تولیدات دامی
دوره ۱۸ ■ شماره ۳ ■ پاییز ۱۳۹۵
صفحه‌های ۳۸۶-۳۷۷

بررسی ارتباط چندشکلی تک‌نوکلئوتیدی ژن STAT1 با صفات تولید شیر در گاوهای براون سوئیس

هنگامه وفایی[۱]، مجتبی حسین پور مشهدی[۲]*

۱. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران
۲. استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

تاریخ وصول مقاله: ۱۳۹۵/۰۱/۲۳ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۵/۰۸/۲۶

چکیده

چندشکلی تک‌نوکلئوتیدی ژن STAT1 با روش PCR-RFLP و ارتباط آن با صفات تولید شیر در گاوهای شیری نژاد براون‌سوئیس بررسی شد. تعداد ۹۸ رأس گاو شیری نژاد براون‌سوئیس به طور تصادفی از گاوداری‌های صنعتی مشهد انتخاب و خون‌گیری ازورید دمی انجام شد. استخراج DNA با استفاده از کیت آماده انجام شد. یک قطعه دارای ۳۱۴ جفت باز در ناحیه 3'UTR ژن STAT1 با روش PCR تکثیر و سپس قطعه مورد نظر توسط آنزیم برشی Pag1 هضم شد. فراوانی‌های ژنوتیپی و ژنی با نرم‌افزار POPGENE (نسخه ۱/۳۱) برآورد شد. برای تجزیه و تحلیل آماری از نرم‌افزار آماری SAS استفاده شد. میانگین صفات با روش دانکن مقایسه شد. فراوانی ژنوتیپ‌های TT، TC و CC به ترتیب ۰/۲۳ ، ۰/۲۵ و ۰/۵۲ بود. فراوانی آلل‌های T و C به ترتیب ۰/۳۵۵ و ۰/۶۴۵ برآورد شد. هتروزیگوسیتی مورد انتظار معادل ۰/۴۵۸ برآورد شد. آزمون مربع کای نشان داد که جمعیت مورد مطالعه در تعادل هاردی‌وینبرگ نمی‌باشد (P<۰/۰۵). تفاوت میانگین الگوهای ژنوتیپی در جایگاه ژن STAT1 برای صفات شیر (شامل تولید شیر، درصد و مقدار چربی شیر و مقدار پروتئین شیر) معنی‌دار نبود، ولی برای صفت درصد پروتئین شیر معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). میانگین تولید شیر و مقادیر چربی و پروتئین برای ژنوتیپ CC نسبت به دو ژنوتیپ دیگر بیشتر بود. با توجه به نتایج حاصل، آلل T به عنوان آلل با فراوانی کم شناخته می‌شود و وجود آلل C در ژنوتیپ گاو اثر مثبت بر صفات تولید شیر، مقدار چربی و پروتئین دارد.

کلیدواژه‌ها: ژن، صفات تولید شیر، نژاد براون سوئیس، STAT1

* نویسنده مسئول Email: hosseinpour@mshdiau.ac.ir

مقدمه

در گاوهای شیری تشخیص مکان صفات کمی (QTL) مؤثر بر صفات تولید (شامل مقدار شیر، مقدار و درصد چربی و پروتئین) اهمیت زیادی دارد [۱۱]. تعیین توالی ژنوم یک مرحله از تحقیق در مورد جایگاه‌های مؤثر بر صفات تولید در دام می‌باشند، در مرحله بعد تشخیص ژن یا آللی که در ایجاد یک فنوتیپ مطلوب در جمعیت نقش دارد تعیین می‌شود [۹ و ۲۴]. انتخاب به کمک نشانگر(MAS) می‌تواند جایگزین انتخاب بر مبنای فنوتیپ شود [۱۸]. انتخاب به کمک نشانگر توانایی افزایش فراوانی آلل مطلوب در جمعیت را دارا است [۱۵]. همچنین، در گاو شیری می‌توان از انتخاب به کمک نشانگر به عنوان انتخاب اولیه گوساله‌های نر قبل از آزمون نتاج استفاده نمود و از این طریق باعث افزایش شدت انتخاب، کاهش فاصله نسل و افزایش کارایی ژنتیکی در جمعیت شد [۱۴].

