دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشهای تولیدات دامی

چندشکلی واریانت‌های G1 و B4 ژن‌های GDF9 و BMP15 در گوسفند دالاق

علیرضا خان احمدی[۱]، شهابدین قره ویسی[۲]، رسول خاتمی‌نژاد[۳] و جلیل عرب[۴]

۱- مربی، دانشگاه گنبدکاووس، (نویسنده مسوول: ali.khanahmadi@gmail.com)
۲ و ۴- استادیار و دانش آموخته کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائم‌شهر
۳- دانش آموخته کارشناسی ارشد، دانشگاه گنبد کاووس

تاریخ دریافت: ۹۱/۴/۳۱ تاریخ پذیرش: ۹۲/۲/۳

چکیده

در سال‌های اخیر جهش‌هایی با اثرات عمده روی نرخ تخمک‌ریزی در دو جایگاه ژنی مربوط به لیگاندهای TGFβ و نیز گیرنده‌های مربوط به TGFβ شناسایی شده است. این مطالعه برای شناسایی چندشکلی‌های مربوط به لیگاندهای BMP15 (واریانت B4) و GDF9 (واریانت G1) در گوسفند دالاق انجام شد. ۱۰۰ نمونه خون از دو گله در سطح شهرستان گنبد کاووس جمع‌آوری شد و استخراج DNA به روش بهینه یافته نمکی انجام گرفت. با استفاده از دو جفت آغازگر اختصاصی قطعات ۱۵۳ و ۴۶۲ جفت بازی از اگزون ۲ ژن BMP15 و نیز اگزون ۱ ژن GDF9 توسط واکنش‌های زنجیره‌ای پلیمراز تکثیر انجام گرفت. هضم محصولات PCR به ترتیب با استفاده از آنزیم‌های برشی DdeI و HhaI انجام شد. نتایج حاصل از هضم محصولات PCR وجود جهش در جایگاه B4 را تأیید نکرد در حالیکه در جایگاه G1 چندشکلی مشاهده شد. فراوانی ژنوتیپ هتروزایگوت در جمعیت مورد مطالعه برابر با ۱۵٪ برآورد شد.

واژه‌های کلیدی: گوسفند دالاق، GDF9، BMP15، دوقلوزایی

مقدمه

راندمان پایین تولید در پرورش گوسفند عمدتاً به عملکرد تولیدمثلی مربوط است (۵). عموماً سیستم‌های پرورش گوسفند در ایران به صورت غیرمتمرکز است. در این شرایط میزان باروری و نرخ چندقلوزایی در مقایسه با سیستم‌های متمرکز و یا نیمه‌متمرکز کمتر است (۲۰). پیشرفت ژنتیکی صفت چندقلوزایی ناشی از انتخاب انفرادی تحت تاثیر دو عامل می‌باشد. یکی محدود به جنس بودن و دیگری پائین بودن میزان وراثت‌پذیری این صفت می‌باشد (٪۱۰-۵). علاوه بر این، فقدان دانش کافی در زمینه تعداد و نوع ژن‌های موثر و نیز اثرات متقابل آنها از جمله عوامل دیگر می‌باشند. ژنتیک مولکولی این توانمندی را دارد که با استفاده از نشانگرهای مولکولی مرتبط با صفات کمی، تا اندازه‌ای کمبود ناشی از فقدان اطلاعات لازم برای انتخاب سنتی را کاهش دهد و نیز می‌توان با استفاده از آن، تنوع ژنتیکی ژن‌های با اثرات عمده موثر روی صفات مذکور را در سطح DNA تعیین کرد (۱۱).

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2024-04-20]

امروزه جهش‌هایی با اثرات عمده روی نرخ تخمک‌ریزی در دو جایگاه ژنی مربوط به لیگاندهای TGFβ و نیز گیرنده‌های آن شناسایی شده است. خانواده TGFβ شامل بیش از ۵۰ مولکول متفاوت است که از یک ژن اجدادی مشترک ناشی می‌شوند وظایف متعددی بر عهده دارند و تعدادی از آنها در تنظیم باروری اهمیت دارند (۱۲،۷). به طور کلی نرخ تخمک‌ریزی در پستانداران توسط مبادلات پیچیده هورمون‌های تخمدانی و هیپوفیزی و نیز تبادلات موضعی هورمون‌ها در فولیکول‌های تخمدانی، بین تخمک و سلول‌های سوماتیک مجاور آن کنترل می‌شود (۱۶).

