



بررسی چندشکلی آلی در ناحیه پروموتور ژن پرولاکتین در جمعیت‌های مرغ بومی

سید عباس نوربخش^۱، علی هاشمی^۲، زریخت انصاری پیرسرای^۳ و نورالدین مرادی^۴

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشگاه ارومیه، (نویسنده مسوول: abbas_norbakhsh@yahoo.com)

۲- استادیار، دانشگاه ارومیه

۳ و ۴- دانشیار و دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

تاریخ دریافت: ۹۳/۳/۱۱ تاریخ پذیرش: ۹۳/۸/۲۶

چکیده

پرولاکتین هورمونی پلی‌پپتید است که در سلول‌های ویژه‌ای در هیپوفیز پیشین ترشح و تحت کنترل هیپوتالاموس می‌باشد. این هورمون نقش به‌سزایی در ایجاد علائم کرچی و تولید تخم در ماکیان بازی می‌کند. پژوهش حاضر با هدف بررسی چندشکلی‌های موجود در ناحیه ۲۴۰۲+ و یک توالی ۲۴ نوکلئوتیدی حذف یا الحاق در ناحیه ۳۵۸- در پروموتور ژن پرولاکتین در سویه‌های مرغ بومی کشور انجام گرفت. نمونه‌های خون بطور تصادفی از تعداد ۲۵۱ مرغ بومی از مراکز اصلاح نژاد مرغان بومی استان‌های آذربایجان غربی، فارس، یزد و مازندران جمع‌آوری شد. جایگاه PRL5 به اندازه ۴۳۹ جفت باز و PRL24 به طول ۱۳۰/۱۵۴ جفت باز به وسیله آغازگرهای اختصاصی تکثیر شدند. تعیین ژنوتیپ برای ناحیه PRL5 و PRL24 به ترتیب با تکنیک PCR-RFLP و مشاهده مستقیم انجام شد. برای جایگاه PRL24 دو آلل I و D شناسایی شدند که فراوانی آلل I در سه سویه فارس (۰/۶۴)، یزد (۰/۶۸) و مازندران (۰/۵۲) فراوان‌ترین و در سویه آذربایجان غربی (۰/۳) کمترین بود. برای جایگاه PRL5 نیز دو آلل C و T شناسایی شد که آلل C بیشترین فراوانی را به ترتیب با فراوانی ۰/۷۶، ۰/۶۶ و ۰/۶۳ در سویه‌های بومی فارس، یزد و مازندران و کمترین فراوانی را در سویه بومی آذربایجان غربی (۰/۳۱) داشت. با توجه به نتایج حاضر و پژوهش‌های صورت گرفته، به نظر می‌رسد این دو جایگاه می‌توانند نشانگرهای احتمالی در برنامه‌های به‌گزینی به سمت افزایش تخم‌گذاری، از طریق کاهش کرچی در نظر گرفته شوند.

واژه‌های کلیدی: مرغ بومی، کرچی، چندشکلی، ژن پرولاکتین، پروموتور

مقدمه

ژن پرولاکتین در مرغ‌های بومی ۶/۱۶۳ جفت باز طول دارد که شامل ۵ اگزون و ۴ اینترون می‌باشد (۲). پرولاکتین هورمونی پلی‌پپتیدی است که در سلول‌های ویژه‌ای در هیپوفیز پیشین ترشح شده و تحت کنترل هیپوتالاموس قرار دارد. این هورمون آثار بیولوژیکی وسیعی در مهره‌داران دارد. هورمون پرولاکتین در مرغ نقش تعیین‌کننده‌ای در تولید تخم دارد. زیرا اولین رفتار در دوره پس از تخم‌گذاری (کرچی) ناشی از افزایش ترشح این هورمون است که سبب پس روی تخمدان و قطع تولید تخم می‌شود (۱۲). امروزه به کمک روش‌های ژنتیکی می‌توان با انتخاب علیه ژنوتیپ‌های مؤثر بر بروز رفتار کرچی، تولید تخم‌مرغ را افزایش داد. ناحیه پروموتور ژن پرولاکتین مدل آزمایشی بسیار مناسب برای مطالعه تنظیم بافتی و هورمونی فعالیت نسخه‌برداری ژنی در نظر گرفته می‌شود. طول ناحیه پروموتور پرندگان و پستانداران متفاوت است و بیشتر چندشکلی‌های ژن پرولاکتین پرندگان اهلی در ناحیه ۳، ۵ و ناحیه کدکننده سیگنال پپتیدی واقع شده‌اند. بنابراین، وجود چند شکلی در ناحیه پروموتور ژن پرولاکتین به ویژه آن‌هایی که سبب تغییر در ناحیه اتصال پروموتور^۱ از طریق باند شدن فاکتورهایی شبیه