تولید شیر و ترکیبات آن تحت کنترل چندین جایگاه ژنی هستند، از جمله این ژن‌ها، مجموعه ژن‌های گروه STAT می‌باشد. فاکتورهای STAT یک خانواده از پروتئین‌های سیتوپلاسمی هستند که در پاسخ به تعداد زیادی از فاکتورهای رشد، سایتوکین‌ها و هورمون‌ها فعال می‌گردند. همچنین، این گروه از عوامل رونویسی هستند که در ابتدا به عنوان میانجی‌های کلیدی در انتقال پیام اینترفرون معرفی شدند و اکنون به عنوان عوامل پیام‌رسان در جریان بسیاری از سایتوکین‌ها، عوامل رشد و هورمون‌ها شناخته می‌شوند [۸]. پروتئین STAT از طریق فسفریلاسیون فعال شده و سپس در ادامه از کمپلکس گیرنده‌های همودایمر یا هترودایمر جدا شده و از سیتوپلاسم به هسته، جایی که با اثر بر پروموتور ژن‌های خاص که نهایتاً در تنظیم بیان ژن نقش دارند، جابه‌جا می‌شوند [۸].

در گاو هفت خانواده از کلاس STAT شناسایی شده است که از ۷۵۰ تا ۸۵۰ اسید آمینه تشکیل شده‌اند. ژن‌های STAT1و STAT4 روی کروموزوم دو قرار دارند، ژن‌های STAT3 و STAT5a و STAT5b روی کروموزوم ۱۹ و ژن STAT6 روی کروموزوم پنج نقشه‌یابی شده است [۶ و ۷]. ژن STAT2 در گاو در کروموزوم پنج واقع و در ناحیه 7318484-57334430 مکان‌یابی شده است [۲۴]. ژن مبدل سیگنال و فعال‌کننده رونویسی یک (STAT1) در گاو روی کروموزوم شماره دو در فاصله ۶۰ تا ۶۳ سانتی‌مورگان نقشه‌یابی شده است. ژن STAT1 در کروموزوم شماره دو در بازوی q و در موقعیت q232.2 قرار دارد و دارای ۱۹ اینترون و ۲۰ اگزون است [۲۱].

اثرات فیزیولوژیک پروتئین‌های STAT نخستین بار از طریق آزمایشات غیر فعال‌سازی در موش شناسایی شدند. موش‌هایی که STAT4 غیرفعال داشتند، کارکردهای مختلفی شامل افزایش در تولید IFN-γ3، افزایش پیام‌دهی، تکثیر و تمایز سلول‌های T کمکی نوع یک داشتند [۱]. مطالعات در جایگاه STAT در بافت‌های مختلف و در مراحل متفاوت رشد نشان داد که STAT1 و STAT3 به طور مشترک در سطوح ثابتی از آغاز تا انتهای بارداری، شیردهی و بیماری بیان می‌شوند [۲۱].

بیان ژن‌های STAT تحت کنترل هورمون پرولاکتین است. در این مسیر گیرنده پرولاکتین منجر به راه‌اندازی فعالیت پروتئین STAT1، STAT3 و STAT5 می‌گردد و این پروتئین‌ها در ادامه رونویسی ژن‌هایی را که در تراوش پروتئین شیر و ترکیبات آن نقش دارند را تنظیم می‌کنند [۴ و ۱۰]. در مطالعه‌ای بیان STAT1، STAT3، STAT5 در غدد پستانی بزهای شیری اندازه‌گیری و گزارش شد که بیان این ژن‌ها به وسیله هورمون رشد تنظیم می‌شود [۵]. مطالعه تنظیم بیان STAT به وسیله تأثیرات تغییر بافت چربی نشان داد که STAT1، STAT5a، STAT5b منحصراً به وسیله عوامل مؤثر انفرادی تغییرات تنظیم نمی‌شوند و

بیان آنها با تجمع چربی‌ها مرتبط است [۱۹]. شواهدی وجود دارد که STAT1 در توسعه و تمایز غدد پستانی نقش دارد [۵].

میزان بیان ژن‌های STAT3 و STAT1 در غدد پستانی در دوره شیرواری مورد بررسی قرار گرفت و بیان ژن STAT3 از ابتدا تا اواسط شیرواری افزایش و سپس به صورت معنی‌داری در هنگام عدم شیرواری کاهش می‌یابد، اما در بیان ژن STAT1 تغییرات معنی‌داری در طول دوره شیرواری مشاهده نشد [۲۳]. با استفاده از روش تعیین توالی DNA ژنومی چندشکلی تک‌نوکلئوتیدی (C/T) در باز ۲۱۳ در توالی بیان شده برچسب‌دار (EST) شناسایی شد، هم‌ترازی این توالی با توالی پیش‌بینی شده از ناحیه '۳ غیرقابل ترجمه از ژن STAT1 شباهت صددرصدی را بین این دو توالی نشان داد. این چندشکلی تک‌نوکلئوتیدی (C/T)با باز آلی در موقعیت ۳۱۴۱ در ناحیه 3'UTR ژن STAT1 مطابقت داشت. این EST در بانک جهانی ژن با شماره (XM-872927) توسط مؤسسه بیلور منتشر شده است [۷].

