مجله تولیدات دامی، دوره ۱۴، شماره ۲، پاییز و زمستان ۱۳۹۱، صص ۵۰-۴۳

چندشکلی اگزون ۱۰ ژن مربوط به گیرنده هورمون رشد (GHR) و ارتباط آن با صفات رشد در گوسفندان نژاد کرمانی با روش PCR-SSCP*

حسین مرادی شهربابک [۱*]، اکبر اسدی [۲]، پرویز عزیزی [۳] و سعیده الهیان [۴]

(E-mail: hmoradis@ut.ac.ir$

تاریخ وصول مقاله: ۹۱/۰۹/۳۰ ، تاریخ پذیرش مقاله: ۹۱/۱۲/۱۶

چکیده

ژن مربوط به گیرنده هورمون رشد ژن هورمون بر روی کروموزوم ۱۶ گوسفند قرار دارند. در این تحقیق، از سیاهرگ وداج تعداد ۸۸ رأس گوسفند موجود در ایستگاه اصلاح نژاد گوسفند کرمانی (شهربابک) خون‌گیری شد و DNA نمونه‌ها با روش بهینه یافته نمکی استخراج شد و قطعه ۱۵۵ جفت باز (شامل بخشی از اگزون ۱۰ ژن گیرنده هورمون رشد) تکثیر شد. از تفاوت چندشکلی فضایی تک‌رشته‌ها (SSCP) برای تعیین ژنوتیپ نمونه‌ها، استفاده شد. بدین‌منظور، الکتروفورز عمودی نمونه‌ها روی ژل اکریل‌آمید ۱۲ درصد به مدت ۱۷ ساعت و با اختلاف پتانسیل ۳۰۰ ولت در دمای چهار درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. همچنین رنگ‌آمیزی ژل به روش نیترات نقره انجام شد که طی آن الگوهای ژنوتیپی یک، دو، سه، چهار، پنج و شش به‌ترتیب ۹/۱، ۴/۵، ۱۳/۶، ۹/۱، ۳۵/۲ و ۲۸/۴ درصد مشاهده شد. آنالیز واریانس ارقام نشان داد که ارتباط الگوهای متفاوت ژنتیکی با صفات رشد (وزن تولد، وزن سه‌ماهگی، وزن شش‌ماهگی، وزن نه‌ماهگی و وزن ۱۲ ماهگی) معنی‌دار نیست.

کلمات کلیدی: ژن GHR، صفات رشد، گوسفند کرمانی، PCR-SSCP

---

۱ – استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده مهندسی علوم دامی و زراعی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج – ایران (**نویسنده مسئول مکاتبات** *)

۲ – مربی، گروه علوم دامی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهربابک، شهربابک – ایران

۳ – دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده مهندسی علوم دامی و زراعی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج – ایران

۴ – دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده مهندسی علوم دامی و زراعی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج – ایران

* - Single Strand Conformation Polymorphism (SSCP)

مقدمه

براساس اطلاعات حاصل از نقشه ژنومی گوسفند ژن مربوط به گیرنده هورمون رشد[1] یک نشانگر ژنتیکی قابل استفاده در مطالعات صفات رشد این حیوان می‌باشد (۸). ژن مربوط به گیرنده هورمون رشد دارای ۱۰ اگزون و نه اینترون می‌باشد و توالی DNA آن bp ۳۶۵۱۸۶ است. این ژن روی کروموزوم ۱۶ گوسفند قرار دارد و در فعالیت‌های زیستی هورمون رشد در سلول‌های هدف، توسط سیگنال‌های تحریک‌کننده وابسته به ماهیچه در میان غشای سلولی و تحریک بسیاری از ژن‌ها نظیر IGF-I نقش دارد. برای اینکه هورمون رشد[2] وظایف خود در بدن (نظیر تأثیر در رشد و متابولیسم چربی) را انجام دهد، به گیرنده‌های آن در سطح سلول‌های هدف نیاز است. بیان ژن گیرنده هورمون رشد و اتصال آن به هورمون رشد برای رشد و متابولیسم چربی ضروری است (۹).