فاکتور رونویسی ویژه هیپوفیز (Pit-1)، (۳)، پپتید روده‌ای (VIP)، (۱۶)، دوپامین (۱۵)، جعبه پروتئینی تقویت‌کننده CCAAT (۶) و دیگر فاکتورهای پروتئینی یا جهش و تغییر توالی در این ناحیه می‌شوند، تأثیر به‌سزایی در ایجاد mRNA و به این ترتیب تأثیر عمده‌ای بر رفتار کرچی و به تبع آن تولید تخم خواهند داشت (۸). پرندگان ممتاز از لحاظ ژنتیکی، در تخم‌گذاری نسبت به سویه‌های بومی پرندگان که برای مقاومت به شرایط بد محیطی و مقاومت نسبت به بیماری‌ها در مناطق روستایی تکامل یافته‌اند، دارند (۱۱). طی پژوهشی نشان داده شد، توقف‌های کمتری دارند که میزان بیان mRNA ژن پرولاکتین به طور معنی‌داری در سویه‌هایی با تولید تخم بالا، کاهش و باعث جلوگیری از رفتار کرچی در این سویه‌ها می‌شود (۱۳). طبق پژوهش‌های به عمل آمده از سوی دیگر پژوهشگران ۶ چندشکلی تک نوکلئوتیدی (C-2402T, C-2101G, T-2054A, G-2040A) در جایگاه ۲۴۰۲+ پروموتور ژن پرولاکتین (PLR5) و یک توالی ۲۴ جفت بازی حذف یا الحاق در ناحیه ۳۵۸- این جایگاه ژنی (PLR24) از طریق مشاهده مستقیم و آنالیزهای ارتباط با صفات نشان دادند که ناحیه ۲۴ جفت بازی حذف یا الحاق با تولید تخم و صفات کرچی

1- Promoter binding site

2- Vasoactive intestinal peptide

از ۱/۵ میلی‌لیتر خون با استفاده از روش نمکی بهینه یافته انجام شد (۹). برای تعیین کیفیت و کمیت DNA استخراج شده از روش‌های الکتروفورز روی ژل آگارز و طیف سنجی استفاده شد. در این بررسی یک قطعه ۴۳۹ جفت‌بازی (PRL5) و یک ناحیه حذف یا الحاق به طول ۱۳۰/۱۵۴ جفت‌بازی از پروموتور ژن پرولاکتین برای تکثیر انتخاب شدند. این نواحی از ژن با استفاده از دو جفت آغازگر اختصاصی استفاده شده در پژوهش انجام شده توسط Cui و همکاران در سال ۲۰۰۶ تکثیر شدند (جدول ۱) (۴).

در مرغ ارتباط معنی‌داری داشت (۷،۴). هدف از انجام پژوهش حاضر، شناسایی چندشکلی‌های ناحیه پروموتور ژن پرولاکتین در سویه‌های مرغ بومی کشور بود.

مواد و روش‌ها

برای انجام پژوهش حاضر از ۲۵۱ قطعه از مرغ‌های بومی استان‌های فارس (۶۰)، یزد (۷۴)، آذربایجان غربی (۶۱) و مازندران (۵۶) به طور تصادفی نمونه خون تهیه شد. خون‌گیری از ورید بالی و در لوله‌های حاوی EDTA (۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) انجام گرفت. استخراج DNA