چندشکلی تک‌نوکلئوتیدی (T/C) در ناحیه 3'UTR در گاو نقش تنظیمی در بیان ژنSTAT1 دارد و در پی اتصال هورمون‌های رشد، انسولین و هورمون‌های گلوکوکورتیکوئیدی به گیرنده خود فعال می‌شوند و اثرات خود را اعمال می‌کنند [۳ و ۸]. چندشکلی در ناحیه 3'UTR این ژن نقش تنظیمی در بیان ژن دارد و با صفات تولیدی در ارتباط است [۷، ۱۰ و ۱۶].

هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی چندشکلی تک‌نوکلئوتیدی (T/C) در ناحیه 3'UTR ژن STAT1 در گاوهای شیری نژاد براون‌سوئیس توسط روش PCR-RFLP و بررسی ارتباط آن با صفات تولید شیر می‌باشد.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی چندشکلی تک‌نوکلئوتیدی ژن STAT1 (با شماره دستیابیAW289395 در بانک ژن) با روش PCR-RFLP و بررسی ارتباط آن با صفات تولید شیر از ۹۸ گاو شیری نژاد براون سوییس از گاوداری‌های صنعتی مشهد خون گیری شد. خون‌گیری از ورید دمی در لوله‌های خلاء حاوی ماده ضد انعقاد EDTA انجام شد. استخراج DNA از خون کامل با کیت CinnaPure DNA با شماره کاتالوگ (PR881612) محصول شرکت سیناژن انجام شد. کیفیت DNA با استفاده از ژل آگارز یک‌درصد تعیین شد. در این تحقیق یک قطعه دارای ۳۱۴ جفت باز از ناحیه 3'UTR ژن STAT1 با استفاده از آغازگرهای اختصاصی جدول ۱ تکثیر شد [۶].

جدول ۱. توالی پرایمر های مورد استفاده

پرایمر	توالی
رفت	F 5'–GCCTCAAGTTTGCCAGTGGC-3'
برگشت	R 5'–GGCTCCCTTGATAGAACTGT-3'

برای واکنش تکثیر از دستگاه PCR (مدل Biometraساخت آلمان) استفاده شد. حجم هر نمونه ۲۵ میکرولیتر شامل: نه میکرولیتر DNA (۵۰-۱۰۰ نانوگرم)، ۰/۲ میکرولیتر از Taq پلیمراز (یک واحد)، یک و نیم میکرولیتر از هر یک از آغازگرها (۱۰پیکومول)، ۰/۵ میکرولیتر dNTP (۱۰ میلی‌مولار)، ۱/۵ میکرولیتر $Mgcl_2$ (۲۰۰ میلی‌مولار)، یک میکرولیتر DMSO، ۲/۵ میکرولیتر بافر استاندارد PCR و ۷/۳ میکرولیتر dH_2O بود. برنامه دمایی تکثیر این جایگاه به تعداد ۳۰ چرخه حرارتی در جدول ۲ گزارش شده است [۷].

جدول ۲. برنامه حرارتی واکنش زنجیره‌ای پلیمراز برای تکثیر یک قطعه از ژن STAT1

مراحل واکنش	زمان	دما (درجه سانتی‌گراد)	تعداد چرخه
واسرشت شدن اولیه	۵ دقیقه	۹۵	۱
واسرشت شدن	۴۵ ثانیه	۹۴	۳۰
اتصال	۴۵ ثانیه	۶۵ به ۵۰ (touchdown)	۳۰
طویل شدن	۴۵ ثانیه	۷۲	۳۰
طویل شدن نهایی	۷ دقیقه	۷۲	۱

محصول PCR روی ژل آگارز دو درصد بارگذاری شد و توسط دستگاه عکس‌برداری (UVP ساخت انگلیس) از ژل عکس‌برداری شد. برای شناسایی الگوهای ژنوتیپی مختلف در جایگاه ژن STAT1 از روش RFLP استفاده شد. قطعه مورد نظر توسط آنزیم Pag1 محصول شرکت فرمنتاز هضم شد. در آنالیز RFLP، پنج میکرولیتر محصول PCR به همراه دو میکرولیتر بافر 10X و سه واحد (۰/۳ میکرولیتر) آنزیم Pag1 و ۱۲/۷ میکرولیتر dH_2O با هم مخلوط و به مدت شش ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد.

