



تولیات دامی

دوره ۱۹ ■ شماره ۱ ■ بهار ۱۳۹۶

صفحه‌های ۲۲-۱۳

شناسایی چندشکلی گیرنده‌ی یک ژن دوپامین در مرغ بومی خوزستان با استفاده از روش PCR-RFLP

مریم بازگیری^{۱*}، محمدتقی بیگی نصیری^۲، جمال فیاضی^۳

۱. کارشناس ارشد، دانشکده‌ی علوم دامی و صنایع غذایی، گروه علوم دامی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان، اهواز-ایران

۲. استاد، دانشکده‌ی علوم دامی و صنایع غذایی، گروه علوم دامی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان، اهواز-ایران

۳. دانشیار، دانشکده‌ی علوم دامی و صنایع غذایی، گروه علوم دامی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان، اهواز-ایران

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۰۹/۲۹

تاریخ وصول مقاله: ۱۳۹۴/۰۷/۳۰

چکیده

این پژوهش به منظور بررسی چندشکلی گیرنده‌ی یک ژن دوپامین با استفاده از روش PCR-RFLP در مرغ بومی خوزستان انجام شد. به طور تصادفی از ۱۰۰ قطعه مرغ بومی خوزستان خون‌گیری شد و DNA نمونه‌ها با استفاده از روش نمکی استخراج شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز برای تکثیر قطعه ۲۸۳ جفت باز (گیرنده‌ی یک) ژن دوپامین به کمک آغازگرهای اختصاصی انجام و قطعه تکثیر شده به وسیله آنزیم برشی *CfrI* هضم شد. فراوانی آلل‌های G و A به ترتیب ۰/۳۹ و ۰/۶۱ و فراوانی ژنوتیپ‌های AA، AG و GG به ترتیب ۰/۴۰، ۰/۱۸ و ۰/۴۲ بود. بر اساس نتایج آزمون مربع کای فراوانی ژنوتیپ‌ها در این جایگاه ژنی در حالت تعادل هاردی-وینبرگ نبودند. با تعیین توالی دو جهش در بازهای ۱۲۳ و ۱۹۸، (به ترتیب از نوع A به G و C به T) مشاهده شد. نتایج حاصل از توالی‌یابی مشخص کرد که آنزیم برشی *CfrI*، به درستی جهش‌ها را شناسایی می‌کند.

کلیدواژه‌ها: چند شکلی، ژن دوپامین، کرچی، مرغ تخمگذار بومی

مقدمه

در پرورش مرغ تخمگذار، هدف کاهش کرچی و افزایش تولید تخم مرغ است. هورمون پرولاکتین عامل اصلی شروع کرچی و ادامه دوره آن در طیور می‌باشد. در طیور، دوپامین ترشح پرولاکتین در مغز را مهار می‌کند [۲۳]. منشاء هورمون دوپامین هیپوتالاموس می‌باشد که از وظایف آن، جلوگیری از آزاد شدن پرولاکتین می‌باشد. دوپامین متعلق به گروهی از انتقال دهنده‌های عصبی به نام کاته کولامین‌ها است و از فراوان ترین آنها در مغز می‌باشد. نقش و اهمیت دوپامین به عنوان یک انتقال دهنده عصبی در تنظیم عملکردهای مختلف فیزیولوژیکی در سیستم عصبی مرکزی به خوبی شناخته شده است [۴، ۵، ۹ و ۱۱].

برای دوپامین، گیرنده‌های متعددی شناسایی شده است که هرکدام در اعمال خاصی دخالت دارند. گیرنده‌های دوپامین با بسیاری از عملکردهای سلولی در ارتباط هستند و با پروتئین‌های G جفت می‌شوند [۳]. معمولاً، فعالیت این گیرنده‌ها منجر به تغییرات سطوح آدنوزین مونوفسفات حلقوی داخل سلولی شده [۱۲] و آبشارهای پیام رسان را تحریک می‌کند که این خود باعث افزایش رونویسی در ژن می‌شود [۸]. براساس الگوهای پروتئین G و نحوه عملکرد پیام‌دهی داخل سلولی، گیرنده‌های دوپامین به دو دسته، گیرنده‌های D1 (متصل به پروتئین Gas) و گیرنده‌های شبه D2 (متصل به پروتئین Gai) تقسیم می‌شوند [۱۳ و ۱۷]. همچنین بر اساس کدون ژنی، گیرنده‌های شبه D1 به D1 و D5 و گیرنده‌های شبه D2 به D2، D3 و D4 تقسیم می‌شوند [۱۶]. در مغز رایج‌ترین گیرنده‌ها D1 و D2 بوده و بیشترین بیان گیرنده‌های دوپامین را دارند [۱۹].