جدول ۱- پرایمرهای رفت و برگشت جایگاه‌های مورد مطالعه در پروموتور ژن پرولاکتین

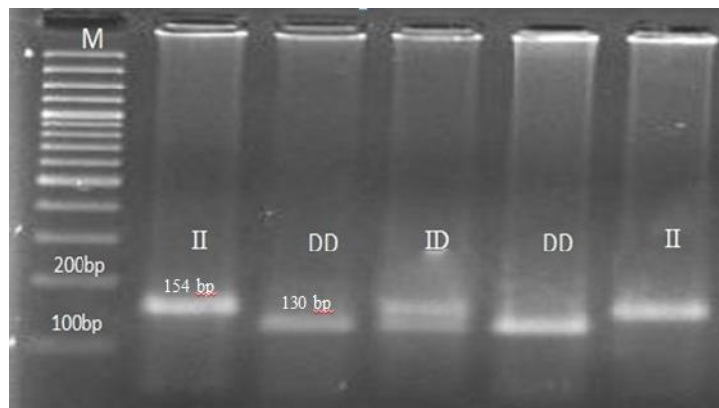
جایگاه	دمای اتصال	طول قطعه	توالی پرایمر
PRL5	۶۲°C، ۳۰s	۴۳۹bp	F:5'- AGAGGCAGCCAGGCATTTTAC -3' R:5'- CCTGGGCTGGTTTGAAAATTG -3'
PRL24	۵۷°C، ۳۰s	۱۳۰/۱۵۴bp	F:5'- TTTAATATTGGTGGGTGAAGAGACA -3' R:5'- ATGCCACTGATCCTCGAAAACCTC -3'

میکرولیتر آب مقطر دو بار تقطیر و ۷ میکرولیتر محصول PCR در دمای ۳۷°C به مدت ۱۲ ساعت قرار گرفتند. در صورت عدم وقوع جهش در این ناحیه آنزیم قادر به شناسایی ۲ جایگاه برشی (آلل T) (۳۰۴، ۸۱ و ۵۴) و در صورت وقوع جهش قادر به شناسایی ۳ محل برش (آلل C) (۱۶۰، ۱۴۴، ۸۱ و ۵۴) در این ناحیه است. نمونه‌ها بعد از تیمار آنزیمی، با الکتروفورز روی ژل آگارز ۲/۷ درصد و رنگ‌آمیزی اتیدیوم برمایند رویت‌سازی و تعیین ژنوتیپ شدند. برای ناحیه حذف یا الحاق از روش مشاهده مستقیم باندهای حاصل از تکثیر این ناحیه از راه آغازگرهای اختصاصی روی ژل آگارز سه درصد استفاده و تعیین ژنوتیپ شد. ژنوتیپ افراد بوسیله شمارش مستقیم باندها ثبت شد. محاسبه ساختارهای جمعیتی و ژنتیکی شامل فراوانی آلی و ژنوتیپی و تطابق آن‌ها برای تعادل هاردی- واینبرگ با نرم‌افزار POPGENE3.1 محاسبه شد (۱۴).

نتایج و بحث

پس از انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمرز و تکثیر جایگاه PRL24 از طریق جفت آغازگرهای اختصاصی، دو آلل I (اضافه ۲۴ جفت باز) و D (حذف ۲۴ جفت باز) و سه ژنوتیپ II، DD و ID مشاهده شد. الگوی باندهای مورد نظر روی ژل آگارز سه درصد در شکل ۱ نشان داده شده است.