هنگام هضم آنزیمی محصولات PCR، در ژنوتیپ هموزیگوت(TT)، فقط یک قطعه با ۳۱۴ جفت باز بر روی ژل قابل مشاهده بود، در ژنوتیپ هموزیگوت (CC) دو قطعه با ۲۰۱ و ۱۱۳ جفت باز ایجاد گردید که روی ژل، دو باند قابل مشاهده بود و برای ژنوتیپ هتروزیگوت (CT) سه قطعه با ۳۱۴، ۲۰۱ و ۱۱۳ جفت باز ایجاد شد که روی ژل سه باند قابل مشاهده بود. برای مشاهده قطعات هضم شده از الکتروفورز ژل آگاروز سه درصد استفاده شد. برای نمایان کردن باندها از رنگ‌آمیزی اتیدیوم بروماید استفاده شد و سپس تصویر باندها با استفاده از دستگاه عکس-برداری از ژل ثبت و در ادامه الگوی ژنوتیپی دام‌ها با مشاهده مستقیم باندها از روی ژل تعیین شد.

صفات مورد مطالعه در تحقیق حاضر شامل مقدار میانگین تولید شیر ماهانه، درصد و مقدار چربی شیر و درصد و مقدار پروتئین شیر بود. برای بررسی چگونگی ارتباط صفات تولید شیر با الگوی ژنوتیپی گاو ماده در جایگاه ژن STAT1 از رویه مدل خطی عمومی (GLM) نرم‌افزار آماری SAS (نسخه ۹/۱) و مدل ۱ استفاده شد [۱۷] و میانگین‌ها با آزمون دانکن مقایسه شدند.

(۱)

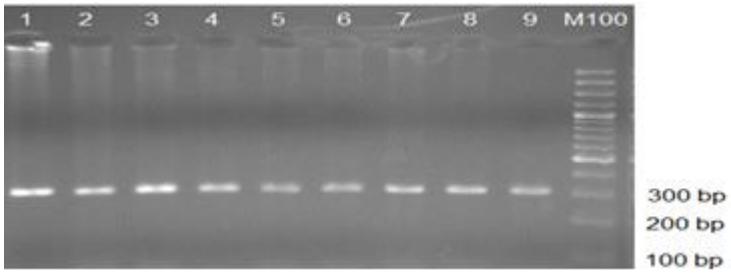
$$Y_{ijkmn} = \mu + S_i + G_j + HYS_k + L_m + M_n + e_{ijkmn}$$

در این رابطه، Y_{ijkmn}، مقدار رکورد ماهیانه صفت مورد مطالعه، μ میانگین صفت، S_i اثر تصادفی iامین پدر (۲۵ سطح)، G_j اثر ثابت jامین الگوی ژنوتیپی (سه سطح)، HYS_k اثر ثابت kامین گله - سال – فصل زایش (۳۰ سطح)، L_m اثر mامین دوره زایش (پنج زایش)، M_n، اثر ثابت nامین دفعات دوشش (دو یا سه بار دوشش) و e_{ijkmn} اثر خطا می‌باشد.

برآورد فراوانی‌های ژنوتیپی، آللی، سایر ساختارهای ژنتیکی و جمعیتی با نرم‌افزار POPGENE (3.1) برآورد شدند [۲۲].

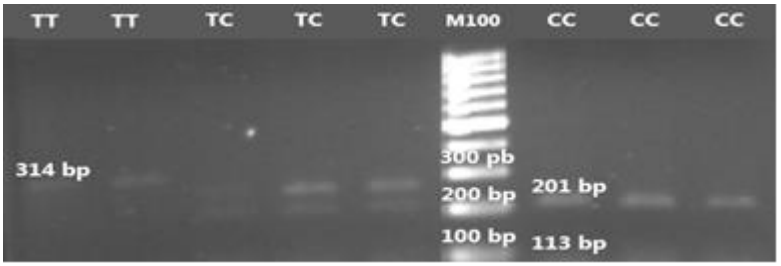
نتایج و بحث

بارگذاری DNA استخراج شده روی ژل آگارز فاقد آلودگی و حاوی مولکول‌های DNA سالم بود. درخشندگی باندهای حاصل نشان داد که غلظت DNA در محلول استخراج شده مطلوب است. استاندارد وزن مولکولی استفاده شده در کنار محصولات PCR صحت و درستی تکثیر قطعه ۳۱۴ جفت بازی مورد نظر را تائید می کند (شکل ۱).



شکل ۱ . قطعه ۳۱۴ جفت بازی حاصل از PCR برای ژن STAT1 روی ژل آگارز دو درصد

نتایج حاصل از آنالیز RFLP پژوهش حاضر، الگوی‌های باندی متفاوت را برای دو آلل T و C نشان داد. در صورت هضم آنزیمی محصولات PCR با آنزیم برشی در دام‌هایی با ژنوتیپ هتروزیگوت (TC) قطعات ۳۱۴ bp، ۲۰۱ bp و ۱۱۳ bp حاصل شد. در صورت عدم ایجاد جهش ژنوتیپ حیوان هموزیگوت (TT) و قطعه ۳۱۴ bp تکثیر شده و تنها یک باند مشاهده شد. در ژنوتیپ هموزیگوت CC، بر روی هر دو رشته کروموزوم جایگاه برشی آنزیم وجود داشت و قطعات دارای ۲۰۱ و ۱۱۳جفت باز مشاهده شدند (شکل ۲).