درمان مرغ با آنتاگونیست گیرنده دوپامین سبب خاتمه کرچی در اثر مهار پرولاکتین می‌شود [۲۳]. گیرنده‌ی یک دوپامین نقش عمده ترشح پرولاکتین را از طریق وی آی پی روده‌ای انجام می‌دهد. دوپامین همچنین از طریق فعال کردن

گیرنده دو، از ترشح پرولاکتین در سطح هیپوفیز جلوگیری می‌کند [۱۵].

ژن گیرنده‌ی یک دوپامین در مرغ که روی کروموزوم ۱۳ قرار دارد، شامل ۱۳۵۶ نوکلئوتید می‌باشد که ۴۵۶ اسید آمینه یک پروتئین را کد گذاری می‌کند [۲۳]. در یک تحقیق ارتباط بین پلی مورفیسم گیرنده‌ی چهار دوپامین با رفتارهای مختلف اسب‌ها در شرایط افسردگی مطالعه شد که وجود یا عدم وجود آلل A چند شکلی را مشخص می‌کرد که در این بررسی چند شکلی مشاهده شد [۱۴]. در یک پژوهش گیرنده‌ی یک ژن دوپامین در غاز به وسیله آنزیم برشی *TspRI* مورد هضم قرار گرفت که دو الگوی ژنوتیپی را نشان داد [۲۱]. در نتایج یک پژوهش نشان داده شد که ارتباط بین جهش‌های موجود در گیرنده‌ی چهار دوپامین با کرچی معنی دار است [۲۲]. هدف از پژوهش حاضر، شناسایی چندشکلی گیرنده‌ی یک ژن دوپامین به روش PCR-RFLP و همچنین تعیین فراوانی آللی و ژنوتیپی آن در جمعیت مرغ بومی خوزستان بود.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از ۱۰۰ قطعه مرغ بومی متعلق به مرکز مرغ بومی استان خوزستان (شرکت نهاده‌های دامی جاهد) از طریق سیاهرگ بال به میزان ۳-۴ سی سی و با استفاده از لوله‌های خلاء حاوی ماده ضد انعقاد EDTA خونگیری شد. نمونه‌های خون روی یخ به آزمایشگاه مرکزی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان منتقل شد و تا زمان استخراج DNA در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. DNA نمونه‌های خون، پس از تغییر و بهینه‌سازی روش نمکی، استخراج شد [۱۰]. مقدار و کیفیت DNA با استفاده از نانودراپ و ژل آگارز ارزیابی شد. پس از تایید کیفیت DNA استخراج شده، تکثیر قطعه‌ی دارای ۲۸۳ جفت باز گیرنده‌ی یک ژن دوپامین با استفاده از یک جفت آغازگر اختصاصی [۲۳] طی واکنش PCR و دستگاه ترموسیکلر انجام شد (جدول ۱).

تولیدات دامی

جدول ۱. مشخصات جایگاه‌های مورد مطالعه

ژن	توالی آغازگر	طول قطعه‌ی تکثیر شده
گیرنده یک ژن دوپامین	جفت باز	۲۸۳
F: 5'-CACTATGGATGGGGAAGGGTTG-3'		
R: 3'-GGCCACCCAGATGTTGCAAATG-5'		

مرحله	واکنش	دما (درجه سانتی‌گراد)	زمان (ثانیه)	تعداد چرخه
۱	واسرشته سازی اولیه	۹۵	۳۰۰	۱
	واسرشته سازی ثانویه	۹۵۳۰		
۲	اتصال	۵۸۳۰/۴	۳۵	۱
	بسط	۴۰ ۷۲		
۳	بسط نهایی	۷۲	۶۰۰۰	۱