پنج جهش نقطه‌ای مجزا در جایگاه ژن BMP15 و یک جهش نقطه‌ای در GDF9 شناسایی شده است که بر نرخ تخمک‌ریزی موثر می‌باشند (۱۷). ژن BMP15 روی کروموزوم x مکان‌یابی شده و شامل ۲ اگزون می‌باشد. همه جهش‌های مربوط به این ژن، فنوتیپ مشابهی را نشان می‌دهند، به نحوی که میش‌های هموزایگوت جهش‌یافته عقیم هستند و هتروزایگوت‌ها، تخمک‌ریزی بیشتری نسبت به افراد هموزایگوت تیپ وحشی نشان می‌دهند (۱۰).

بر اساس برخی یافته‌ها در شرایط آزمایشگاهی، پروتئین BMP15 از طریق مسدود کردن گیرنده‌های FSH در سلول‌های گرانولوزا در میش‌های با ژنوتیپ وحشی (+/+) حساسیت این سلول‌ها را نسبت به FSH کم می‌کند، درحالیکه در میش‌های جهش‌یافته (-/+) به واسطه پایین بودن غلظت BMP15، FSH سیگنال‌های القاءکننده بیشتری را در سلول‌های گرانولوزا ایجاد می‌کند که منجر به تخمک‌ریزی بیشتری می‌شود (۲۰).

GDF9 توسط اووسیت‌ها در فولیکول‌های در حال رشد ترشح می‌شود و با اثراتش روی سلول‌های گرانولوزا برای رشد و تمایز فولیکول‌های تخمدانی اولیه ضروری است (۱۵). این ژن روی کروموزوم شماره ۵ مکان‌یابی شده است. طول تقریبی ژن در حدود ۲/۵ کیلو باز است که شامل دو اگزون و یک اینترون می‌باشد (۱۰).

فقدان GDF9 رشد فولیکولی را در افراد هموزایگوت، در مراحل اولیه متوقف می‌سازد که منجر به ناباروری می‌شود، در صورتی که غیرفعال شدن تنها یک کپی از آن نرخ تخمک‌ریزی را افزایش می‌دهد، که ممکن است منجر به افزایش باروری در هتروزایگوت‌ها شود، در حالیکه در هموزایگوت‌ها منجر به بروز عقیمی و اختلال در عملکرد تخمدان، با الگوی توارثی فوق غالبیت می‌شود (۸،۶،۴).

این تحقیق به بررسی وجود جهش در جایگاه‌های B4 و G1 از ژن‌های BMP15 و GDF9 در گوسفندان نژاد دالاق می‌پردازد.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق، ۱۰۰ راس گوسفند نژاد دالاق از دو گله تحت پوشش اداره امور دام شهرستان گنبد کاووس مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌های خون که از طریق ورید وداج گرفته شد به لوله‌های ونوجکت منتقل و تا زمان استخراج DNA در دمای ۲۰- درجه

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2024-04-20]

سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای استخراج DNA از روش بهینه یافته نمکی استفاده شد (۱۸). ارزیابی کمی و کیفی با استفاده از اسپکتروفتومتر مدل Biochrom و الکتروفورز ژل آگارز انجام گرفت.

به‌منظور تکثیر قطعات ۴۶۲ و ۱۵۳ جفت بازی از اگزون ۱ و ۲ ژن‌های GDF9 و BMP15 از دو جفت آغازگر اختصاصی استفاده شد، که خلاصه‌ای از مشخصات آغازگرها و جایگاه‌های مورد بررسی در جدول ۱ ارائه شد.