هورمون رشد در فرآیندهای متابولیکی و فیزیولوژیکی متعددی نقش دارد و برای انجام صحیح این فرآیندها باید به گیرنده این هورمون (GHR) متصل شود (۷). بنابراین تفاوت‌های موجود در توالی DNA ژن GHR ممکن است برای فهم چگونگی تأثیر ژنوتیپ‌ها بر ترکیب لاشه و صفات رشد سودمند باشد (۱۹).

در سطح گیرنده هورمون رشد (GHR) به عنوان عامل واسطه برای فعالیت‌های هورمون رشد نیاز می‌باشد که در زیرخانواده cytokine/hematopoientin قرار دارد (۸). سرمایه‌گذاری مؤثر در تولید گوسفند می‌تواند سبب بهبود صفاتی نظیر دوقلوزایی، وزن بره، تولید شیر و پشم از نظر کمیت و کیفیت شود. در ایران تقاضا برای تولید گوشت به دلیل افزایش رشد جمعیت افزایش یافته است. گوشت گوسفند باتوجه به گرایش‌های فرهنگی و مذهبی از منابع پروتئینی مرسوم و متداول به شمار می‌آید و مقدار مصرف آن در مقایسه با گوشت گاو و بز بسیار بیشتر می‌باشد. بازار فروش گوشت بره، بازده اقتصادی قابل توجهی در میان بیشتر نژادهای ایرانی دارد و برای افزایش درآمد بهبود وزن زنده بره‌ها می‌تواند از اهداف انتخابی مناسب باشد (۱۷).

جمعیت گوسفندان ایرانی به‌طور عمده نژادهای دنبه‌دار با پشم ضخیم می‌باشند که پشم آنها برای فرش‌بافی بسیار مناسب می‌باشد (۸). گوسفند نژاد کرمانی دارای پشم سفید و جثه متوسط می‌باشد و یکی از نژادهای سازگار با شرایط آب و هوایی گرم و خشک است که به‌جز گوشت از نظر تولید پشم نیز برای تولید فرش ایران اهمیت دارد (۱).

با استفاده از روش SSCP یک جهش تک‌نوکلوتئیدی در ژن GHR شناسایی شد و مشخص گردید که در ناحیه ۵′ نوکلئوتید A به G تبدیل شده است (۱۰). وجود چندشکلی در ژن مربوط به گیرنده هورمون رشد می‌تواند یک عامل مؤثر برای بیان ژن هورمون رشد باشد (۱۳). یک همبستگی مثبت بین طول تکرار TG در پروموتور ژن GHR گاو و سرعت رشد در گاوهای جوان آنگوس نشان داده شده است (۱۱). از چندشکلی‌های موجود در ژن GHR می‌توان به عنوان نشانگر برای بررسی تغییرات غلظت IGF-I در سرم گاوهای آنگوس استفاده نمود. تحقیق حاضر چندشکلی اگزون ۱۰ ژن مربوط به گیرنده هورمون رشد و ارتباط آن با صفات رشد در گوسفندان نژاد کرمانی با روش PCR-SSCP بررسی شد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری

از تعداد ۸۸ رأس گوسفند نژاد کرمانی موجود در ایستگاه بهنژادی گوسفند کرمانی (شهربابک) با استفاده از ونوجکت‌های دارای EDTA از سیاهرگ وداج خون‌گیری شد.

استخراج DNA

استخراج DNA از ۲۵۰ میکرولیتر خون کامل به روش بهینه‌یافته نمکی انجام گرفت (۱۵). مقدار و کیفیت آن با استفاده از الکتروفورز در ژل آگارز یک درصد و نیز روش اسپکتروفتومتری با دستگاه نانودراپ اندازه‌گیری شد.

