activates of Transcription
- 2- Mammary gland factor

جدول ۱- مشخصات پرایمرهای استفاده شده برای هر ژن

نام ژن	توالی پرایمر	اندازه قطعه	محل تکثیر	منبع
POU1F1	F: 5'- AAA CCA TCA TCT CCC TTC TT-3' R: 5'- AAT GTA CAA TGT GCC TTC TGA G-3'	۴۵۱	اینترون ۵ و آگزون ۶	۲۴
STAT5	F: 5'- AGC CCT ACA GCT CCA ATC CT-3' R: 5'- GGG TGT ACC CGC TGC TTA G-3'	۲۸۱	آگزون ۱۶	۱۱

شد و نمونه‌هایی که آلودگی نداشتند برای ادامه فعالیت آنزیمی انتخاب شدند. در غیر این صورت PCR مجدد انجام شد.

تعیین ژنوتیپ ژن POU1F1

با توجه به سایت برش آنزیم در اینترون شماره ۵ و آگزون شماره ۶ این جایگاه ژنی، یک جهش نقطه‌ای G به A اتفاق می‌افتد که با توجه به توالی آن، توسط آنزیم *HinfI* شناسایی می‌شود. چنانچه قطعه تکثیر شده برش نخورد، آلل A و در صورت شناسایی شدن توسط آنزیم، آلل B تشخیص داده خواهد شد. لذا افراد هموزیگوت AA دارای یک قطعه دست نخورده به طول ۴۵۱ جفت باز بوده و افراد هموزیگوت BB با دو باند ۲۴۴ و ۲۰۷ روی ژل تشخیص داده می‌شوند و افراد هتروزیگوت دارای ۳ باند هستند (شکل ۱).

تعیین ژنوتیپ ژن STAT5A

قطعه حاوی ۲۸۱ جفت باز تکثیر شده از ژن *STAT5A* با استفاده از آنزیم *MslI (RseI)* مورد هضم قرار گرفت. در آگزون شماره ۱۶ جایگاه ژنی *STAT5A* یک جهش نقطه‌ای اتفاق می‌افتد و T به C تبدیل می‌شود که در اثر این تبدیل اسید آمینه والین به آلانین در موقعیت ۶۸۶ تغییر می‌کند. این ژن دارای دو آلل است که با حروف T و C علامت گذاری می‌شوند. آنزیم برش دهنده *MslI (RseI)* در توالی تکثیر شده دارای دو منطقه شناسایی برای آنزیم است. منطقه اول که آنزیم سایت برشی آن را شناسایی می‌کند باعث برش قطعه تکثیر شده به دو قطعه ۱۶۹ و ۱۱۸ جفت بازی ایجاد می‌شود. اگر جهش اتفاق افتاده باشد، آنگاه قطعه ۱۱۸ جفت بازی به دو قطعه ۶۷ و ۵۱ جفت باز تقسیم می‌گردد که بدین طریق آلل C تشخیص داده می‌شود. در نتیجه اگر فرد هموزیگوت CC باشد، روی ژل فقط ۲ باند دیده خواهد شد. به همین ترتیب، افراد هموزیگوت TT دارای ۳ قطعه ۱۶۹، ۶۷ و ۵۱ باز خواهند بود و در صورتی که ژنوتیپ افراد هتروزیگوت (TC) باشد، روی ژل قطعات ۱۶۹، ۱۱۸، ۶۷ و ۵۱ جفت باز ایجاد می‌شود (شکل ۲).

Y به مفهوم یکی از نوکلئوتیدهای پرمیدین (C/T) است و R برای پورین‌ها (A/G) به کار می‌رود. N به معنای آن است که هر نوکلئوتیدی باشد، فرق نمی‌کند.

سپس با استفاده نرم‌افزار آنالیز اطلاعات ژنتیک جمعیت Pop Gene و برایش ۱/۳۱ (۲۵) فراوانی‌های آلی و ژنوتیپی محاسبه شد. فراوانی‌های آلی و ژنوتیپی، هتروزیگوتی مشاهده شده و مورد انتظار، شاخص نئی و شانون و تعادل هاردی وینبرگ در سطح ۰/۰۵ بررسی گردید.