جدول ۱- توالی آغازگرها، جهش‌های مورد مطالعه و اندازه قطعات تکثیری جایگاه‌های مورد مطالعه

	GDF9	BMP15
توالی آغازگر	G1:5'-GATGCAATACTGCCTGCTTG-3' G1:5'-GAAGACTGGTATGGGGAAATG-3'	B4:5'-TTCTTGGGAAACCTGAGCTAGC-3' B4:5'-GCCTTCCTGTGTCCCTTATAAGTATGTTCCCTTT-3'
ناحیه تکثیر	اگزون ۱	اگزون ۲
تغییر نوکلئوتید	G TO A	G TO T
آنزیم برشی	HhaI	DdeI
تغییرات آمینو اسید	Arg (R)–His (H)	Ser (S)–Ile (I)
محصول PCR	۴۶۲ bp	bp۱۵۳
اندازه‌های اللی	(+/+): ۲۵۶،۱۵۶،۵۲ (+/–):۴۱۰،۲۵۶،۱۵۶،۵۲ (–/–):۴۱۰،۵۲	(–/–):۱۵۳ (+/–):۱۵۳،۱۲۲،۳۱ (+/+):۱۲۲،۳۱

به‌منظور تکثیر قطعات موردنظر، مقدار ng ۱۰۰ از DNA استخراج شده به همراه PCR Master Kite (شرکت سینا کلون)، µm ۱ از هر یک از آغازگرها (شرکت Bioneer) و با حجم کل واکنش ۱۲/۵ میکرو لیتر با استفاده ازدستگاه ترموسایکر شرکت Biorad و به شرح ذیل انجام گرفت. ۳۵ سیکل که در طی آن واسرشت‌سازی در ۹۴°c و به مدت ۱ دقیقه، دمای اتصال ۶۱°c و به مدت ۱ دقیقه و تکثیر به مدت ۱ دقیقه و در دمای ۷۲°c انجام شد. برای هضم قطعات مورد نظر، ۵ میکرولیتر از محصول واکنش به همراه ۵ میکرولیتر آنزیم و بافر مربوطه (۰/۵ واحد از آنزیم‌های اختصاصی (شرکت Fermentas)، ۲ میکرولیتر بافر و ۲/۹ میکرولیتر آب) برای هریک از جایگاه‌ها، به مدت ۸ تا ۱۲ ساعت در حمام آب گرم و در دمای ۳۷°c تیمار شد. محصولات حاصل از هضم در ژل آگارز ۲/۵ درصد و با ولتاژ ۷۵V و به مدت ۹۰ دقیقه الکتروفورزگردید و آنگاه با استفاده از اتیدیوم بروماید رنگ‌آمیزی شد.

نتایج و بحث

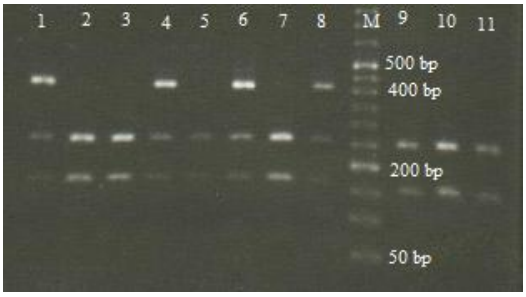
قطعه تکثیر شده از اگزون ۱ ژن GDF9 با اندازه ۴۶۲ جفت باز بود، که با نتایج به دست آمده از هانراهان و همکاران (۱۰) مطابقت داشت. با الکتروفورز محصولات PCR و مشاهده قطعات هضم شده وقوع جهش در این

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2024-04-20]