شکل ۲ . الگوی باندی حاصل از هضم توسط آنزیم Pag1 بر روی ژل آگارز ۳ درصد

فراوانی الگوهای ژنوتیپی شامل TT، TC و CC به‌ترتیب ۰/۲۳، ۰/۲۵ و ۰/۵۲ برآورد شدند و فراوانی آلل‌های T و C به‌ترتیب ۰/۳۵۵ و ۰/۶۴۵ محاسبه گردید. تعداد آلل موثر ۱/۸۴ بود که نزدیک به تعداد آلل واقعی (دو آلل) بود. هتروزیگوسیتی مشاهده شده ۰/۲۵ برآورد شد و هتروزیگوسیتی مورد انتظار ۰/۴۵۸ بود. تنوع ژنتیکی در جمعیت براساس معیارهایی نظیر هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار و شاخص نئی بیان می‌شود. در جامعه مورد مطالعه شاخص نئی ۰/۴۵۶ برآورد شد و این نتایج نشان می‌دهد که میزان تنوع در این جامعه از متوسط کمتر می‌باشد (جدول ۳).

جدول ۳ . هموزیگوسیتی و هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار در ژن STAT1

ژن	اندازه نمونه	تعداد آلل موثر	هموزیگوسیتی مشاهده شده	هتروزیگوسیتی مشاهده شده	هموزیگوسیتی مورد انتظار	هتروزیگوسیتی مورد انتظار	شاخص نئی	شاخص شانون
STAT1	۱۹۶	۱/۸۴	۰/۷۵	۰/۲۵	۰/۵۴۲	۰/۴۵۸	۰/۴۵۶	۰/۶۴۹

نتایج آزمون مربع کای نیز نشان داد که جمعیت مورد مطالعه در تعادل هاردی‌وینبرگ نمی‌باشد (P<۰/۰۵). عدم تعادل هاردی‌وینبرگ در جمعیت حاضر می‌تواند احتمالاً به دلیل تعداد کم نمونه‌ها و یا اثر انتخاب در جامعه مورد مطالعه و یا سایر عوامل تغییر دهنده فراوانی‌های ژنی و ژنوتیپی نظیر تصادفی نبودن آمیزش‌ها باشد.

فراوانی‌های آللی و ژنوتیپی در این تحقیق در گاو نژاد براون‌سوییس مشابه نتایج گزارش شده درگاو شیری نژاد هلشتاین می‌باشد. فراوانی ژنوتیپ TT درگاو هلشتاین در دامنه ۷/۹۲ تا ۱۰/۶۳ درصد گزارش شد، فراوانی آلل T در گاوهای فلکویه جمهوری چک ۰/۱۵ و فراوانی این آلل برای گاوهای هلشتاین در دامنه ۰/۲۹ تا ۰/۳۴ گزارش شد [۷و ۱۶]. آلل T به عنوان آلل با فراوانی کم در تحقیقات گزارش شده است و در نمونه مورد مطالعه در این تحقیق مشابه سایر تحقیقات فراوانی آلل T با مقدار ۰/۳۵۵ نسبت به آلل C کمتر بود [۷و۱۰]. در یک تحقیق چندشکلی ناحیه غیر قابل ترجمه '۳ در سه نژاد گاومیش بررسی شد، نتایج نشان داد که این ناحیه در جمعیت مورد مطالعه یک‌شکل بود و در هضم آنزیمی تمام نمونه‌ها، قطعه ۳۱۴ جفت‌بازی تکثیر شده برش خورده و تنها یک ژنوتیپ مشاهده شد و آلل C در جامعه مورد مطالعه تثبیت شده بود [۱۲].

نتایج مقایسه میانگین صفات تولید شیر بین الگوهای متفاوت ژنوتیپی در جدول (۴) آورده شده است. مقایسه بین میانگین‌های ژنوتیپ‌های ژن STAT1 در صفات تولیدی شیر برای مقدار تولید شیر، درصد و مقدار چربی شیر، مقدار پروتئین شیر معنی‌دار نبود درحالی‌که بر درصد پروتئین شیر معنی‌دار بود (P<۰/۰۵).