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR)

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز برای تکثیر قطعه دارای ۱۵۵ جفت‌باز مربوط به بخشی از اگزون ۱۰ ژن مربوط به گیرنده هورمون رشد انجام گرفت. از آغازگرهای اختصاصی رفت

1 - Growth Hormone Receptor (GHR)

2 - Growth Hormone (GH)

F: 5′-TTGGCCTCAACTGGACTCTAC3′ و برگشت R: 5′-CCACTGGGTCTCATTTAGTT-3′ برای تکثیر جایگاه ژن مربوط به گیرنده هورمون رشد استفاده شد (۳). واکنش PCR برای جایگاه مزبور، در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر شامل ۵۰ نانوگرم DNA ژنومی، بافر ۱X، ۰/۵ میکرومولار از هر آغازگر، ۰/۲ میلی‌مولار dNTP، ۲/۵ میلی‌مولار $MgCl_2$، یک واحد آنزیم تک‌پلیمراز و آب دیونیزه انجام شد. برای تکثیر جایگاه ژن GHR 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 دو درصد انجام شد. برنامه دمایی و زمانی برای تکثیر ژن GHR با ۳۵ چرخه شامل دمای واسرشت‌سازی اولیه ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت 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 در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت پنج دقیقه بود.

تعیین ژنوتیپ محصولات PCR به روش چندشکلی فضایی تک‌رشته‌ای (SSCP)

برای تعیین ژنوتیپ نمونه‌ها از روش PCR-SSCP با استفاده از الکتروفورز عمودی روی ژل پلی‌اکریل‌آمید و رنگ-آمیزی با نیترات نقره استفاده شد. بدین‌منظور ۲۰ میکرولیتر بافر بارگذاری مخصوص SSCP (شامل فرمامید ۹۹ درصد، EDTA شش مولار، برموفنل و زینول‌سیانید ۱۰ درصد) با سه میکرولیتر محصول PCR مخلوط و ورتکس شد و سپس در دستگاه ترموسایکلر به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۹۶ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا رشته‌های DNA واسرشت شوند. نمونه‌های واسرشت شده 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 پلی‌اکریل‌آمید ۱۲ درصد استفاده شد. برای این منظور، مخلوط حاصل از PCR و بافر بارگذاری مخصوص SSCP درون چاهک‌های ژل قرار داده شدند. سپس الکتروفورز نمونه‌ها به مدت ۱۷ ساعت و با اختلاف پتانسیل ۳۰۰ ولت در دمای چهار درجه سانتی‌گراد و با بافر TBE (۰/۵X) انجام گرفت. درنهایت رنگ‌آمیزی ژل برای مشاهده الگوهای باندی به روش نیترات نقره انجام گرفت (۴).