هر واکنش تکثیر با استفاده از دستگاه ترموسایکلر (ABI 2720، آمریکا) و در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۱۰۰-۵۰ نانوگرم DNA، سه میلی‌مولار MgCl₂، ۱/۲ میکرومولار از هر یک از آغازگرها (۱۰ پیکومول)، ۲۰۰ میکرومولار از هر dNTPs، یک واحد آنزیم Taq DNA polymerase (شرکت سیناژن، ایران)، ۲/۵ میکرولیتر از بافر PCR با غلظت نهایی ۱X (۱۰ میلی‌مولار تریس، ۵۰ میلی‌مولار کلرید پتاسیم، ۰/۱٪ ژلاتین، pH: ۸/۴) انجام شد. برنامه دمایی تکثیر این دو جایگاه شامل ۳۵ چرخه حرارتی به صورت، ۹۵°C به مدت ۵ دقیقه برای واسرشته شدن اولیه دو رشته DNA، ۹۵°C به مدت ۴۵ ثانیه برای واسرشته شدن دو رشته DNA در چرخه، ۶۲°C و ۵۷°C به مدت ۳۰ ثانیه به ترتیب برای اتصال آغازگرهای اختصاصی برای نواحی PRL5 و PRL24 و 72°C به مدت ۴۵ ثانیه برای تکثیر و 72°C به مدت ۵ دقیقه برای بسط نهایی انجام گرفت. صحت تکثیر محصولات PCR برای ناحیه PRL5 از طریق ژل آگارز ۱/۵ درصد و رنگ‌آمیزی اتیدیوم بروماید آزمون و سپس تصویر باندها با استفاده از دستگاه عکس برداری از ژل (بایورد^۱، آمریکا) ثبت شد. برای شناسایی چند شکلی‌های موجود در ناحیه PRL5، محصولات PCR تکثیر شده از راه جفت آغازگر اختصاصی برای این ناحیه تحت تیمار آنزیمی *Alu* با ترکیباتی شامل ۰/۵ واحد آنزیم، ۱/۵ میکرولیتر بافر با غلظت نهایی ۱X، ۶/۳



شکل ۱- الگوی باندهای قطعه PRL24 در ناحیه پروموتور ژن پرولاکتین در سویه‌های مرغ بومی کشور (ژل آگارز ۳ درصد). M. خط کش مولکولی SM0321 می‌باشد.

فراوانی آلی، ژنوتیپی و تست χ^2 و نیز شاخص هتروزایگوسیتی در این جایگاه برای سویه‌های بومی مورد بررسی در این مطالعه در جدول ۲ نشان داده شده است.

جدول ۲- فراوانی‌های آلی و ژنوتیپی ناحیه ۳۵۸- پروموتور ژن پرولاکتین در سویه‌های بومی

سطح احتمال	شاخص هتروزایگوسیتی	فراوانی ژنوتیپی				فراوانی آلی			سویه
		II	ID	DD	N	I	D		
۰/۱۲۱	۰/۴۹۹	۰/۲۱۴	۰/۶۰۷	۰/۱۷۸	۵۶	۰/۵۲	۰/۴۸	مازندران	
۰/۰۵۱	۰/۴۳۸	۰/۴۰۵	۰/۵۴	۰/۰۵۴	۷۴	۰/۶۸	۰/۳۲	یزد	
۰/۰۰۱*	۰/۴۵۹	۰/۳۱۶	۰/۶	۰/۰۳۳	۶۰	۰/۶۴	۰/۳۶	فارس	
۰/۴۵	۰/۴۱۶	۰/۰۶۵	۰/۴۶	۰/۴۷۵	۶۱	۰/۳	۰/۷	آذربایجان غربی	

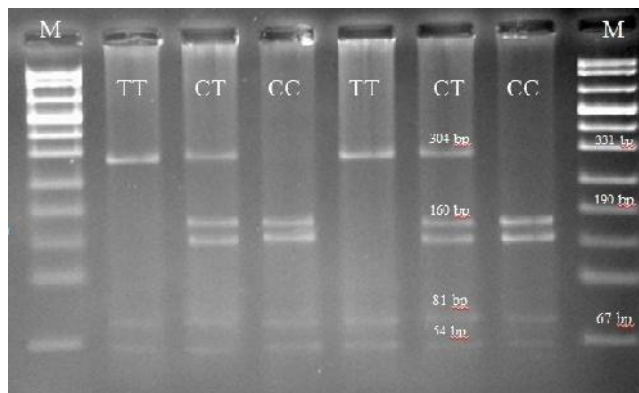
رونویسی جلوگیری و سبب کاهش بیان ژن پرولاکتین می‌شود و با بررسی که میان مرغ بومی چینی (بلوشل) و لگهورن سفید انجام شد، گزارش کردند که میان عدم کرچی مرغ‌ها با حضور توالی ۲۴ جفت بازی (آلل I) در این ناحیه ارتباط معنی‌دار وجود دارد. عدم حضور این توالی می‌تواند عملکردهای فیزیولوژیکی پروموتور را حفظ نماید (۷). مطابق با نتایج حاضر آلل I فراوان‌ترین آلل در سه سویه بومی فارس (۰/۶۴)، یزد (۰/۶۸) و مازندران (۰/۵۲) بود. فراوانی آلل D (۰/۷) در مرغ بومی آذربایجان غربی نسبت به آلل I بیشتر بود. فراوانی آلی و ژنوتیپی در این ناحیه برای سویه‌های بومی یزد و مازندران به مطالعات انجام شده روی این سویه‌ها مشابهت بیشتری داشت که اختلاف جزئی در این فراوانی‌ها احتمالاً می‌تواند به دلیل پایین بودن نمونه‌های مورد بررسی می‌باشد. هم‌چنین، فراوانی آلی در سویه بومی آذربایجان غربی مشابه با سویه یانگشان بود که دارای کرچی بسیار بالا و تولید تخم پایین است. فراوانی آلل I در سه سویه بومی فارس، یزد و مازندران در مقایسه با سویه بومی آذربایجان غربی بیشتر بود، که این تفاوت می‌تواند احتمالاً به دلیل اختلاف در نوع انتخاب انجام شده در مراکز اصلاح سویه این سه استان