مطالعه ارتباط ژنوتیپ‌ها با ارزش اصلاحی صفات تولیدی

ارزش اصلاحی صفات تولید شیر، درصد چربی و پروتئین شیر دوره اول شیردهی ۱۰۲۴ گاو حاصل از ۵۵ پدر و ۲۲۰ مادر، با استفاده از مدل ۱ نرم افزار DFREML پیش‌بینی شد. مدل شامل اثرات ثابت سال-فصل زایش و متغیر کمکی تعداد روزهای شیرواری و اثرات تصادفی شامل اثر حیوان و باقیمانده بودند.

$$Y = Xb + Za + e \quad (\text{مدل ۱})$$

Y، بردار ارزش‌های اصلاحی صفات تولید شیر؛ b، بردار عوامل اثرات ثابت (سال-فصل زایش، تعداد روزهای شیردهی)؛ X، ماتریسی که b را به Y ارتباط می‌دهد؛ a، بردار ارزش اصلاحی برای اثرات ژنتیک افزایشی مستقیم؛ Z، ماتریسی که اثرات ژنتیکی افزایشی مستقیم را به Y ارتباط می‌دهد.

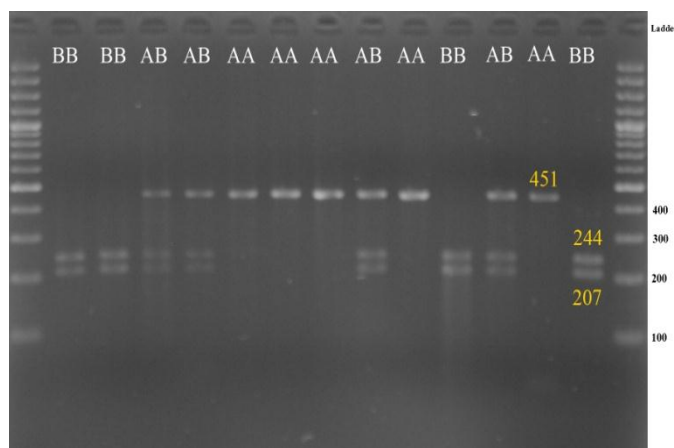
از ارزش‌های اصلاحی تعداد ۹۰ گاو گله که تعیین ژنوتیپ شده بودند، برای بررسی ارتباط بین ارزش اصلاحی صفات مورد مطالعه با چندشکلی جایگاه‌های مورد مطالعه، استفاده گردید. تجزیه و تحلیل آماری توسط نرم‌افزار SAS و مدل خطی زیر، در سطح معنی‌داری ۵ درصد انجام شد.

$$Y_{ijk} = G_i + e_{ij}$$

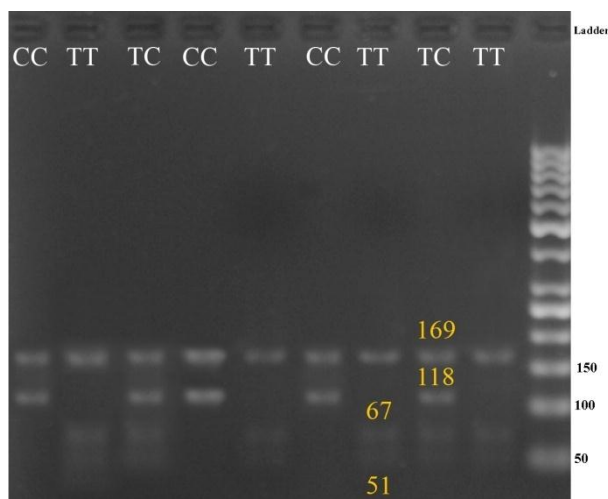
ارزش اصلاحی برآورده شده برای هر کدام از صفات تولیدی؛ G_i = اثر ثابت ژنوتیپ آم در جایگاه آگزون ۱۶ ژن *STAT5* و یا اینترون ۵ و آگزون ۶ ژن *POU1F1*، e_{ij} = اثر باقیمانده.