PCR در چرخه حرارتی ذکر شده در جدول ۲ استفاده شد. برای آشکار کردن الگوهای بانندی حاصل از تکثیر PCR از الکتروفورز ژل آگارز ۱/۵ درصد استفاده شد. برای هضم آنزیمی محصولات PCR از آنزیم برشی اختصاصی *CfrI*، که از پنج جفت باز تشکیل شده است استفاده شد. واکنش هضم آنزیمی DNA با آنزیم *CfrI*، به مدت ۱۶ ساعت در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد در داخل بن ماری انجام شد و سپس محصولات هضم آنزیمی بر روی ژل آگارز ۲/۵ درصد در ولتاژ ۹۰ به مدت دو ساعت الکتروفورز شد (جدول ۳).

طول آغازگر پیشرو و پیرو به ترتیب ۲۲ و ۲۳ نوکلئوتید بود آغازگرها طبق دستورالعمل شرکت سازنده با آب دو بار تقطیر رقیق شدند. واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر، شامل دو میکرولیتر (حدود ۱۵۰ نانو گرم) DNA، ۲/۵ میکرولیتر بافر PCR، یک میکرولیتر منیزیم کلرید، یک میکرولیتر از پرایمر رفت (۰/۲۵ میکرومول)، یک میکرولیتر از پرایمر برگشت (۰/۲۵ میکرومول)، ۰/۵ میکرولیتر dNTP، ۰/۲ میکرولیتر آنزیم تک پلیمراز (یک واحد) و ۱۶/۸ میکرولیتر آب استریل یا دو بار تقطیر به ازای هر نمونه انجام شد. از دستگاه ترموسایکلر (مدل Bio rad) برای انجام واکنش

جدول ۳. مواد لازم برای هضم آنزیمی *CfrI* گیرنده‌ی یک ژن دوپامین

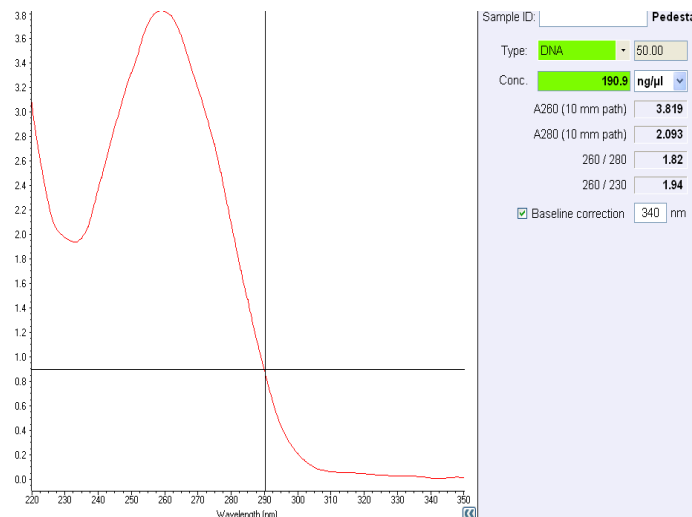
مواد	مقدار
محصول PCR	۱۰ میکرولیتر
بافر رقیق کننده	۱ میکرولیتر
آنزیم <i>CfrI</i>	۰/۵ میکرولیتر
H ₂ O	۱۸/۵ میکرولیتر
حجم کل	۳۰ میکرولیتر