طی پژوهش انجام شده در سال ۲۰۱۰ روی مرغ‌های بومی یزد و فور آلل I و D برای این ناحیه به ترتیب ۰/۷۶ و ۰/۲۴ و نیز درصد ژنوتیپ‌های II، ID و DD به ترتیب ۰/۵۶۶، ۰/۳۸۹ و ۰/۰۴۴ برآورد شد (۵). هم‌چنین، به دنبال پژوهش انجام شده روی مرغان بومی مازندران فراوانی آلل I و D به ترتیب ۰/۵۹ و ۰/۴۱ برآورد شد (۱۰). طی مطالعه‌ای در کشور چین فراوانی آلی I و D به ترتیب ۱ و صفر در سویه تجاری لگهورن سفید^۱، ۰/۲ و ۰/۸ در سویه تای سیلکی^۲، ۰/۰۵ و ۰/۹۵ در سویه یانگشان^۳، ۰/۲۲ و ۰/۷۸ در وایت راک^۴ و ۰/۱۷ و ۰/۸۳ در سویه نانگداه^۵ برای جایگاه حذف یا الحاق گزارش شد. از لحاظ تولید تخم سویه لگهورن سفید با تولید بیش از ۳۰۰ تخم در سال یک سویه با تولید تخم بالا، وایت راک با تولید ۱۶۰ تخم در سال یک سویه با تولید متوسط، تای سیلکی و یانگشان با تولید ۹۰ تخم در سال دو سویه با تولید تخم پایین و کرچی بالا و نانگداه نیز با تولید ۱۹۰ تخم در سال سویه‌ای با تخم‌گذاری مناسب است (۴). در بررسی انجام شده از سوی پژوهشگران، مشخص شد که اضافه شدن توالی ۲۴ جفت بازی در ناحیه پروموتور ژن پرولاکتین و ورود این توالی در ناحیه پروموتور از اتصال فاکتورهای

1- White leghorn 2- Tai silky 3- YangShan 4- White rock 5- Nangdahe 6- Blueshel

اختصاصی و سپس هضم محصولات PCR توسط آنزیم *AluI*، دو آلل C و T و نیز سه ژنوتیپ CC (۱۶۰، ۱۴۴، ۸۱ جفت باز)، TT (۳۰۴، ۸۱، ۵۴ جفت باز) و CT (۳۰۴، ۱۶۰، ۱۴۴، ۸۱، ۵۴ جفت باز) مطابق الگوهای باندی نشان داده شده در شکل ۲ شناسایی شد.

به سمت افزایش در تولید تخم نسبت به استان آذربایجان غربی باشد. نتایج آزمون χ^2 برای این ناحیه مشخص کرد که سویه بومی فارس بر خلاف دیگر سویه‌های بومی مورد بررسی در تعادل هاردی-واینبرگ قرار دارد ($P > 0.05$). برای جایگاه PRL5 به طول ۴۳۹ جفت باز پس از تکثیر توسط جفت آغازگرهای



شکل ۲- الگوی باندهای مشاهده شده از الکتروفورز محصولات حاصل از هضم جایگاه PRL5 توسط آنزیم *AluI* در سویه‌های بومی کشور (ژل آگارز ۲٪ درصد). M خط کش مولکولی SM0301 می‌باشد.