نتایج و بحث

محصولات PCR تکثیر شده روی ژل آگارز ۱/۵ درصد مشاهده



شکل ۱- انواع ژنوتیپ AA, AB و BB جایگاه *POUIF1* براساس هضم آنزیمی *Hinfl* روی ژل آگارز ۲٪ (نشانه ژنتیکی ۱۰۰bp)



شکل ۲- انواع ژنوتیپ در جایگاه *STAT5A* براساس هضم آنزیمی (*MslI/RseI*) روی ژل آگارز ۲ درصد (نشانه ژنتیکی ۱۰۰bp است)

تولید بالاتر درصد چربی شیر و پروتئین نشان دادند (جدول ۴). به دلیل عدم تفاوت آماری، نتایج *STAT5* آورده نشده است. در مطالعه حاضر فراوانی آلل A و B در جایگاه *POUIF1* به ترتیب برابر ۰/۴۵۵ و ۰/۵۴۴ برآورد گردید. فراوانی آلل B در نژادهای سیاه سفید لهستانی ۰/۷۵۷ (۹) و در نژاد Gyr ۰/۹۵ (۱۷) گزارش شده است. در هلشتاین فراوانی این آلل از ۰/۷۹ (۲۶) تا ۰/۸۴۵ (۱۳) و ۰/۸۵ (۱۵) برآورده شده است. در سایر نژادهای بومی نیز فراوانی آلل B بیشتر بوده است؛ مازندرانی ۰/۶۳ (۲۶)، سرابی ۰/۷۳ (۲۶)، گلپایگانی ۰/۶۶ (۲۶)، نجدی ۰/۸۲ (۳). در اکثر مطالعات فراوانی آلل A به مراتب کمتر از آلل B گزارش شده است که با نتایج این تحقیق همخوانی دارد. تفاوت فراوانی آلل B در این تحقیق می تواند به دلیل اثر نژاد باشد، این احتمال نیز وجود دارد که مقدار فراوانی این جایگاه با بررسی کل گله های دیگر نژاد براون سوئیس در کشور، فرق کند.

پس از تعیین ژنوتیپ قطعات هضم شده روی ژل آگارز ۲٪، فراوانی ژنی و ژنوتیپی، برآورد شاخص های هتروزیگوتی، نسی و شانون، تعداد آلل و کای مربع جایگاه ها محاسبه شد که در جدول ۲ آورده شده است. شاخص کای مربع جدول حاکی از آن است که جمعیت مورد مطالعه در هر دو جایگاه ژنی در تعادل هاردی- واینبرگ است.

پیش بینی ارزش اصلاحی صفات تولیدی و ارتباط آن با انواع ژنوتیپ

نتایج برآورد پارامترهای ژنتیکی و فنوتیپی و پیش بینی ارزش اصلاحی صفات تولیدی در جدول ۳ نشان داده شده است. در این تحقیق ارتباط معنی داری بین جایگاه های مورد مطالعه و ارزش اصلاحی صفات پیدا نشد، اگرچه ژنوتیپ های دارای آلل *POUIF1*B* گرایش به تولید شیر بیشتر و *POUIF1*A* تمایل به

جدول ۲- فراوانی ژنی و ژنوتیپی مشاهده شده، شاخص‌های هتروزیگوتی، نئی و شانون، تعداد آلل و کای مربع در جایگاه‌های چندشکلی مورد مطالعه