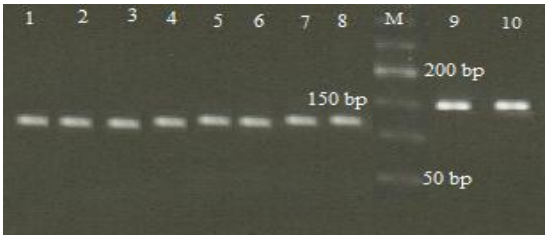
جایگاه تایید شد به طوریکه ۱۵٪ از نمونه‌های تعیین ژنوتیپ شده دارای الل جهش‌یافته به صورت هتروزیگوت بودند (شکل ۱). همچنین این جمعیت برای این جایگاه در تعادل هاردی- واینبرگ نبود. فراوانی ژنی و ژنوتیپی در جدول ۲ ارائه شد. آنالیزهای مربوطه به کمک نرم‌افزار PopGene version 1.3 انجام شد (۲۲). از طرفی نتایج حاصل از محصولات هضم مربوط به جایگاه B4 ژن BMP15 بیانگر عدم وقوع جهش در جایگاه مذکور بود و کلیه افراد برای جایگاه فوق تک‌شکلی و از تیپ وحشی بودند (شکل ۲).

جدول ۲- فراوانی ژنی وژنوتیپی واریانت‌های GDF9 و BMP15 در نژاد دالاق

ژن	تعداد حیوان	فراوانی اللی		فراوانی ژنوتیپی		
		M	W	-/-	+/-	+/+
GDF9	۱۰۰	۰/۰۷۵	۰/۹۲۵	۰	۰/۱۵	۰/۸۵
BMP15		۰	۱۰۰	۰	۰	۱۰۰



شکل ۱- الگوی باندی جایگاه GDF9: شماره‌های ۱، ۴، ۶ و ۸ دارای ژنوتیپ تیپ وحشی (۲۵۶،۱۵۶،۵۲ جفت باز) و شماره‌های ۲، ۳، ۵، ۷، ۹، ۱۰ و ۱۱ ژنوتیپ هتروزیگوس جهش‌یافته می‌باشند (۴۱۰،۲۵۶،۱۵۶،۵۲ جفت باز).



شکل ۲- الگوی باندی جایگاه BMP15(B4): شماره‌های ۹ و ۱۰ محصول PCR (۱۵۳ جفت باز)، شماره‌های ۱ تا ۸ محصول هضم آنزیمی (۱۲۲ و ۳۱ جفت باز) تمام نمونه‌ها دارای ژنوتیپ تیپ وحشی می‌باشند.

آنالیز نتایج حاصل از آزمایشات مربوط به نرخ تخمک‌ریزی و دوقلوزایی نشان‌دهنده ارتباط بین صفات مذکور و جهش‌هایی در ناحیه ژن‌های فاکتور رشد می‌باشد (۱۰،۴). از جمله این ژن‌ها که در اووسیت بیان می‌شوند، شامل BMP15 و GDF9 می‌باشند. FSH یک عامل ضروری برای چرخه فولیکولی طبیعی در جنس ماده است (۱۴،۱۳).

نتایج آزمایشگاهی نشان می‌دهد که فاکتورهای مشتق از اووسیت قابلیت آن را

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2024-04-20]

دارند که مانع تمایز القاءکننده گنادوتروپین‌ها به شکل انتخابی شوند. بر اساس یافته‌های آزمایشگاهی BMP15 در حالت طبیعی از طریق مسدود کردن گیرنده‌های FSH، حساسیت سلول‌های گرانولوزا را نسبت به FSH کاهش می‌دهد. بنابراین در حیوانات جهش یافته که غلظت BMP15 کمتر از حالت طبیعی است، FSH پاسخ‌های القاءکننده بیشتری در سلول‌های گرانولوزا ایجاد می‌کند، و این در حالی است که همه این وقایع در غیاب هرگونه تفاوت در غلظت پلاسمایی FSH، LH و استروئیدهای تخمدانی قابل مشاهده است (۲۰). نتایج مشابهی در مورد GDF9 در موش‌های صحرایی گزارش شده است (۲۱). این نکته با بلوغ زودرس سلول‌های گرانولوزا در میش‌های جهش‌یافته هتروزایگوت BMP15 و یا GDF9 مطابقت دارد. کاهش سطوح این فاکتورها منجر به تولید سطوح بالاتری از FSH-R می‌نماید که موجب تولید فولیکول‌های استروژنیک سالم بیشتر و نیز گیرنده‌های LH بیشتری می‌شود (۱۷). این به نوبه خود حساسیت سلول‌های گرانولوزا را نسبت به LH افزایش می‌دهد و در مجموع تمام این وقایع منجر به نرخ تخمک‌ریزی بیشتری می‌گردد. از طرف دیگر در هموزایگوت‌های جهش‌یافته رشد و توسعه فولیکولی در مرحله اولیه رشد متوقف می‌شود که مبین آن است، این مولکول‌ها برای رشد وتمایز فولیکول الزامی می‌باشند (۲۰،۱۷).