پژوهش در جدول ۳ نشان داده شده است.

فراوانی آللی و ژنوتیپی و شاخص هتروزیگوسیتی در این جایگاه برای سویه‌های بومی مورد بررسی در این

جدول ۳- فراوانی‌های آللی و ژنوتیپی ناحیه +۲۴۰۲ پروموتور ژن پرولاکتین در سویه‌های بومی

سطح احتمال	شاخص هتروزیگوسیتی	فراوانی ژنوتیپی				فراوانی آللی		سویه
		TT	CT	CC	N	T	C	
۰/۴۲	۰/۴۶۴	۰/۱۰۷	۰/۵۱۷	۰/۳۷۵	۵۶	۰/۳۷	۰/۶۳	مازندران
۰/۲۲	۰/۴۴۷	۰/۰۸۱	۰/۵۱۳	۰/۴۰۵	۷۴	۰/۳۴	۰/۶۶	یزد
۰/۷۷	۰/۳۶۶	۰/۰۵	۰/۳۸۳	۰/۵۶۶	۶۰	۰/۲۴	۰/۷۶	فارس
۰/۹۱	۰/۴۲۹	۰/۴۷۵	۰/۴۲۶	۰/۰۹۸	۶۱	۰/۶۹	۰/۳۱	آذربایجان غربی

کرچی ارتباط نزدیکی دارد به طوری که در لگهورن سفید فراوانی آلل C که در عدم بیان کرچی مؤثر است نزدیک به ۱ است (۴). مطابق با نتایج مطالعه حاضر فراوانی آلل C در سه سویه بومی فارس، یزد و مازندران به ترتیب با فراوانی ۰/۱۷۶، ۰/۱۶۶ و ۰/۶۳ نسبت به آلل T بیشتر بود در صورتی که فراوانی آلل T (۰/۶۹) نسبت به آلل C در مرغ بومی آذربایجان غربی بیشتر بود. در پژوهش حاضر فراوانی ژنوتیپ هتروزیگوت در سویه بومی مازندران نیز مشابه با مطالعات انجام شده در این زمینه فراوانی بالایی داشته و اختلاف جزئی در فراوانی‌های مورد نظر احتمالاً به دلیل پایین بودن نمونه‌های مورد بررسی می‌باشد. فراوانی آللی در سویه بومی یزد در پژوهش حاضر به فراوانی آللی به دست آمده در سویه بومی زابل نزدیک‌تر بود. اختلاف در فراوانی آللی و ژنوتیپی بین سویه‌های مورد بررسی در این مطالعه و پژوهش انجام شده روی مرغ‌های بومی

با بررسی انجام شده روی مرغ‌های بومی زابل برای تعیین چند شکلی در ناحیه PRL5 دو آلل C و T به ترتیب با فراوانی‌های ۰/۶۷ و ۰/۳۳ و نیز سه ژنوتیپ TT، CT و CC به ترتیب با فراوانی‌های ۰/۵۳۳، ۰/۲۶۶ و ۰/۲۰۰ مورد شناسایی قرار گرفت (۱). در مطالعه انجام شده از سوی رشیدی و همکاران روی مرغان بومی مازندران فراوانی آلل‌های C و T به ترتیب ۰/۵۲ و ۰/۴۸ برآورد شد. هم‌چنین، فراوانی ژنوتیپ CT (۰/۸۴) نسبت به دو ژنوتیپ هموزیگوت بیشتر بود (۱۰). طی بررسی انجام شده برای تعیین چند شکلی در ناحیه PRL5 ژن پرولاکتین، دو آلل و سه ژنوتیپ برای این ناحیه مشاهده شد، که فراوانی آلل C در این جایگاه در سویه‌های بومی چین از ۰/۰۵ در سویه یانگشان، ۰/۲۳ در سویه تای سیلکی، ۰/۳۵ در سویه راک سفید و ۰/۴۲ در سویه نانگداه تا ۱/۰ در سویه لگهورن سفید تجاری تفاوت داشت. نتایج این مطالعه نشان داد که جایگاه PRL5 با