تولیدات دائمی

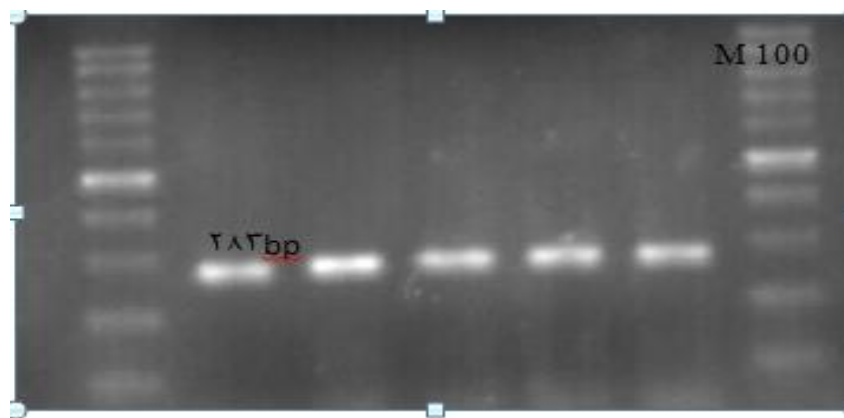
نتایج و بحث

نتایج تعیین مقدار و کیفیت DNA نشان داد که DNA استخراج شده برای ادامه پژوهش مناسب می‌باشد (شکل ۱). با توجه به تصویر نمونه‌های PCR شده بر روی ژل آگارز مشخص گردید که نمونه‌های مورد بررسی فاقد آلودگی و باند اضافه بوده و برنامه دمایی مورد استفاده، برای تکثیر ناحیه‌ی مورد نظر مناسب است (شکل ۲).

انواع ژنوتیپ بر اساس مشاهده تعداد و اندازه باندها با استفاده از دستگاه عکس برداری ژل داک تعیین شد. سپس با استفاده از نرم‌افزار آنالیز اطلاعات ژنتیک جمعیت (GenAlex6/3) فراوانی‌های آلی و ژنوتیپی محاسبه شد. برای اطمینان از صحیح بودن قطعه تکثیر شده و قطعات حاصل از برش آنزیمی، از نشانگر M100 استفاده شد. بر اساس الگوی باندهای مشاهده شده هضم آنزیمی، تعداد شش نمونه از محصولات PCR برای تعیین توالی فرستاده شدند. نتیجه‌ی تعیین توالی با نرم‌افزار Vector NTI بررسی شد.



شکل ۱. مقدار و کیفیت نمونه‌ی DNA ژنومی مرغ بومی خوزستان با استفاده از نانودراپ.



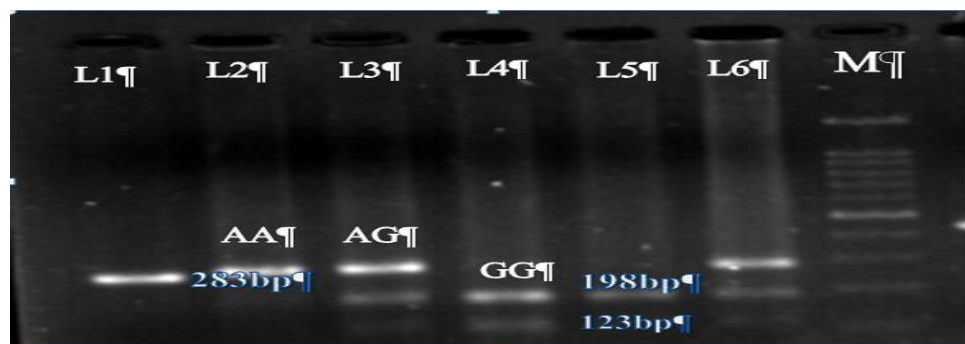
شکل ۲. قطعه ۲۸۳ جفت بازی تکثیر شده گیرنده‌ی یک ژن دوپامین در جفت پنج نمونه مرغ بومی خوزستان

تولیدات دامی

دوره ۱۹ ■ شماره ۱ ■ بهار ۱۳۹۶

PCR-RFLP همانند مطالعه حاضر سه ژنوتیپ AA، GG و AG در جایگاه گیرنده‌ی یک ژن دوپامین گزارش شد که ژنوتیپ مشاهده شده روی تولید تخم مرغ‌ها و وزن بدن در هفته ۴۵ تاثیر داشت، در این پژوهش فراوانی آلل A ۰/۴۲ و فراوانی آلل G ۰/۵۸ گزارش شد که با گزارش حاضر مطابقت نداشت. احتمالاً دلیل تفاوت فراوانی آللی در این دو تحقیق، تفاوت در نوع آنزیم برشی مورد استفاده، جمعیت‌های مورد مطالعه و محیط می‌باشد. از آنجایی که هر آنزیم برشی یک جایگاه برشی خاصی دارد بنابراین می‌تواند نتایج متفاوتی را نشان دهند [۱۸]. در تحقیقی روی گیرنده‌ی یک ژن دوپامین در شش جمعیت مرغ، سه ژنوتیپ AA، GG و AG مشاهده شد که با نتایج تحقیق حاضر مشاهده شد [۲۳].