جدول ۴ . مقایسه میانگین صفات تولید (انحراف معیار) برای ژنوتیپ‌های ژن STAT1

ژنوتیپ	شیر ماهانه (کیلوگرم)	درصد چربی	مقدار چربی (کیلوگرم)	درصد پروتئین	مقدار پروتئین (کیلوگرم)
TT	۲۱/۱۹^{a}(۰/۹۱)	۳/۵۴^{a}(۰/۰۶)۰	۷۴/۰^{a}(۰/۰۳۱)	۳/۵۳^{b}(۰/۰۶۹)	۰/۷۴^{a}(۰/۰۲۹)
TC	۲۰/۵۶^{a}(۰/۹۱)	۳/۵۹^{a}(۰/۱۲)	۷۳/۰^{a}(۰/۰۳۶)	۳/۷۲^{a}(۰/۰۶۵)	۰/۷۶^{a}(۰/۰۳۶)
CC	۲۳/۲۷^{a}(۱/۲)	۳/۳۷^{a}(۰/۰۸)	۰/۷۷^{a}(۰/۰۳۵)	۳/۴۱^{b}(۰/۰۶۱)	۰/۷۸^{a}(۰/۰۳۷)

میانگین تولید شیر ماهانه برای ژنوتیپ CC ۲۳/۲۷ کیلوگرم بود و بیشتر از مقدار این صفت برای دو ژنوتیپ TC و TT بود. برای صفات درصد چربی و درصد پروتئین بیشترین درصد مربوط به ژنوتیپ TC به ترتیب با مقادیر ۳/۵۹ و ۳/۷۲ درصد بود که با توجه به همبستگی منفی بین صفت تولید شیر با درصد چربی و پروتئین، ژنوتیپ TC

دارای کمترین مقدار میانگین تولید شیر ماهانه (۲۰/۵۶ کیلوگرم) بود. روند تغییرات در میانگین‌های صفات برای سه ژنوتیپ مشابه نتایج گزارش شده سایر محققین بود [۷ و ۱۶].

در یک مطالعه ژنوتیپ‌های CC، CT در ژن STAT1 در مقایسه با ژنوتیپ TT در گاوهای شیری هلشتاین به‌طور قابل توجهی میزان تولید شیر، چربی و پروتئین بالاتری داشتند و تفاوت بین آنها معنی‌دار گزارش شد [۷]، در مطالعه حاضر نیز گاوهایی با ژنوتیپ CC دارای میانگین بزرگتر برای صفات تولید شیر (۲۳/۲۷ کیلوگرم)، مقدار چربی (۰/۷۷ کیلوگرم) و مقدار پروتئین (۰/۷۸ کیلوگرم) در مقایسه با دو ژنوتیپ دیگر بودند.

در مطالعه مربوط به گاوهای فلکویه جمهوری چک ارزش اصلاحی برای درصد پروتئین و درصد چربی برای ژنوتیپ TC از ژنوتیپ های CC و TT بیشتر بود و ارزش اصلاحی برای صفات مقدار شیر و پروتئین در ژنوتیپ CC (به ترتیب ۱۹۱ و ۵/۷۹) بیشتر از دو ژنوتیپ CT (به ترتیب با مقادیر ۱۱۲ و ۴/۴۲) و TT (به ترتیب با مقادیر ۱۷۲ و ۵/۲۵) گزارش شد و برای صفت مقدار چربی ارزش اصلاحی برای ژنوتیپ CC (۶/۲۵) بیشتر از ژنوتیپ TT (۵/۴۷) بود [۱۶]. همچنین، ژن STAT1 بر پروفایل اسیدهای چرب شیر تأثیر دارد [۱۳].

در تحقیق حاضر نتایج نشان داد که آلل C اثر مثبتی روی صفات تولید شیر، چربی و پروتئین دارد که مشابه نتایج سایر محققین می‌باشد، گزارش شد که آلل C با مقادیر بیشتر چربی و پروتئین شیر ارتباط دارد [۷]. اختلاف معنی‌داری بین درصد پروتئین و درصد چربی مربوط به ژنوتیپ های CC و CT وجود دارد و نیز این تفاوت برای ارزش‌های اصلاحی این دو صفت گزارش‌شد[۱۶]. این نتایج با یافته‌های تحقیق حاضر مطابقت دارد.

تحقیقات نشان می‌دهد که یکی از ژن‌های منتخب برای مطالعه مبدل سیگنال و فعال‌کننده رونویسی، STAT1 است که مسئول سنتز پروتئین شیر و همچنین متابولیسم چربی شیر است. بررسی ژنوم کامل در گاو هلشتاین با استفاده از ریزماهواره‌ها نشان داد که همبستگی معنی‌داری بین صفات تولیدی و نشانگرهای ریزماهواره در مجاورت STAT1 وجود دارد [۲، ۱۳و۲۴].

چندشکلی در ژن STAT1 با صفات تولید شیر ارتباط دارد. مکان این ژن در فاصله ۶۰ تا ۶۳ سانتی‌مورگان گزارش شده است. یک QTL مؤثر بر درصد پروتئین شیر پیوسته با نشانگر ریز ماهواره BM1126 در موقعیت ۶۱/۷ سانتی‌مورگان از سانترومرگزارش شد [۷]. همچنین تحقیقات نشان داد که یک QTL مرتبط با درصد چربی شیر در پیوستگی با ریزماهواره‌های ETH121 و BM4440 در فاصله ۳۸ تا ۶۰/۳ سانتی‌مورگان قرار دارد [۲].