جایگاه	فراوانی ژنوتیپی مشاهده شده					هتروزیگوسیتی		شاخص		تعداد آلل		تعادل K^2
	AA	AB	BB	A	B	Obs ^۱	Exp ^۲	نئی	شانون	واقعی	موثر	
POUIF1	۰/۴۵۵	۰/۵۴۵	۰/۲۵۶	۰/۴۰۰	۰/۳۴۴	۰/۴۹۹	۰/۴۰۰	۰/۴۹۶	۰/۶۸۹	۲	۱/۹۸	۳/۳۷۴ ^{ns}
	C	T	CC	TC	TT	۰/۳۷۸	۰/۵۰۰	۰/۴۹۹	۰/۶۹۳	۲	۱/۹۹	۵/۳۶۱ ^{ns}

جدول ۳- تخمین پارامترهای ژنتیکی و فنوتیپی صفات تولیدی شیر

شیر	درصد چربی	درصد پروتئین
وراثت پذیری	۰/۲۱	۰/۲۷
واریانس ژنتیکی	$0.259e^{-2}$	$0.692e^{-2}$
واریانس باقی مانده	۰/۹۵۱	$0.186e^{-1}$
واریانس فنوتیپی	۱/۲۱۰	$0.255e^{-1}$
ضریب تغییرات	۴۳/۶۴	۴/۴۴

جدول ۴- میانگین و خطای معیار ارزش اصلاحی تولید شیر انواع ژنوتیپ *POUIF1*

ژنوتیپ	تولید شیر (کیلوگرم)	درصد چربی	درصد پروتئین
AA	136 ± 11.526^b	0.08 ± 0.04^a	0.18 ± 0.08^a
AB	54.2 ± 36.86^{ab}	0.04 ± 0.03^b	0.10 ± 0.07^b
BB	106.6 ± 70.36^a	0.03 ± 0.01^{ab}	0.08 ± 0.04^{ab}
Pr > F	۰/۰۶۷	۰/۰۹۳۵	۰/۰۵۷۵
ضریب تعیین	$R^2 = 0.65$	$R^2 = 0.53$	$R^2 = 0.63$

میزان شیر دارد (۱۳، ۱۵). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که آلل B روی افزایش تولید شیر و آلل A بر افزایش درصد چربی و پروتئین شیر تاثیر دارد، اگرچه در حد معنی‌دار نبود. ماتوس و همکاران (۱۷) گزارش کردند که گاوهای هتروزیگوت در این جایگاه از نظر تولید چربی شیر برتر از هموزیگوت‌های BB هستند. نتایج این تحقیق با سایر محققین مطابقت نداشت (۹، ۱۳، ۱۹، ۲۱، ۲۶، ۱۵). این احتمال وجود دارد که اثر انواع ژنوتیپ روی عملکرد در نژادهای مختلف، متفاوت باشد.

در مطالعه حاضر ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های چندشکلی اگزون ۱۶ *STAT5A* و ارزش‌های اصلاحی برآورد شده صفات تولید شیر، درصد پروتئین و درصد چربی یافت نشد. در تحقیقی روی ارتباط چندشکلی این ژن با صفات عملکردی شیر در نژاد جرز (۶) و پروتئین و درصد چربی شیر یا میزان تولید آن در نژاد فریزین لهستانی (۱۰)، ارتباط معنی‌داری مشاهده نشد، اگرچه میزان تولید روزانه شیر و شیر تصحیح شده برای چربی، کل مواد جامد شیر، مواد جامد غیر چربی، پروتئین و لاکتوز در گاوهایی با ژنوتیپ TC نسبت به ژنوتیپ TT بالاتر بود (۱۰). در بررسی دیگر بین چندشکلی ژن *STAT5A* و صفات تولید شیر نژاد جرز ایتالیایی، گزارش شد که تفاوت معنی-