روش آماری

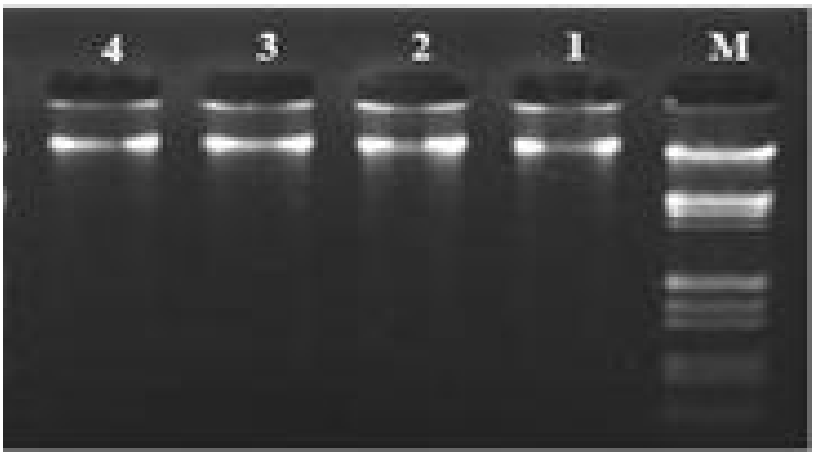
در این پژوهش، اطلاعات حاصل از تعیین ژنوتیپ دام‌ها برای جایگاه مورد بررسی همراه با داده‌های مربوط به وزن تولد، وزن شیرگیری، وزن شش‌ماهگی، وزن نه‌ماهگی و وزن ۱۲ ماهگی با استفاده از نرم‌افزار Excel بررسی شد و آزمون نرمال بودن به وسیله نرم‌افزار SAS 9.1 انجام گردید. در این آزمون تست شاپیرو – ویلک برای داده‌های مربوط به صفات رشد معنی‌دار بود ($P<۰/۰۵$). که نشان داد داده‌ها مورد بررسی نرمال نیستند. داده‌ها با روش Boxcox با استفاده از رویه transreg نرم‌افزار SAS 9.1 نرمال شد و پس از ویرایش در نرم‌افزار آماری SAS با رویه MIXED تجزیه گردید. در این آزمایش، اثر ژنوتیپ‌های GHR، سال تولد حیوان، ماه تولد حیوان، تعداد بره متولد شده در هر زایش و جنس حیوان به عنوان عوامل ثابت در معادله مدل منظور شدند. همچنین وزن‌های تولد، سه، شش و نه ماهگی به عنوان متغیر کمکی و اثر حیوان به عنوان عامل تصادفی در مدل منظور شدند. معادله مدل به صورت رابطه زیر می باشد:

$$Y_{ijklmno} = \mu + ye_i + M_j + S_k + A_l + G_m + b\,(W_o - \overline{W}) + Animal_o + e_{ijklmno} \quad (۱)$$

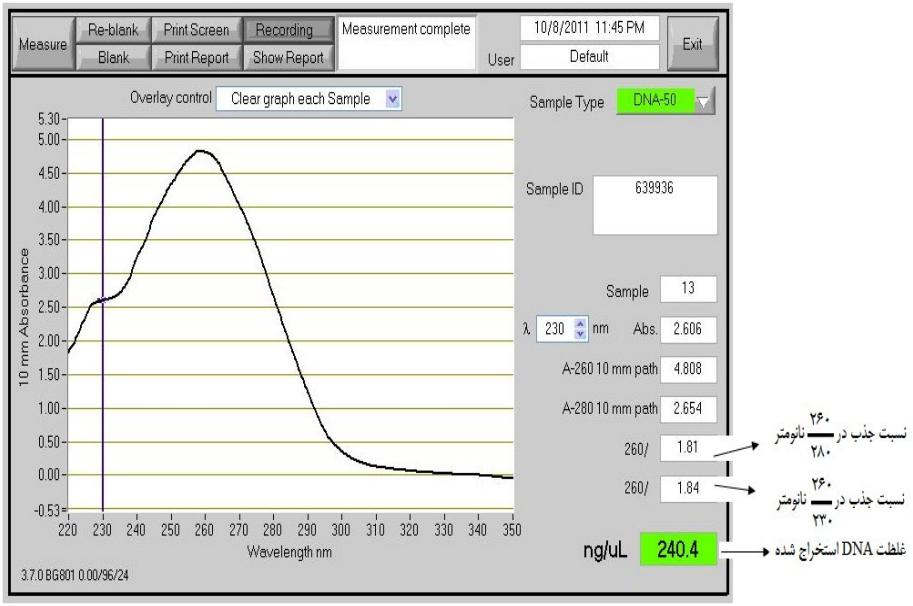
در این رابطه، $Y_{ijklmno}$ هر یک از مشاهدات مربوط به وزن تولد، وزن سه‌ماهگی، وزن شش‌ماهگی، وزن نه‌ماهگی و وزن ۱۲ ماهگی، μ میانگین صفت در جامعه، ye_i اثر i امین سال تولد حیوان، M_j اثر j امین ماه تولد حیوان، S_k اثر k امین تعداد بره متولد شده در هر زایش، A_l اثر l امین جنس حیوان، G_m اثر m امین ژنوتیپ (GHR)، b ضریب تابعیت Y، $\overline{W}$ و W_o به‌ترتیب میانگین وزن و وزن n امین حیوان، $Animal_o$ اثر oامین حیوان و $e_{ijklmno}$ اثر عوامل باقیمانده می‌باشد.