هانراهان و همکاران (۹) با بررسی چندشکلی‌ها در GDF9 و BMP15 دریافتند در میان ۱۲ واریانت مورد مطالعه تنها ۳ واریانت G8، B2 و B4 در حالت هموزایگوت با فنوتیپ عقیمی و در حالت هتروزایگوت با چندقلوزایی ارتباط دارد.

از طرف دیگر واریانت G1 که حاصل تغییر اسیدآمینه گلوتامیک به جای اسیدآمینه لیزین در توالی ۲۴۱ از باقیمانده اسیدآمینه در مولکول نابالغ است. با توجه به اینکه تغییر قبل از ناحیه عملکردی فورین رخ داده است، اثر آن را روی مولکول بالغ بعید دانستند.

بنابراین جهش در ناحیه G1 احتمالاً نمی‌تواند منجر به فنوتیپ دوقلوزایی درهتروزایگوت‌ها و عقیمی در هموزایگوت‌ها گردد (۹). علیرغم این نتایج چو و همکاران (۲) اثر واریانت G1 را روی دوقلوزایی تایید کردند که اثر آن در زایش‌های انتهایی بیشتر بود. جوانمرد و همکاران (۱۱) در مطالعه‌ای همزمان روی ۴ نژاد ماکویی، افشاری، مهربان و بلوچی بیشترین و کمترین فراوانی اللی واریانت G1 و B2 را ۰/۲۴ و ۰/۱۸ برای افشاری و مهربانی و ۰/۲۷ و ۰/۱ در ماکویی و افشاری به ترتیب گزارش نمودند. چندقلوزایی به طور معنی‌داری تحت‌تاثیر هر یک از ژن‌های مذکور بود، به طوریکه هتروزیگوت‌ها برای هر یک از دو جایگاه بره‌های بیشتری تولید کردند. مرادبند و همکاران (۱۹) در گوسفندان بلوچی فراوانی اللهای تیپ موتان واریانت G1 را ۰/۱۸ گزارش کردند. همچنین نتایج حاصل از تجزیه اماری نشان‌دهنده اثر معنی‌دار نوبت زایش و واریانت G1 روی دوقلوزایی بود. همچنین افراد دارای ژنوتیپ جهش‌یافته هموزایگوت بررسی شده در این تحقیق بارور بودند. برزگری و همکاران (۱) در نژادهای

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2024-04-20]

مغانی و قزل با مطالعه وایانت G1 و B2 علاوه بر نشان دادن اثر ژن‌های مذکور بر نرخ تخمک‌ریزی و چندقلوزایی نشان دادند که وایانت B2 ممکن است به تنهایی برای عقیمی کافی نباشد و عقیمی می‌تواند صرفاً با هموزیگوسیتی برای هر دو جایگاه G1 و B2 مرتبط باشد. از طرفی در این گزارش واریانت G1 اثر معنی‌داری در باروری در این نژادها داشته است. فرج زاده و همکاران (۶) در تحقیق روی نژاد زل نشان دادند که ۲ درصد از نمونه‌ها دارای ژنوتیپ جهش‌یافته G1 بودند که البته همگی هتروزایگوت بودند. نتایج این بررسی‌ها نشان می‌دهد که اگرچه واریانت G1 روی دوقلوزایی اثر معنی‌داری داشته است، اما این واریانت به تنهایی در حالت هموزایگوت در افراد مطالعه شده منجر به فنوتیپ عقیمی نشده است. بنابراین به نظر می‌رسد که تنها این ژن‌ها در گوسفندان ایرانی بر چندقلوزایی و عقیمی موثر نیستند و ممکن است ژن‌های دیگری بر این صفت موثر باشند که نیاز به تحقیقات بیشتر در این زمینه می‌باشد.