آنزیم *CfrI* در گیرنده‌ی یک ژن دوپامین سه الگوی ژنوتیپی شامل AA، GG و AG را ایجاد کرد. مرغ‌های با الگوی ژنوتیپی AA یک باندها با طول ۲۸۳ جفت باز و مرغ‌های دارای الگوی ژنوتیپی GG، شامل دو باندها ۱۹۸ و ۱۲۳ جفت باز و مرغ‌های دارای الگوی ژنوتیپی GG دارای سه باندها شامل ۱۹۸، ۲۸۳ و ۱۲۳ جفت باز بر روی ژل آگارز نمایان ساختند (شکل ۳). در این تحقیق، سه ژنوتیپ و دو آلل شناسایی شدند. فراوانی ژنوتیپ‌های AA، GG و AG به ترتیب ۰/۴۰، ۰/۱۸ و ۰/۴۲ درصد و فراوانی آلل‌های G و A به ترتیب ۰/۳۹ و ۰/۶۱ محاسبه شد (جدول ۴). ژنوتیپ AG با ۰/۴۲ و آلل A با ۰/۶۱ دارای بیشترین فراوانی بودند. در مطالعه انجام شده روی مرغ زرد مجارستان به روش



شکل ۳. الکتروفورز محصولات حاصل از هضم با آنزیم اختصاصی *cfrI* و انواع الگوهای ژنوتیپی مرغ‌های بومی خوزستان

جدول ۴. فراوانی ژنوتیپی و آللی گیرنده‌ی یک ژن دوپامین

فراوانی‌ها	ژنوتیپ و آلل	تعداد
۰/۴۰	AA	فراوانی ژنوتیپی
۰/۱۸	GG	
۰/۴۲	AG	
۰/۶۱	A	فراوانی آللی
۰/۳۹	G	

تولیدات دایمی

دوره ۱۹ ■ شماره ۱ ■ بهار ۱۳۹۶

قرار گرفت. فراوانی آللی و توزیع ژنوتیپ در پنج جمعیت نشان داد که، جهش‌های A-38463D، A-65436G، I-38600، T-32751C، A-16105G، C-6539T و A+2794G با کرچی در ارتباط هستند که دلیلی بر وجود چند شکلی می‌باشد [۲۲]. محققین ارتباط بین چندشکلی گیرنده‌ی چهار ژن دوپامین (DRD4) با تغییر شخصیت در پرندگان را مورد بررسی قرار دادند. آنها دو دسته پرنده به صورت تصادفی در ۱۷ گله‌ی مختلف در هلند که به صورت سنتی پرورش داده می‌شدند، مطالعه و ۷۳ پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی گزارش نمودند [۷] که مؤید نتایج این آزمایش مبنی بر چندشکلی در دوپامین است. تنوع ژنتیکی در یک جمعیت را می‌توان با معیارهایی نظیر هتروزیگوسیتی مورد انتظار و هتروزیگوسیتی مشاهده شده تعیین کرد. در این تحقیق متوسط هتروزیگوسیتی ۴۴ درصد است که نشانه تنوع نسبتاً زیاد در گیرنده‌ی یک ژن دوپامین در مرغ بومی خوزستان است (جدول ۵).

در پژوهشی دیگر، چندشکلی گیرنده‌ی یک ژن دوپامین در مرغ بومی خوزستان به روش PCR-RFLP و با استفاده از آنزیم برشی *BseNI* بررسی شد و بر خلاف نتایج این تحقیق، جهش در ژن مورد مطالعه مشاهده نشد [۱]. در یک پژوهش روی اردک، چند شکلی در گیرنده‌ی یک ژن دوپامین مشاهده و مشخص شد که این گیرنده با برخی از صفات تولید مثل ارتباط دارد لذا می‌توان گیرنده‌ی یک ژن دوپامین را به عنوان ژن کاندیدا جهت انتخاب برای صفات تولیدمثل در اردک استفاده کرد [۲۰]. چند شکلی و بیان گیرنده‌ی یک ژن دوپامین غاز به روش RFLP با استفاده از آنزیم *TspRI*، مورد بررسی قرار داده شد که دو ژنوتیپ *GA* و *GG* مشاهده گردید اما ژنوتیپ هموزیگوت غالب (*AA*) که فقط شامل قطعه برش نخورده باشد مشاهده نشد [۲۱].