PRL5 و PRL24 نشان‌دهنده‌ی چند شکل بودن این جایگاه‌ها در جمعیت‌های مورد بررسی بود. همان‌گونه که ذکر شد وجود توالی ۲۴ جفت بازی (آلل I) در جایگاه PRL24 و نیز جایگزین شدن آلل C به جای آلل T در ناحیه PRL5 از باند شدن فاکتورهای رونویسی در ناحیه پروموتور ژن پرولاکتین جلوگیری و در نتیجه باعث کاهش بیان این ژن و نیز از رفتار کرچی جلوگیری کرده و در نتیجه باعث افزایش تولید تخم می‌شوند. برای ناحیه PRL24 ژنوتیپ‌های II و ID و نیز برای جایگاه PRL5 ژنوتیپ‌های CC و CT احتمالاً با عدم بیان کرچی هم‌بسته هستند (۴). با توجه به این‌که این دو جایگاه احتمالاً می‌توانند نشانگرهای مناسبی برای انتخاب در برای افزایش تولید تخم باشند، انتخاب این ژنوتیپ‌ها در این سویه‌ها به کاهش رفتار کرچی و در نتیجه افزایش تولید تخم منجر می‌شوند.

چین احتمالاً به دلیل اختلاف در نوع سویه مورد بررسی یا هدف انتخاب در این سویه‌ها می‌باشد. در سویه‌های بومی فارس، یزد و مازندران فراوانی آلل C نسبت به آلل T بیشتر بود در صورتی که در سویه بومی آذربایجان غربی فراوانی آلل T بیشتر بود که این تفاوت احتمالاً به دلیل تفاوت در نوع انتخاب انجام شده در مرکز اصلاح سویه استان آذربایجان غربی با سه استان دیگر می‌باشد. در این ناحیه بین ژنوتیپ‌های مورد انتظار و مشاهده شده اختلاف معنی‌داری وجود داشت که حاکی از عدم وجود تعادل هاردی-واینبرگ برای تمام سویه‌های مورد بررسی بود ($P < 0.05$). شاخص هتروزایگوسیتی در این جایگاه‌ها نسبتاً بالا بود که نشان‌دهنده‌ی تنوع ژنتیکی مناسب برای این جایگاه‌ها در این سویه‌ها است. نتایج به دست آمده از تعیین ژنوتیپ جمعیت‌های مرغ بومی مورد مطالعه در پژوهش حاضر برای جایگاه‌های ژنی