منابع

1. Barzegari, A., S. Atashpaz, K. Ghabili, Z. Nemati, M. Rustaei and R. Azarbaijani. 2010. Polymorphisms in GDF9 and BMP15 associated with fertility and ovulation rate in Moghani and Ghezel sheep in Iran. Reproduction in Domestic Animals, 45: 666-669. (In Persian)
2. Chu, M.X., B.X. Li, J.Y. Wang, SC. Ye and L. Fang. 2004. Association between PCR-SSCP of growth differentiation factor 9 genes and high prolificacy in small tail han sheep. Animal Biotechnology, 15(2): 111-120.
3. Davis, G.H., J.C. McEwan, P.F. Fennessy, K.G. Dodds and P.A. Farquhar. 1991. Evidence for the presence of a major gene influencing ovulation rate on the X-chromosome of sheep. Biology of Reproduction, 44: 620-624
4. Davis, G.H., J.C. McEwan, P.F. Fennessy, K.G. Dodds and K.P. McNatty. 1992. Infertility due to bilateral ovarian hypoplasia in sheep homozygous (FecX/FecX) for the inverdale prolificacy gene located on the X chromosome. Biology of Reproduction, 46: 636-640.
5. Esmailizadeh, A.K., O. Dayani and M.S. Mokhtari. 2009. Lambing season and fertility of fat-tailed ewes under extensive production system are associated with liveweight and body condition around mating. Animal Production Science, 49: 1086-1092. (In Persian)
6. Farajzadeh, M., A. Dehnad, G. Rahimi and A. Amiri. 2007. Genetic polymorphisms in oocyte-derived growth factor (*GDF-9*) gene in Arkha Merino sheep using RFLP-PCR. The 5th National Biotechnology Congress of Iran. Tehran Iran. 503 pp. (In Persian)
7. Hossner, K.L. 2005. Hormonal regulation of farm animal growth. CABI Publishing. 203 pp.
8. Galloway, S.M., K.P. McNatty, L.M. Cambridge, M.P.E. Laitinen, J.L. Juengel, S. Jokiranta, R.J. McLaren, K. Luiro, K.G. Dodds, G.W. Montgomery, A.E. Beattie, G.H. Davis and O. Ritvos. 2000. Mutations in an oocyte-derived growth factor

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2024-04-20]