همچنین، فراوانی آلل T و C در جایگاه اگزون ۱۶ ژن *STAT5A* برابر ۰/۵۱۱ و ۰/۴۸۹ بود. فراوانی آلل T در گاوهای سیاه و سفید لهستانی ۰/۸۵ (۱۰) و در گاوهای قرمز و سفید لهستانی ۰/۸۸ برآورد شد (۱۶). فراوانی ژنوتیپی CC در جمعیت اول دارای کمترین مقدار (۰/۰۲) بود اما ژنوتیپ هموزیگوت TT در جمعیت دوم اصلاً مشاهده نگردید (۱۰، ۱۶). فراوانی این آلل در گاو هلشتاین چینی برابر ۰/۸۷۵ (۲) و در نژادهای فریزین لهستان، شاروله، لیموزین، آنگوس، هرفورد و سیمتال به ترتیب برابر ۰/۷۵۶، ۰/۸۰۵، ۰/۸۱۲، ۰/۹، ۰/۸۷۵ و ۰/۹۰۹ برآورد گردید (۱۱). تحقیقات مختلف نشان‌دهنده بیشتر بودن فراوانی آلل T نسبت به آلل C در اکثر نژادها است که در مورد تحقیق حاضر و برای نژاد براون سوییس نیز مصداق داشت، اگرچه فراوانی آن نسبت به سایر نژادها کمتر بود.

در برخی تحقیقات ارتباط معنی‌داری بین چندشکلی جایگاه *POUIF1* و صفات تولیدی شیر در نژادهای فریزین لهستانی (۹)، هلشتاین (۲۶)، مازندران (۲۶)، سرابی (۲۶) و گلپایگانی (۲۶) مشاهده نشد. اما یکسری از مشاهدات دیگر بیانگر تاثیر آلل A در افزایش تولید شیر و پروتئین و کاهش درصد چربی بوده است (۱۹، ۲۱). همچنین گزارش شده است که ژنوتیپ AA اثر معنی‌داری بر کل

تولید شیر، درصد پروتئین و درصد چربی یافت نشد، اگرچه ارتباط بین ژنوتیپ‌های چندشکلی اگزون ۶ ژن *POU1F1* با صفات تولیدی در حد معنی‌دار بود. لذا، پیشنهاد می‌شود جهت بررسی دقیق‌تر خصوصیات تولیدی و ارتباط آن با ژنوتیپ دام در جایگاه‌های مختلف ژنی نژاد براون سوئیس، مطالعات را در سطح وسیع‌تری در گله‌های کشور انجام داد. همچنین می‌توان در تحقیقات آینده، فراوانی این ژن در گاوهای نر مولد و دختران آنها را مورد بررسی قرار داد.

سیاسگذاری

بدینوسیله محققین بر خود لازم می‌دانند تا از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی، مسوول محترم آزمایشگاه بیوتکنولوژی جناب آقای عبدی و مسوول محترم گاوداری مجتمع آموزش جهاد کشاورزی خراسان رضوی جناب آقای مهندس زرعی، کمال تشکر و قدردانی را بنمایند.

داری بین صفات تولیدی در گاوهای با ژنوتیپ‌های CC و CT وجود دارد، به طوری که گاوهای با ژنوتیپ CC میزان تولید شیر، میزان چربی، پروتئین، مواد جامد غیرچربی و کل مواد جامد بیشتری نسبت به ژنوتیپ TC تولید کردند (۷). این امر در حالی است که نتایج مطالعه روی گاوهای هلشتاین چینی نشان داد که گاوهای با ژنوتیپ TC مقدار پروتئین بیشتری را نسبت به گاوهای با ژنوتیپ CC تولید کردند اما بین انواع ژنوتیپ و تولید شیر و درصد چربی آن، ارتباطی پیدا نشد (۲). تفاوت ژنوتیپ TC جایگاه اگزون ۷ ژن *STAT5A* در افزایش ارزش اصلاحی پروتئین شیر در مقایسه با دو ژنوتیپ دیگر در ۱۳۴ گاو نر هلشتاین ایران، گزارش شده است (صادقی و همکاران، ۱۳۸۹).