در یک پژوهش، ارتباط بین چند شکلی گیرنده‌ی دو ژن دوپامین با کرچی، در جمعیتی از مرغ قرمز جنگلی، مرغ زینگ هوانگ، مرغ بایر هوانگ و لگهورن مورد مطالعه

جدول ۵. فراوانی‌های هتروزیگوسیتی و هموزیگوسیتی الگوهای ژنوتیپی گیرنده‌ی یک ژن دوپامین

در جمعیت مرغ بومی خوزستان

جایگاه ژنی	هتروزیگوسیتی مشاهده شده	هتروزیگوسیتی مورد انتظار	متوسط هتروزیگوسیتی
ژن دوپامین	۰/۴۲	۰/۴۷۶	۰/۴۴۸

جمعیت شاخص شانون است که نشانه میزان تنوع ژنتیکی در جمعیت بر حسب درصد است. هرچه این شاخص به صفر نزدیکتر باشد تنوع کمتر است. میزان شاخص شانون محاسبه شده برای جمعیت مرغ بومی خوزستان ۶۷ درصد است که نشانه تنوع زیاد در جمعیت مورد مطالعه است (جدول ۶). شاخص برتری جایگاه ژنی در مطالعات پیوستگی محتوای اطلاعات چندشکلی است. بر اساس این

بررسی تعادل هاردی-واینبرگ ژن دوپامین در جمعیت و بررسی تطابق فراوانی ژنوتیپی مشاهده شده با فراوانی‌های مورد انتظار براساس فراوانی آلل‌های *A* و *G* مشخص کرد که جمعیت در تعادل هاردی-واینبرگ نیست. علت عدم تعادل در جایگاه می‌تواند نشانه وجود بعضی عوامل عدم تعادل هاردی واینبرگ نظیر (جهش، مهاجرت و انتخاب) باشد. یکی از شاخص‌های تنوع در

تولیدات دامی

واقعی به یکدیگر نشانه کارایی خوب آلل‌ها در ایجاد چند شکلی باشد.

در این تحقیق توالی گیرنده‌ی یک ژن دوپامین در مرغ بومی خوزستان تعیین شد. همتراز کردن توالی‌های مرغ بومی خوزستان با توالی‌های موجود در بانک ژن و پس از Alignment توالی‌ها در ClastalW2، دو جهش در جایگاه ۱۲۳ (نوکلئوتید آدنین را جایگزین گوانین)، در جایگاه ۱۹۸ (سیتوزین را جایگزین تیمین) شناسایی شد (شکل ۴) که با سایر گزارش‌ها در این رابطه همخوانی دارد [۲۳].

شاخص اگر مقدار محتوای اطلاعات چندشکلی کمتر از ۰/۲۵ باشد، میزان چندشکلی کم، اگر بین ۰/۲۵ و ۰/۵۰ باشد، چندشکلی متوسط؛ و اگر بیشتر از ۰/۵۰ باشد چندشکلی زیاد خواهد بود [۲ و ۶]. محتوای اطلاعات چندشکلی در گیرنده‌ی یک ژن دوپامین در جمعیت مرغ بومی خوزستان ۰/۵۸ بود که مقدار آن زیاد است. یکی دیگر از معیارهای تنوع و چندشکلی تعداد آلل مؤثر می‌باشد. در جایگاه ژنی دوپامین در مرغ بومی خوزستان دو نوع آلل واقعی (A و G) شناسایی شد که اندازه آلل مؤثر (۱/۹۰۸) بود. شاید نزدیکی فراوانی آلل مؤثر و آلل