gene (BMP15) cause increased ovulation rate and infertility in a dosage-sensitive manner. Nature Genetics, 25: 279-283.
9. Hanrahan, J.P. and J.B. Owen. 1985. Variation and repeatability of ovulation rate in Cambridge ewes. Animal Production, 40: 529 pp.
10. Hanrahan, J.P., S.M. Gregan, P. Mulsant, M. Mullen, G.H. Davis, R. Powell and S.M. Galloway. 2004. Mutations in the genes for oocyte-derived growth factors GDF9 and BMP15 are associated with both increased ovulation rate and sterility in Cambridge and Belclare sheep (*Ovis aries*). Biology of Reproduction, 70: 900-909.
11. Javanmard, A., N. Azadzadeh and A.K. Esmailizadeh. 2011. Mutations in bone morphogenetic protein 15 and growth differentiation factor 9 genes are associated with increased litter size in fat-tailed sheep breeds. Veterinary Research Communications, 35: 157-167. (In Persian)
12. Juengel, J.L., K.J. Bodensteiner, D.A. Heath, N.L. Hudson, C.L. Moeller, P. Smith, S.M. Galloway, G.H. Davis, H.R. Sawyer and K.P. McNatty. 2004. Physiology of GDF9 and BMP15 signaling molecules. Animal Reproduction Science, 82-83, 447-460.
13. Kumar, T.R., Y. Wang, N. Lu and M.M. Matzuk. 1997. Follicle stimulating hormone is required for ovarian follicle maturation but not male fertility. Nature Genetics, 15, 201-204.
14. Kumar, T.R., M.J. Low and M.M. Matzuk. 1998. Endocrinology, 139: 3289-3295.
15. Laitinen, M.P.E., M. Cranfield, N.P. Groome, O. Ritvos and K.P. McNatty. 2002. Growth differentiation factor 9 and bone morphogenetic protein 15 are essential for ovarian follicular development in sheep. Biology of Reproduction, 67: 1777-1789.
16. McNatty, K.P., L.G. Moore, N.L. Hudson, L.D. Quirke, S.B. Lawrence, K. Reader, J.P. Hanrahan, P. Smith, N.P. Groome, M. Laitinen, O. Ritvos and J.L. Juengel. 2004. The oocyte and its role in regulating ovulation rate: a new paradigm in reproductive. Biology of Reproduction, 128(4): 379-386.
17. McNatty, K.P., M.G. Susan, W. Theresa, S. Peter, L.H. Norma, O.C. Anne, H.B. Adrian, A.H. Derek, H.D. George, P.H. James and L.J. Jenny. 2005. Physiological effects of major genes affecting. Ovulation rate in sheep. Genetics Selection Evolution, 37(Suppl. 1): S25-S38.
18. Miller, S.A., D.D. Dykes and H.F. Polesky. 1988. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic Acids Research, 16: 1215-1223.
19. Moradband, M., G. Rahimi and M. Gholizadeh. 2011. Association of Polymorphisms in Fecundity Genes of GDF9, BMP15 and BMP15-1B with Litter Size in Iranian Baluchi Sheep. Asian-Australian Journal of Animal Science, 24(9): 1179-1183. (In Persian)
20. Otsuka, F., S. Yamamoto, G.F. Erickson and S. Shimasaki. 2001. Bone, morphogenetic protein-15 inhibits follicle-stimulating hormone (FSH) action by suppressing FSH receptor expression. Journal of Biology Chemistry, 276: 11387-11392.
21. Shackell, G.H., N.L. Hudson, D.A. Heath, S. Lun, L. Shaw, L. Condell, L.R. Blay and K.P. McNatty. 1993. Plasma gonadotrophin concentrations and ovarian characteristics in Inverdale ewes that are heterozygous for a major gene (Fec*X*I) on the X chromosome that influences ovulation rate. Biology Reproduction, 48: 1150-1156.
22. Yeh, F.C., R.C. Yang, T.B.J. Boyle, Z.H. Ye and J.X. Mao. 1997. PopGene, the user-friendly shareware for population genetic analysis. Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta, Canada.

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2024-04-20]

Polymorphic Variants of G1 and B4 from GDF9 and BMP15 Genes of Dalagh Sheep

Alireza Khanahmadi[1], Shahabeddin Gharehveysi[2], Rasul Khataminejad[3] and Jalil Arab[4]

1- Instructor, University of Gonbad Kavus
(Corresponding author: ali.Khanahmadi@gmail.com)
2 and 4- Assistant Professor and Graduated M.Sc., Islamic Azad University, Ghaemshahr Branch
3- Graduated M.Sc., University of Gonbad Kavus
Received: July 21, 2012 Accepted: April 23, 2013

Abstract

Recently, mutations with major influence on ovulation rate and litter size were identified in TGFβ superfamily ligands and receptors. This study was conducted to identify polymorphisms in GDF9 and BMP15 genes in Dalagh sheep breed. One hundred mature ewes from two flocks in Golestan province were genotyped for the GDF9 (G1) and BMP15 (B4) variants. Two fragments of 462bp and 153bp of GDF9 and BMP15 genes were amplified by PCR-RFLP method. PCR product was digested using HhaI and DdeI endonuclease restriction enzymes. The results of the digested PCR products, did not confirm mutation at position B4 but Polymorphism was observed at G1position. The heterozygote genotype frequency in the population was estimated at 15%.

Keywords: Dalagh sheep, GDF9, BMP15, Litter size

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2024-04-20]