نتایج و بحث

با استفاده از روش اسپکتروفتومتری و ژل آگارز یک درصد، مقدار DNA و کیفیت آن تأیید شد (شکل‌های ۱ و ۲).

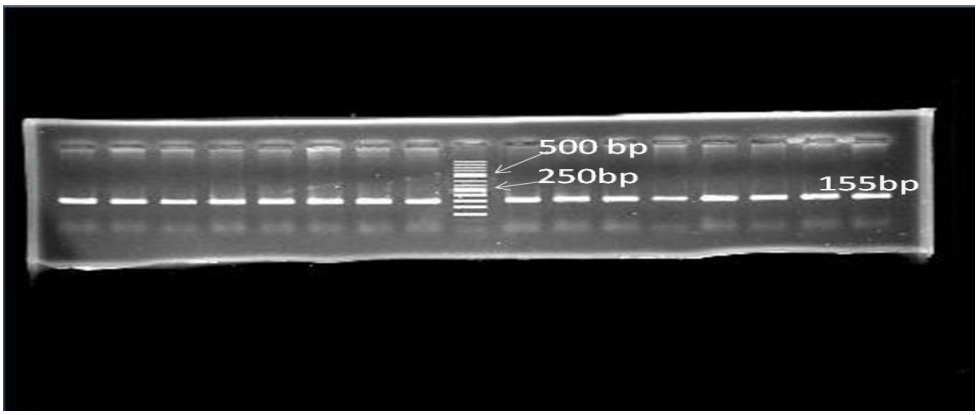


شکل ۱ – نمونه‌های DNA بر روی ژل آگارز

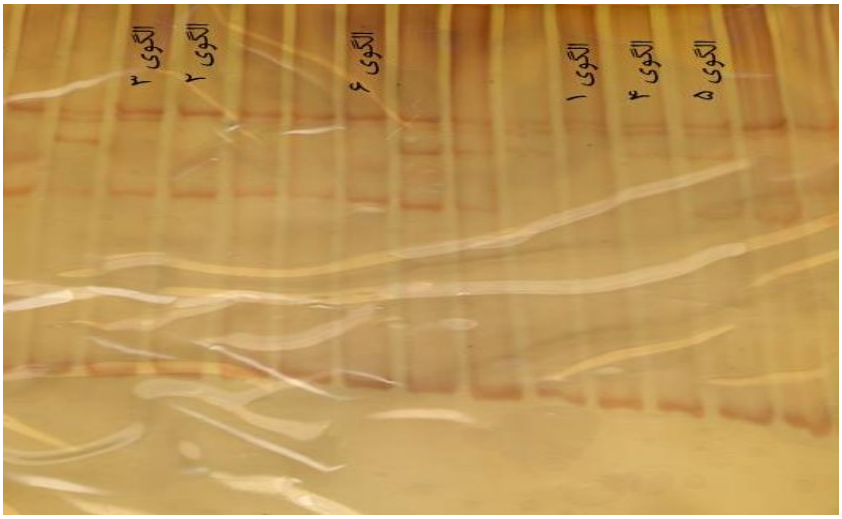


شکل ۲ – تعیین مقدار DNA و کیفیت آن با دستگاه نانودراپ

در طی واکنش PCR یک قطعه دارای ۱۵۵ جفت باز از ژن GHR تکثیر شد (شکل ۳). همچنین از روش SSCP برای شناسایی تنوع در قطعه تکثیر شده استفاده گردید. روش SSCP روش موثری در شناسایی تنوع توالی تکثیر شده می‌باشد (۱۵). اساس این روش، حرکت DNA از میان ژل اکریل‌آمید غیردناتوره است که براساس شکل فضایی که عامل تعیین‌کننده در حرکت تک‌رشته‌ها بر روی ژل می‌باشد، انجام می‌گیرد. بنابراین وجود حتی یک جهش نقطه‌ای، سبب تفاوت حرکت روی ژل شده و قابل مشاهده است (۴). نتایج حاصل از SSCP و رنگ‌آمیزی ژل پلی‌اکریل‌آمید نشان داد که شش الگوی باندی متفاوت وجود دارد (شکل ۴). بنابراین الگوهای باندی متفاوت حاکی از وجود تنوع در این جایگاه می‌باشد که فراوانی آنها محاسبه و برای الگوهای یک تا شش به‌ترتیب ۹/۱، ۴/۵، ۱۳/۶، ۹/۱، ۳۵/۲ و ۲۸/۴ درصد بود. همان‌طورکه مشاهده می‌شود ژنوتیپ پنج با فراوانی ۳۵/۲ درصد بیشترین فراوانی را دارد.