جدول ۶. شاخص‌های تنوع در گیرنده‌ی یک ژن دوپامین در جمعیت مرغ بومی خوزستان

شاخص شانون (I)	محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC)	تعداد آلل واقعی	تعداد آلل مؤثر	ژاد
۰/۶۷	۰/۵۷	۲	۱/۹	مرغ بومی خوزستان

```

TCAGACCTCTTGGTGGC 180   CTCCTTGGCTGTG 120
TCAGACCTCTTGGTGGC 180   CTCCTTGGCTGTG 120
TCAGACCTCTTGGTGGC 180   CTCCTTGGCTGTG 120
TCAGACCTCTTGGTGGC 180   CTCCTTGGCCGTG 120
TCAGACCTCTTGGTGGC 180   CTCCTTGGCCGTG 120
TCAAACCTCTTGGTGGC 180   CTCCTTGGCCGTG 120
***|*****|***
      ↓
      G → A
      T → C
    
```

شکل ۴- نتایج Alignment توالی‌ها در ClastalW2

منابع

۱. بازگیری م، بیگی نصیری م و فیاضی ج (۱۳۹۴) بررسی چند شکلی گیرنده‌ی یک ژن دوپامین در جمعیت مرغ بومی خوزستان به روش PCR-RFLP، اولین همایش بین المللی و نهمین همایش ملی بیوتکنولوژی ایران، تهران.

بر اساس نتایج این تحقیق، گیرنده‌ی یک ژن دوپامین در مرغ بومی خوزستان چند شکل بوده و حاوی دو جهش می‌باشد شناسایی جهش‌های بیشتر در ژن دوپامین با استفاده از سایر روش‌های مولکولی به روش ریزماهواره‌ها و ارتباط آن با تولید تخم مرغ در مرغان بومی ایران توصیه می‌شود.

تولیدات دامی

دوره ۱۹ ■ شماره ۱ ■ بهار ۱۳۹۶

2. Adoligbe C, LinsenZan C, Farougou S, Hongbao Wang J and Ujjan A (2012) BovineGDF10 gene polymorphism analysis and its association with body measurement traits in Chinese indigenous cattle. *Molecular Biology Reproduction*. 39: 4067-4075.
3. Araki KY, Sims JR and Bhide PG (2007) Dopamine receptor mRNA and protein expression in the mouse corpus striatum and cerebral cortex during pre- and postnatal development. *Brain Research*. 1156: 31-45.
4. Baskerville TA and Douglas AJ (2010) Dopamine and oxytocin interactions underlying behaviors: potential contributions to behavioral disorders. *CNS Neuroscience and Therapeutics*. 16(3): 92-123.
5. Blasi G, Lo Bianco L, Taurisano P, Gelao B, Gelao R, Fazio L, Papazacharias A, Di Giorgio A, Caforio G, Rampino A, Masellis R, Papp A, Ursini G, Sinibaldi L, Popolizio T, Sadee W and Bertolino A (2009) Functional variation of the dopamine D2 receptor gene is associated with emotional control as well as brain activity and connectivity during emotion processing in humans. *Journal of Neuroscience*. 29: 14812-14819.
6. Botstein D, White RL, Skolnick M and Davis RW (1980) Construction of a genetic-linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics*. 32: 314-331.
7. Fidler A, Van Oers K, Drent P, Kuhn S, Mueller J and Kempenaers B (2007) Drd4 gene polymorphisms are associated with personality variation in a passerine bird. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 274(1619): 1685-1691.
8. Gerfen CR (2000) Molecular effects of dopamine on striatal-projection pathways. *Trends Neurosci*. 23: S64-S70.
9. Korchounov A, Meyer MF and Krasnianski M (2010) Postsynaptic nigrostriatal dopamine receptors and their role in movement regulation. *Journal Neural Transm*. 117: 1359-1369.
10. Miller SA, Dykes DD and Pole sky HF (1988) A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research*. 16: 1215-1219.
11. Missale C, Nash SR, Robinson SW, Jaber M and Caron MG (1998) Dopamine receptors: from structure to function. *Physiological Reviews*. 78: 189-225.
12. Monsma FJ, Mahan LC, McVittie LD, Gerfen CR and Sibley DR (1990) Molecular cloning and expression of a D1 dopamine receptor linked to adenylyl cyclase activation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 87(17): 6723-7.
13. Neve KA, Seamans JK and Trantham-Davidson H (2004) Dopamine receptor signaling. *Journal of Receptors and Signal Transduction*. 24(3): 165-205.
14. Ninomiya S, Anjiki A, Nishide Y, Mori M, Deguchi Y and Satoh T (2013) Polymorphisms of the Dopamine D4 Receptor Gene in Stabled Horses are Related to Differences in Behavioral Response to Frustration. *Animals*. 3(3), 663-669.
15. Sartsoongnoen N, Kosonsiriluk S, Prakobsaeng N, Songserm T, Rozenboim I, Halawani ME and Chaiseha Y (2008) The dopaminergic system in the brain of the native Thai chicken, *Gallus domesticus*: localization and differential expression across the reproductive cycle. *Gen Comp Endocrinol*. 159: 107-115.
16. Sibley DR and Monsma Jr FJ (1992) Molecular biology of dopamine receptors. *Trends in Pharmacological Sciences*. 13: 61-9.