نتیجه‌گیری و پیشنهادات

در مطالعه حاضر ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های چندشکلی اگزون ۱۶ ژن *STAT5A* و ارزش‌های اصلاحی برآورد شده صفات

منابع

- ۱- صادقی، م، م، مرادی شهر بابک، ق. رحیمی میانجی، ا. نجاتی جوارمی. ۱۳۸۹. اثر چندشکلی ژن *STAT5A* بر صفات تولید شیر در گاوهای نر هلشتاین. پژوهش‌های تولیدات دامی. جلد ۲. شماره ۱. ۳۷-۴۴.
- ۲- Bao B., C. Zhang., X. Fang., R. Zhang., C. Gu., C. Lei., and H. Chen. 2010. Association between polymorphism in *STAT5A* gene and milk production traits in Chinese Holstein cattle. *Anim. Sci. Papers and Reports.* (28)1: 5-11.
- ۳- Beigi Nassiri M.T., Z. Biranvand., T. Hartatik., J. Fayazilou. and S. Tavakoli. 2010. The study of *pit1* gene polymorphism in the Najdi cattle using PCR-RFLP method. *J. of Anim. and Vet. Adv.* 9(15):2001-2003.
- ۴- Bole-Feysot C., V. Goffin., M. Edery., N. Binart., and PA. Kelly. 1998. Prolactin (PRL) and its receptor: actions, signal transduction pathways and phenotypes observed in PRL receptor knockout mice. *Endocr. Rev.* 19 (3):225-68.
- ۵- Bona G., R. Paracchini., M. Giordano., and P. Momigliano-Richiardi. 2004. Genetic defects in GH synthesis and secretion. *Eur. J. Endocrinol.* 151(Suppl):1:S3-9.
- ۶- Brym P., S. Kaminski., and A. Rusc. 2004. New SSCP polymorphism within bovine *STAT5A* gene and its associations with milk performance traits in Black-and-White and Jersey cattle. *J Appl. Genet.* 45(4):445-52.
- ۷- Dario C., and M. Selvaggi. 2011. Study on the *STAT5A/Aval* polymorphism in Jersey cows and association with milk production traits. *Mol. Biol. Rep.* 38:5387-5392
- ۸- Di Stasio L., Sartore S., and A. Albera. 2002. Lack of association of *GH1* and *POU1F1* gene variants with meat production traits in Piemontese cattle. *Anim. Genet.* 33(1):61-64.
- ۹- Dybus A., I. Szatkowska., E. Czerniawska-Piatkowska., W. Grzesiak., J. Wojcik., E. Rzewucka., and S. Zych. 2004. *PIT1-HinfI* gene polymorphism and its associations with milk production traits in polish Black-and-White cattle. *Arch. Tierz., Dummerstorf* 47(6): 557-563.
- ۱۰- Flisikowski K., N. Strzałkowska., K. Słoniewski., J. Krzyżewki., and L. Zwierzchowski. 2004. Association of a sequence nucleotide polymorphism in exon 16 of the *STAT5A* gene with milk production traits in Polish Black-and-White (Polish Friesian) cows. *Anim. Sci. Papers and Reports.* (22)4: 515-522.
- ۱۱- Flisikowski K., M. Szymanowska., and L. Zwierzchowski. 2003. The DNA-binding capacity of genetic variants of the bovine *STAT5A* transcription factor. *Cell Mol. Biol. Lett.* 8(3):831-40.
- ۱۲- Freeman M.E., B. Kanyicska., and A. Lerant, G. Nagy. 2000. Prolactin: structure, function, and regulation of secretion. *Physiol. Rev.* 80(4):1523-631.
- ۱۳- Hori-Oshima S., and A. Barreras-Serrano. 2003. Relationship between *DGAT1* and *PIT-1* gene polymorphism and milk yield in Holstein cattle. *J. of Anim. Sci. (Suppl.)* 1, 252
- ۱۴- Javanrouh A., M.H. Banabazi., S. Esmaeilkhani., C. Amirinia., H.R. Seyedabadi., and H. Emrani. 2006.