شکل ۳ - تکثیر اختصاصی قطعه ۱۵۵ جفت بازی اگزون ۱۰ ژن گیرنده هورمون رشد در گوسفند نژاد کرمانی



شکل ۴ - الگوهای ژنوتیپی اگزون ۱۰ ژن GHR با روش SSCP در گوسفند نژاد کرمانی

جدول ۲ - میانگین صفات رشد گوسفندان براساس ژنوتیپ‌های ژن GHR

ژنوتیپ	وزن تولد (kg) ns	وزن شیرگیری (kg) ns	وزن شش‌ماهگی (kg) ns	وزن نه‌ماهگی (kg) ns	وزن یک سالگی (kg) ns
۱	۱/۱۶ ± ۰/۰۲۰	۲/۸۷ ± ۰/۰۴۸	۲/۹۸ ± ۰/۰۶۱	۳/۰۹ ± ۰/۰۳۹	۳/۱۲ ± ۰/۰۴۲
۲	۱/۱۶ ± ۰/۰۲۲	۲/۸۵ ± ۰/۰۵۵	۳/۰۱ ± ۰/۰۷۰	۳۰/۰۷ ± ۰/۰۴۴	۳/۰۸ ± ۰/۰۴۸
۳	۱/۱۵ ± ۰/۰۱۶	۲/۸۶ ± ۰/۰۴۰	۳/۰۹ ± ۰/۰۵۱	۳/۰۶ ± ۰/۰۳۱	۳/۱۱ ± ۰/۰۳۵
۴	۱/۱۷ ± ۰/۰۱۷	۲/۸۹ ± ۰/۰۴۲	۲/۹۹ ± ۰/۰۵۲	۳/۰۶ ± ۰/۰۳۳	۳/۰۵ ± ۰/۰۳۶
۵	۱/۱۴ ± ۰/۰۱۲	۲/۸۹ ± ۰/۰۳۰	۳/۰۱ ± ۰/۰۳۸	۳/۰۷ ± ۰/۰۲۴	۳/۱۴ ± ۰/۰۲۷
۶	۱/۱۵ ± ۰/۰۱۴	۲/۹۱ ± ۰/۰۳۵	۳/۰۲ ± ۰/۰۴۴	۳/۰۸ ± ۰/۰۲۸	۳/۱۳ ± ۰/۳۱۰

ns - میانگین‌های ارایه شده در جدول مربوط به اعداد نرمال شده می‌باشند.