17. Sullivan SE and Konradi C (2011) Expression and function of dopamine receptors in the developing medial frontal cortex and striatum of the rat. *Neuroscience*. 199: 501-14.
18. Tempfli K, Konrád S, Gaál KK, Pongrácz, L and Papp ÁB (2015) Prolactin, dopamine receptor D1 and Spot14 α polymorphisms affect production traits of Hungarian Yellow hens. *Livestock Science*. 174: 26-30.
19. Vallone D, Picetti R and Borrelli E (2000) Structure and function of dopamine receptors. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. 24(1): 125-132.
20. Wang C, Li S, Li C, Feng Y, Peng X, and Gong Y (2012) Molecular cloning, expression profile, polymorphism and the genetic effects of the dopamine D1 receptor gene on duck reproductive traits. *Molecular Biology Reports*. 39(9): 9239-9246.
21. Wang C, Liu Y, Wang H, Wu H, Gong S and He D (2014) Molecular characterization, expression profile, and polymorphism of goose dopamine D1 receptor gene. *Molecular Biology Reports*. 41(5): 2929-2936.
22. Xu HP, Shen X, Zhou M, Luo CL, Kang L, Liang Y, Zeng H, Nie QH., Zhang DX and Zhang X Q. (2009) The dopamine D2 receptor gene polymorphisms associated with chicken broodiness. *Poultry Science*. 89(3): 428-38.
23. Xu HP, Shen X, Zhou M, Fang M, Zeng H, Nie Q and Zhang X (2010) The genetic effects of the dopamine D1 receptor gene on chicken egg production and broodiness traits. *BMC Genetics*. 11(1): 17.



Journal of
Animal Production

(College of Abouraihan – University of Tehran)

Vol. 19 ■ No. 1 ■ Spring 2017

Detection of polymorphism dopamine D1 receptor gene in Khouzestan native chickens using PCR-RFLP

Maryam bazgiri^{1*}, Mohammad TaghiBeigi- Nassiri², JamalFayazi³

1. M. Sc. Student, Faculty of Animal Science and Food Technology, Ramin University of Agriculture and Natural Resources of Khouzestan, Ahvaz, Iran
2. Professor, Faculty of Animal Science and Food Technology, Ramin University of Agriculture and Natural Resources of Khouzestan, Ahvaz, Iran
3. Associate Professor, Faculty of Animal Science and Food Technology, Ramin University of Agriculture and Natural Resources of Khouzestan, Ahvaz, Iran

Received: October 22, 2015

Accepted: December 20, 2015

Abstract

This study was conducted to determine the polymorphism of dopamine D1 receptor gene polymorphism using PCR-RFLP method in Khouzestan native chicken. In this study, blood samples were collected randomly from 100 native Khouzestani hens and genomic DNA was extracted using modified salting out method. Polymerase chain reaction was used to amplify 283 bp fragments of dopamine D1 receptor gene promoter by specific primers. The amplified fragment was digested with *CfrI* enzyme. Allele frequencies for G and A were 0.39 and 0.61, and genotype frequencies for AA, GG and AG were 0.40, 0.18 and 0.42, respectively. Chi-square (X^2) analysis indicated that genotype frequency of this locus is not in Hardy-Weinberg equilibrium. The sequencing results showed two mutations of type A to G in the base 123 and C to T in the base 198. The results of sequencing confirmed that the restriction enzyme *CfrI* has ability to identify the correct mutations.

Keywords: Broodiness, Genedopamine, Native hens, Polymorphism.