- Optimization on salting out method for DNA extraction from animal and poultry blood cells. The 57th Annual Meeting of the European Association for Animal Production. Antalya, Turkey.
- 15- Jawasreh I.Z., F. Awawdeh., I. Rawashdeh., F. Hejazeen., and M. Al-Talib. 2009. The allele and genotype frequencies of bovine pituitary specific transcription factor and LEPTIN gene in Jordanian cattle population by using PCR-RFLP. *Aus. J. of Basic and Appl. Sci.* 3(3):1601-6.
 - 16- Kmiec M., L. Kowalewska., I. Uczak., K. Wojdak Maksymiec., H. Kulig., and T. Grzelak. 2008. STAT5A/AvaI Restriction Polymorphism in Cows of Polish Red and White Variety of Holstein Friesian Breed. *Anim. Genet.* 46(1):81-5.
 - 17- Mattos K.K., S.N. Del Lama., M.L. Martinez., and A.F. Freitas. 2004. Association of bGH and Pit-1 gene variants with milk production traits in dairy Gyr bulls. *Pesq. agropec. bras. Brasília.* 39(2): 147-50.
 - 18- Molenaar A., T.T. Wheeler., J.Y. McCracken., and H.M. Seyfert. 2000. The STAT3-encoding gene resides within the 40 kbp gap between the STAT5A- and STAT5B-encoding genes in cattle. *Anim. Genet.* 31(5):339-40.
 - 19- Parmentier I., D. Portetelle., N. Gengler., A. Prandi., C. Bertozzi., L. Vleurick., R. Gilson., R. Renaville. 1999. Candidate gene markers associated with somatotropic axis and milk selection. *Domest. Anim. Endocrinol.* 17(2-3):139-148.
 - 20- Renaville R., N. Gengler., I. Parmentier., F. Mriaux., S. Massat., C. Bertozzi., A. Burny., and D. Portetelle. 1997. Pit-1 gene *HinfI* RFLP and growth traits in double-musled Belgian Blue cattle. *J. Anim. Sci.* 75 (suppl. 1) 148 (b).
 - 21- Renaville R., N. Gengler., E. Vrech., A. Prandi., S. Massart., C. Corradini., C. Bertozzi., F. Mortiaux., A. Burny., D. Portetelle. 1997. Pit-1 gene polymorphism, milk yield, and conformation traits for Italian Holstein-Friesian bulls. *J. Dairy Sci.* 80(12):3431-8(a).
 - 22- Seyfert H.M., C. Pitra., L. Meyer., R. M. Brunner., T.T. Wheeler., A. Molenaar., J. Y. McCracken., J. Herrmann., H. J. Thiesen., and M. Schwerin. 2000. Molecular characterization of STAT5A- and STAT5B-encoding genes reveals extended intragenic sequence homogeneity in cattle and mouse and different degrees of divergent evolution of various domains. *J. Mol. Evol.* 50(6):550-61.
 - 23- Wakao H., F. Gouilleux., and B. Groner. 1994. Mammary gland factor (MGF) is a novel member of the cytokine regulated transcription factor gene family and confers the prolactin response. *EMBO J.* 13(9):2182-91.
 - 24- Woolard J., C.K. Tuggle., and F. A. Ponce de Leon. 2000. Localization of POU1F1 to bovine, Ovine, and Caprine 1q21-22. *J. Anim. Sci.* 78: 242-243
 - 25- Yeh, F.C., R. Yang., and T. Boyle. 1999. POPGENE. Version 1.31. Microsoft window-based freeware for population genetic analysis, Uni. of Alberta. Edmonton, AB, Canada.
 - 26- Zakizadeh S., M. Reissmann., G. Rahimi., A. Njati-Javaremi., P. Reinecke., S. R. Mirae-Ashtiani., M. Moradisharbabak. 2007. Polymorphism of the bovine POU1F1 gene: allele frequencies and effects on milk production in three Iranian native breeds and Holstein cattle of Iran. *Pak. J. Biol Sci.* 10(15):2575-8.
 - 27- Zhao Q., M.E. Davis., and H.C. Hines. 2004. Associations of polymorphisms in the Pit-1 gene with growth and carcass traits in Angus beef cattle. *J. Anim Sci.* 82(8):2229-33.