با استفاده از روش PCR-SSCP ارتباط جهش‌های موجود در اگزون ۱۰ ژن GHR با صفات رشد (نظیر وزن تولد، افزایش وزن روزانه از تولد تا وزن از شیرگیری و وزن شش‌ماهگی) مطالعه شد. همبستگی صفت افزایش وزن روزانه از تولد تا شیرگیری با ژنوتیپ GHR معنی‌دار بود. در مطالعه موردنظر، افزایش وزن روزانه افراد دارای ژنوتیپ GG نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها بیشتر بود (۱۸). در یک مطالعه، بر روی ژن GHR در ۳۸۴ گاو نر مشخص شد که اثر جایگزین شدن آلل l به‌جای S در افزایش وزن روزانه و وزن تولد معنی‌دار است. در واقع نتایج حاکی از آن است که اثر آلل S وزن شیرگیری و وزن لاشه منفی می‌باشد (۲). در یک پژوهش دیگر، اثر جهش‌های ژن GHR بر ترکیبات شیر در ۱۲۲۲ گاو هلشتاین در چین مطالعه و رابطه معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های حاصل و درصد چربی و پروتئین مشاهده شد (۲). در تحقیقی بر روی ۳۷ نژاد گوسفند، اثر چندشکلی A به T در ناحیه تنظیمی ژن GHR توسط آنزیم محدودگر AluI ثبت شده است (۱۶). در گاوهای سیمنتال نشان داده شده است که جهش در ناحیه پروموتور ژن GHR سبب کاهش وزن لاشه و در دام‌های گوشتی زبو اثر جهش در ناحیه پروموتور ژن GHR/AluI بر وزن لاشه معنی‌دار است (۶). در یک تحقیق، با استفاده از روش PCR-SSCP در ۹۰ بز نژاد تالی چندشکلی موجود در اگزون چهار ژن هورمون رشد بررسی و شش الگوی حاصل حاکی از زیاد بودن چندشکلی در آن‌ها بود

References

1 . Aggrey S, Yao J, Sabour M, Lin C, Zadworny D, Hayes J and Kuhnlein U (1999) Markers within the regulatory region of the growth hormone receptor gene and their association with milk-related traits in Holsteins. Heredity. 90: 148-151.

2 . Andrzej M, Jolanta O, Artur O, Edward D and Lech Z (2004) Polymorphism in the 5'-noncoding region of the bovine growth hormone receptor gene and its association with meat production traits in cattle. Animal Research. 53: 503-514.

3 . Bastos E, Cravador A, Azevedo J and Guedes-Pinto H (2001) Single strand conformation polymorphism (SSCP) detection in six genes in the Portuguese indigenous sheep breed. Churra da Terra Quente. 17: 87-91.

4 . Bonifácio C, Santos I, Belo C and Cravador A (2001) Single-Strand Conformation Polymorphism (SSCP) analysis of alfas1-casein, beta-casein and k-casein genes in Charnequeira Portuguese indigenous goat breed. 34: 345-35.

5 . Cogan JD and Phillip J (1998) Growth disorders caused by genetic defects in the growth hormone pathway. Advances in pediatrics. 45: 337.

6 . Curi R, Palmieri D, Suguisawa L, Ferraz A, De Oliveira H, Furlan L, Silveira A and Lopes C (2006) Effects of gene polymorphisms on growth and carcass traits in Zebu and crossbred beef cattle. Livestock Science. 101: 94-100.

7 . Etherton T (2004) Somatotropic function: the somatomedin hypothesis revisited. Animal Science. 82: E239-E244.

8 . Farid A, Makarechian M and Sefidbakht N (1997) Crossbreeding of Iranian fat-tailed sheep: Lamb performance of Karakul, Mehraban and Naeini breeds. Animal Science. 44: 542-548.

9 . Garrett A, Rincon G, Medrano J, Elzo M, Silver G and Thomas M (2008) Promoter region of the bovine growth hormone receptor gene: Single nucleotide polymorphism discovery in cattle and association with performance in Brangus bulls. Animal Science. 86: 3315-332.

10 . Ge W, Davis M, Hines H, Irvin K and Simmen R (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. Animal Science. 81: 641-648.

11 . Hale C, Herring W, Shibuya H, Lucy M, Lubahn D, Keisler D and Johnson G (2000) Decreased growth in angus steers with a short TG-microsatellite allele in the P1 promoter of the growth hormone receptor gene. Animal Science. 78: 2099-2104.