منابع

1. Alipanah, M., K. Shojaian and H. Khani Bandani. 2011. The polymorphism of prolactin gene in native chicken Zabol region. *Animal and Veterinary Advances*, 10: 619-621.
2. Au, F. and F. Leung. 2000. Molecular characterization of the chicken prolactin (PRL) gene: genomic gene structure, its polymorphism and promoter analysis. *Poultry Science*, 78: 425-434.
3. Bradford, A.P., K.S. Brodsky, S.E. Diamond, L.C. Kuhn, Y. Liu and A. Gutierrez-Hartmann. 2000. The Pit-1 homeodomain and beta-domain interacts with Ets-1 and modulates synergistic activation of the rat prolactin promoter. *Journal of Biological Chemistry*, 275: 3100-3106.
4. Cui, J., H. Du, Y. Liang, X. Deng, N. Li and X. Zhang. 2006. Association of polymorphism in the promoter region of chicken prolactin with Egg production. *Poultry Science*, 85: 26-31.
5. Emamgholi Begli, H., S. Zaredaran, S. Hassani, M. Alli Abbasi and A. Khan Ahmadi. 2010. Polymorphism in Prolactin and PEPC-C genes and its association with economic traits in native fowl of Yazd province. *Iranian Journal of Biotechnology*, 8: 172-177.
6. Enwright, J.F., M.A. Kawecki-Crook, T.C. Voss, F. Schaufele and R.N. Day. 2003. A PIT-1 hormone domain mutant blocks the intra nuclear recruitment of the CCAAT/enhancer binding protein alpha required for prolactin gene transcription. *Molecular Endocrinology*, 17: 209-222.
7. Jiang, R., G. Xu, X. Zhang and N. Yang. 2005. Association of Polymorphisms for Prolactin and Prolactin Receptor Genes with Broody Traits in Chicken. *Poultry Science*, 84: 839-845.
8. Liang, Y., J. Cui, G. Yang, F. Leung and X. Zhang. 2006. Polymorphisms of 5-flanking region of chicken prolactin gene. *Domestic Animal Endocrinology*, 30: 1-16.
9. 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.
10. Rashidi, H., Gh. Rahimi Mianji, A. Farhadi and M. Gholizade. 2012. Association of Prolactin and Prolactin receptor polymorphisms with economic traits in breeder hens of indigenous chickens of Mazandaran province. *Iranian Journal of Biotechnology*, 10: 129-135.
11. Reddy, I., C. David and S. Raju. 2006. Chemical control of prolactin secretion and its effects on pause days, Egg production and steroid hormone concentration in Girirani birds. *Poultry Science*, 5: 685-692.
12. Sharp, P.J. 1997. Immunological control of broodiness. *World Poultry Science Journal*, 53: 23-31.
13. Shiue, Y.L., L.R. Chen, C.F. Chen, Y.L. Chen, J.P. Ju, C.H. Chao, Y.P. Lin, Y.M. Kuo, P.C. Tang and Y.P. Lee. 2006. Identification of transcripts related to high egg production in the chicken hypothalamus and pituitary gland. *Theriogenology*, 66: 1274-1283.
14. Yeh, F.C., R.C. Yang, B.J. Timothy, Z. Ye and M. Judy. 1997. POPGENE, the user friendly shareware for population genetic analysis. *Molecular Biology and Biotechnology Center*, University Alberta.
15. Youngren, O.M., G.R. Pitts, R.E. Phillips and M.E. El Halawani. 1996. Dopaminergic control of prolactin secretion in the turkey. *General and Comparative Endocrinology*, 104: 225-230.
16. Youngren, O.M., J.L. Silsby, I. Rozenboim, R.E. Phillips and M.E. El Halawani. 1994. Active immunization with vasoactive intestinal peptide prevents the secretion of prolactin induced by electrical stimulation of the turkey hypothalamus. *General and Comparative Endocrinology*, 95: 330-336.

Allelic Variation in the Promoter Region of Prolactin Gene in different Population of Native Fowls

Seyyed Abbas Nourbakhsh¹, Ali Hashemi², Zarkakht Ansari Pirsaraei³ and Nouredin Moradi⁴

1- M.Sc. Student, Urmia University (Corresponding author: abbas_norbakhsh@yahoo.com)

2- Assistant Professor, Urmia University

3 and 4- Associated Professor and Graduated M.Sc., Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University

Received: June 1, 2014

Accepted: November 17, 2014

Abstract

Prolactin, an important polypeptide hormone, is secreted by specialized cells in the anterior pituitary gland and is predominantly under inhibitory influence of the hypothalamus. This hormone plays a crucial role in incubation signaling and egg production in avian. The aim of this study was to determine the polymorphisms at situation +2402 bp (PRL5) and a 24-bp nucleotide in/del at nucleotide position -358 in promoter region of Prolactin gene in some Iranian native fowls. Blood samples were collected randomly from 251 hens of four strains involving Fars, Yazd, West Azerbaijan and Mazandaran native fowls. Specific PCR primers were employed for amplification of a 439 bp (PRL5) and 154/130 bp (PRL24) fragments of Prolactin promoter region. For genotyping of PRL24 and PRL5 amplified fragments; direct observation and *Alu* restriction enzyme were used, respectively. For PRL24 locus two alleles of I and D were detected in all of strains. The frequency of I allele was predominant in Fars (0.64), Yazd (0.68) and Mazandaran (0.52) strains than West Azerbaijan (0.3) strain. For PRL5 locus two alleles of C and T were detected and C allele possess a large amount of frequency with 0.76, 0.66 and 0.63 in Fars, Yazd and Mazandaran strains, respectively than West Azerbaijan (0.31) strain. Results of the present study and other research suggested, these loci can be informative marker in marker assisted selection programs with aim of increase of egg production by decreasing the broodiness.

Keywords: Incubation, Native Fowl, Polymorphism, Prolactin Gene, Promoter