وجود ارتباط بین ژن STAT1 با صفات تولید شیر می تواند به این دلیل باشد که بیان ژن STAT1 تحت کنترل هورمون پرولاکتین می‌باشد، هورمون پرولاکتین پس از یکسری مراحل سبب فعال‌سازی پروتئین‌های STAT1، STAT3 و STAT5 می‌شود و این پروتئین‌ها در تنظیم رونویسی سایر ژن‌های مرتبط با ترشح پروتئین‌های شیر دخالت دارند، همچنین سطح بیان ژن STAT1 در غدد پستانی در کل دوره‌شیردهی تغییرمعناداری ندارد [۵، ۲۰و۲۳].

نتایج یک تحقیق نشان داد که ژن‌های STAT1 و STAT3 روی باروری و رشد اولیه جنین نقش دارند [۱۱]. همچنین آلل C ژن STAT1 سبب افزایش سلول های بدنی

شیر در مقایسه با آلل T شد و بیان شد که پروتئین‌های ژن‌های STAT در ارتباط با سایتوکین‌ها و انتقال پیام اینترفرون‌ها می‌باشد و روی سیستم ایمنی نقش دارند [۷و ۸]. محققین ارتباط ژن STAT1 با صفات تولید شیر را معنی‌دار و ارتباط آن با صفات تولید مثل را بی‌معنی گزارش کردند [۱۶]، لذا گزارشات منتشر شده و نتایج حاصل از این تحقیق بیان کننده تاثیرات متعدد این ژن روی صفات تولیدی باروری و رشد، تولید مثلی و سیستم ایمنی می‌باشد.

مقدار صفات تولید شیر نتیجه اثر چندین ژن و تداخل بین ژن‌ها و البته تاثیر محیط و تداخل ژنوتیپ و محیط می‌باشد. میزان بیان ژن STAT1 در تداخل با هورمون‌هایی نظیر پرولاکتین و هورمون رشد می‌باشد، این هورمون‌ها با رشد و توسعه غدد پستانی و تولید شیر مرتبط می‌باشند. همچنین نتایجی یافت شده است که ژن STAT1 نیز در توسعه و تمایز غدد پستانی نقش دارد. بنابراین نتایج حاصله از تحقیق حاضر و سایر مطالعات مبنی بر ارتباط این ژن با صفات تولید شیر با عنایت به تاثیرات این ژن و اثر تداخلی با سایر ژن‌های موثر بر تولید شیر در انتخاب اهمیت دارد.

روند تغییرات میانگین برای صفت مقدار پروتئین از ژنوتیپ TT به ژنوتیپ CC افزایش داشت. برای صفات مقدار شیر تولیدی و مقدار چربی کمترین میانگین مربوط به گاو هایی با ژنوتیپ TC و بیشترین میانگین مربوط به گاوهایی با ژنوتیپ CC بود. آلل T به عنوان آلل با فراوانی کم شناخته می‌شود و فراوانی کمتری نسبت به آلل C داشت از طرفی حضور آلل C در ژنوتیپ گاو اثر مثبت روی صفات تولید شیر، مقدار چربی و پروتئین دارد.

بنابراین با توجه به نتایج حاصله می‌توان بیان نمود که فراوانی آلل موثر بر صفات تولید شیر (آلل C) در نمونه مورد مطالعه مطلوب است. ارتباط بین ژنوتیپ‌ها با صفات تولید شیر بغیر از صفت درصد پروتئین در این تحقیق معنی‌دار نشد. با وجود اینکه چندشکلی تک‌نوکلئوتیدی (C/T) در ناحیه غیرقابل ترجمه '۳ قرار دارد اما با توجه به نقش تنظیمی آن روی mRNA و بیان ژن به عنوان یک نشانگر منتخب و با اثر معنادار بر روی صفات تولید شیر اهمیت دارد لذا در انتخاب دام‌ها به کمک نشانگر می‌توان از این نشانگر به همراه سایر نشانگرهای موثر بر صفات تولید شیر استفاده نمود.