12 . Maj A, Oprządek J, Dymnicki E and Zwierzchowski L (2006) Association of the polymorphism in the 5′-noncoding region of the bovine growth hormone receptor gene with meat production traits in Polish Black-and-White cattle. Meat Science. 72: 539-544.

13 . Moody D, Pomp D, Barendse W and Womack J (1995) Assignment of the growth hormone receptor gene to bovine chromosome 20 using linkage analysis and somatic cell mapping. Animal Genetics. 26: 341-343.

14 . Nassiri MR and Ghiasi H (2009) Genetic polymorphism at the growth hormone locus in Iranian Talli goats by polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism (PCR-SSCP). Iranian Journal of Biotechnology. 7: 234-238.

15 . Orita M, Suzuki Y, Sekiya T and Hayashi K (1989) Rapid and sensitive detection of point mutations and DNA polymorphisms using the polymerase chain reaction. Genomics. 5: 874.

16 . Pariset L, Cappuccio I, Ajmone-Marsan P, Bruford M, Dunner S, Cortes O, Erhardt G, Prinzenberg EM, Gutscher K and Joost S (2006) Characterization of 37 breed-specific single-nucleotide polymorphisms in sheep. Heredity. 97: 531-534.

17. Tosh J and Kemp R (1994) Estimation of variance components for lamb weights in three sheep populations. Animal Science. 72: 1184-1190.

18. Valeh MV, Tahmoorespour M, Ansari M, Nassiry MR, Karimi D and Taheri A (2009) Association of growth traits with SSCP polymorphisms at the growth hormone receptor (GHR) and growth hormone releasing hormone receptor (GHRHR) genes in the Baluchi Sheep. Animal Veterinary Advances. 8: 1063-1069.

19 . Zhu T, Goh ELK, Graichen R, Ling L and Lobie PE (2001) Signal transduction via the growth hormone receptor. Cellular Signalling. 13: 599-616.

20 . Sojaei M, Mohammad Abadi MR, Asadi Fozi M, Dayani O, Khezri A and Akhondi M (2011) Association of growth trait and Leptin gene polymorphism in Kermani sheep. Cell and Molecular Research. 2: 51-53.

Journal of Animal Production, Vol. 14, No. 2, Autumn 2012

Polymorphism of exon 10 of GHR gene by PCR- SSCP method and its association with growth traits in Kermani sheep breed

H. Moradi Shahrbabak [1*], A. Asadi [2], P. Azizi [3] and S. Elahian [4]

(E-mail: hmoradis@ut.ac.ir)

Abstract

Expression of the Growth Hormone receptor (GHR) gene which is located on the sixteenth chromosome of sheep and its binding with GH is essential for growth and fat metabolism. In this study, blood samples were collected from the jugular vein from 88 sheep of Kermani breed. DNA was extracted from blood sample using the modified salting out method for amplification of 155 bp fragment containing a part of exon 10 of GHR genes. Single Strand Conformation Polymorphism (SSCP) was used for genotyping. The vertical electrophoresis of PCR products was performed on 12 percent polyacrylamide gel, at 300 V, for 17 h at 4 ˚C. The silver-staining of gels, resulted identification of six genotypic patterns: 1, 2, 3, 4, 5 and 6 with frequencies of 9.09, 4.54, 13.63, 9.09, 35.22 and 28.40 percent, respectively. Analysis of variance was performed using SAS software and association of different patterns was not significant with growth traits.

Keywords: Growth traits, Growth hormon receptor, Kermani sheep, PCR-SSCP

1 - Assistant Professor, Department of Animal Science of Agricultural Science and Engineering, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj - Iran **(Corresponding Author*)**

2 - Instructor, Department of Animal Science of Agricultural Science, Islamic Azad University of Shahrbabak, Shahrbabak - Iran

3 - Former Graduate Student, Department of Animal Science of Agricultural Science and Engineering, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj - Iran

4 - Graduted Student, Department of Animal Science of Agricultural Science and Engineering, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj - Iran