منابع

1. Akira S (1999) Functional roles of STAT family proteins: Lessons from knockout mice. Stem Cells 17:138–146.
2. Ashwell MS, Heyen DW, Sonstegard TS, Van Tassell CP, VanRaden PM, Ron M, Weller JI and Lewin HA (2004) Detection of quantitative trait loci affecting milk production, health and reproductive traits in Holstein cattle. Journal of Dairy Science. 87: 468-475.
3. Band MR, Larson JH, Rebeiz M, Green CA, Heyen DW, Donovan J, Windish R, Steining C, Mahyuddin P, Womack JE and Lewin HA (2000) An ordered comparative map of the cattle and human genomes. Genome Research. 10: 1359-1368.
4. Bole-Feysot C, GoffinV, Edery M, Binart N and Kelly PA (2005) Prolactin (PRL) and its receptor: Actions, signal transduction pathways and phenotypes observed in PRL receptor knockout mice. Endocrin Reviews. 19: 225-268.
5. Boutinaud M and Jammes H (2004) Growth hormone increases Stat5 and Stat1 expression in lactating goat mammary gland: A specific effect compared to milking frequency. Domestic Animal Endocrinology. 27: 363-378.

6. Brym P, Kaminski S and Ruoeæ A (2004) New SSCP polymorphism within bovine STAT5A gene and its associations with milk performance traits in Black and White and Jersey cattle. Journal of Applied Genetics. 45: 445-452.

7. Cobanoglu O, Zaitoun I, Chang YM, Shook GE and Khatib H (2006) Effects of the signal transducer and activator of transcription1 (STAT1) gene on milk production traits in Holstein dairy cattle. Journal of Dairy Science. 89: 4433-4437.

8. Darnell J E (1997) STATs and gene regulation. Science. 277: 1630-1635.

9. De Koning D (2006) Conflicting candidates for cattle QTLs. Trends Genetic. 22: 301-305.

10. Khatib H, Huang W, Mikheil D, Schutzkus V and.Monson L (2009) Effects of signal transducer and activator of transcription (STAT) genes STAT1and STAT3 genotypic combinations on fertilization and embryonic survival rates in Holstein cattle. Journal of Dairy Science. 92: 6186-6191.

11. Khatkar MS, Thomson PC, Tammenand I and.Raadsma HW (2004) Quantitative trait loci mapping in dairy cattle: Review and meta-analysis. Genetic Selectin Evolution. 36: 163-190.

12. Kumar M, Vohra V, Ratwan P and Chakravarty AK (2015) Exploring polymorphism in 3' UTR region of STAT1 gene in different Buffalo breeds. Indian Journal of Dairy Science. 68(5): 473-476.

13. Li C, Sun D, Zhang S, Wang S, Wu X, Zhang Q, Li Y and Qiao L (2014) Genome Wide Association Study Identifies 20 Novel Promising Genes Associated with Milk Fatty Acid Traits in Chinese Holstein. PLoS ONE. 9(5): e96186.

14. Mackinnon MJ and Georges MAJ (1998) Marker assisted pre selection of young dairy sires prior to progeny-testing. Livestock Production Science. 54: 229-250.

15. Pollak EJ (2005) Application and impact of new genetic technologies on beef cattle breeding: a ‘real world’ perspective. Australian Journal of Experimental Agriculture. 45: 739-748.

16. Rychtarova J, Sztankoova Z, Kyselova J, Zink V, Stipkova M, Vacek M and Stolc L (2014) Effect of DGAT1, BTN1A1, OLR1, and STAT1 genes on milk production and reproduction traits in the Czech Fleckvieh breed. Czech Journal of Animal Science. 59(2): 45-53.

17. SAS (2005) Statistics analysis system user’s Guide. Release 9.1. SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA.

18. Soller M (1994) Marker assisted selection-An overview. Animal Biotechnology. 3: 193-201.

19. Stewart WC, Morriso RF, Young SL and Stephens JM (1999) Regulation of signal transducers and activators of transcription (STATs) by effectors of adipogenesis: Coordinate regulation of STATs 1, 5A, and 5B with peroxisome proliferator-activated receptor- γ and C/AAAT enhancer binding protein-α. Biochimica et Biophysica Acta. 1452: 188–196.

20. Tucker HA (2000) Hormones, mammary growth, and lactation: A 41-year perspective. Journal of Dairy Science. 83: 874-884

21. Watson CJ (2001) STAT transcription factors in mammary gland development and tumor genesis. Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia. 6: 115-127.

22. Yeh FC and Yong RC (1990) PopGene version 1.31. University of Alberta.

23. Yonekura S, Miyazaki H and Tokutake Y (2015) Comparative Expression Profiling of Lactogenic Hormone Receptor and It's Signaling Molecules of Bovine Mammary Glands during lactation. Open Journal of Animal Sciences. 5: 106-113

24. Zimin AV, Delcher AL, Florea L, Kelley DR, Schatz MC, Puiu D, Hanrahan F, Pertea G, Van Tassell CP, Sonstegard TS, Marçais G, Roberts M, Subramanian P, Yorke JA and Salzberg SL (2009) A whole-genome assembly of the domestic cow, Bos Taurus. Genome Biology. 10(4): R42.