



بررسی چند شکلی اگزون ۲ ژن گیرنده پرولاکتین در بلدرچین ژاپنی و مرغان مروارید

اورئب لوچ ملکی^۱، علی هاشمی^۲، قربان الیاسی زرین قبابی^۳، محمد فرهادیان^۴ و زهرا عرفانی اصل^۱

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه

۲- دانشیار، دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه، (نویسنده مسؤول: a.hashemi50@gmail.com)

۳- عضو هیئت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان شرقی

۴- دانشجوی دکتری ژنتیک و اصلاح نژاد دام، دانشگاه تبریز

تاریخ دریافت: ۹۴/۱/۲۰ تاریخ پذیرش: ۹۴/۵/۱۲

چکیده

پرولاکتین به عنوان عامل شروع و ماندگاری پدیده‌ی کرچی در ماکیان شناخته شده و ژن گیرنده‌ی پرولاکتین نقش مهمی در فرایند انتقال سیگنال‌های هورمون پرولاکتین بازی می‌کند. در این پژوهش، چند شکلی اگزون دوم ژن گیرنده پرولاکتین در بلدرچین ژاپنی و مرغان مروارید بررسی شد. به‌طور تصادفی از ۱۸۰ بلدرچین ژاپنی و ۱۵۷ مرغ مروارید نمونه خون جمع‌آوری گردید. بعد از استخراج DNA ژنومی، واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR) برای تکثیر قطعه ۱۶۲ جفت بازی انجام شد. پس از تعیین چند شکلی فضایی تک رشته‌ای (SSCP) محصولات PCR، الگوهای مربوط به ژن گیرنده پرولاکتین با استفاده از ژل پلی آکرلامید و رنگ‌آمیزی نیترات نقره به دست آمد. دو آلل A و B به ترتیب با فراوانی ۹۳/۹ و ۶/۱ درصد و دو الگوی ژنوتیپ AA و BB به ترتیب با فراوانی ۹۳/۹ و ۶/۱ درصد در بلدرچین ژاپنی شناسایی شد. در نمونه‌های مورد مطالعه مرغان مروارید، جایگاه اگزون ۲ ژن گیرنده پرولاکتین مونومورف بود. آزمون Chi-Square نشان داد که جمعیت بلدرچین ژاپنی برای این ناحیه از ژن گیرنده پرولاکتین در تعادل هاردی-واینبرگ نمی‌باشد. نتایج نشان می‌دهد که تنوع ژنتیکی ژن گیرنده پرولاکتین می‌تواند به‌عنوان یک مارکر برای برنامه‌های اصلاحی در بلدرچین ژاپنی استفاده شود.

واژه‌های کلیدی: پلی مورفیسم، ژن گیرنده پرولاکتین، بلدرچین ژاپنی، مرغان مروارید

مقدمه

پرولاکتین هورمونی پپتیدی است که توسط سلول‌های خاصی در غده هیپوفیز قدامی ساخته و ترشح می‌شود (۱). ژن گیرنده پرولاکتین نقش مهمی در فرایند ارسال سیگنال‌های هورمون پرولاکتین که موجب شروع کرچی می‌گردد داشته و به نظر می‌رسد که پرولاکتین نقش‌های بیولوژیکی‌اش را با فعالیت گیرنده‌اش اعمال می‌کند (۴). جایگاه ژن گیرنده پرولاکتین در پرندگان روی کروموزوم Z قرار دارد (۷۶). اندازه‌ی این ژن بیش از ۳۴kb و شامل ۱۵ اگزون و ۱۴ اینترون می‌باشد (۱۳). پرولاکتین در بیش از سیصد فعالیت بیولوژیکی از جمله تولید مثل، رشد، متابولیسم و پاسخ‌های ایمنی در سیستم ایمنی نقش دارد (۱۵، ۱۶، ۱۷). در گونه‌ی پرندگان، پرولاکتین هورمون مهمی در لقاء و ابقاء رفتار جوجه‌کشی و تنظیم توسعه فولیکولی دارد (۱۲، ۲۶). افزایش پرولاکتین در گردش خون می‌تواند زندگی مرغ را تحت تأثیر قرار دهد، اگر چه به‌طور قطعی مقدار آن معلوم نیست (۱۰). غلظت بالای هورمون پرولاکتین پلاسما با بروز کرچی ارتباط دارد (۵، ۲). کرچی در طیور معمولاً با افزایش دمای بدن، کاهش مصرف آب و غذا، رفتار لانه‌گزینی، چرخاندن و تنظیم تخم‌ها، رفتارهای پرخاشگرانه یا دفاعی و سر صدای خاصی همراه است (۲۱). بنابراین، افزایش سطح پرولاکتین در پلاسما رفتار انکوباسیون و سپس پایان تخم‌گذاری را تحریک می‌کند (۲۴)، که نتیجه آن کاهش تولید تخم خواهد بود (۲۰). مشخص شده که پرولاکتین در

دوران جنینی نقش مهمی را بر عهده دارد، به‌عنوان مثال، پرولاکتین با تأثیر بر ترشح هورمون تیروئید، می‌تواند بر بقای جوجه در طول دوره‌ی جوجه‌گیری تأثیر بگذارد (۹). پرولاکتین همچنین در تنظیم عملکرد گنادها (۲۳)، رشد چینه‌دان و تحریک تولید شیرهای چینه‌دان (۸) و مراقبت‌های مادرانه هنگام و بعد از زایمان یا تولد جوجه‌ها (۲۲) نقش دارد. با توجه به فعالیت‌های مختلف بیولوژیکی منصوب به پرولاکتین و گیرنده‌ی پرولاکتین می‌توان آنها را به‌عنوان ژن کاندیدای اصلی در برنامه‌های اصلاح مولکولی حیوان نام برد (۲۵). با توجه به اینکه در رده‌ی پرندگان، به مطالعه پرندگانی غیر از مرغ کمتر پرداخته شده است، لذا شناسایی چند شکلی ژنتیکی اگزون دوم ژن گیرنده پرولاکتین در بلدرچین ژاپنی و مرغان مروارید حائز اهمیت می‌باشد.

مواد و روش‌ها

جهت انجام این تحقیق از جمعیت بلدرچین ژاپنی و مرغان مروارید پرورش یافته در ایستگاه تحقیقات بلدرچین ژاپنی و مرغان مروارید بناب وابسته به مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان شرقی استفاده شد و نمونه‌های خون به‌طور تصادفی از ۱۸۰ قطعه بلدرچین ژاپنی و ۱۵۷ قطعه مرغان مروارید درون تیوپ‌های حاوی EDTA به‌عنوان عامل ضد انعقاد اخذ گردید. نمونه‌ها تا زمان استخراج DNA در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. DNA از ۱۰ میکرولیتر نمونه‌های خون با استفاده از

نتایج و بحث

تکثیر قطعه‌ی ۱۶۲ جفت بازی از اگزون ۲ ژن گیرنده‌ی پرولاکتین در نتیجه استفاده از برنامه‌ی حرارتی مناسب، آغازگرهای اختصاصی و شرایط خوب آزمایشگاهی بدون حضور قطعات غیر اختصاصی در بلدرچین ژاپنی و مرغان مروارید انجام گرفت. محصولات PCR اگزون ۲ ژن گیرنده‌ی پرولاکتین به وسیله‌ی آنالیزهای SSCP در نمونه‌های مورد مطالعه تعیین الگوی ژنوتیپ شدند (شکل ۱ و ۲). بر اساس نتایج حاصل از آنالیزهای SSCP در مرغان مروارید، باندها به صورت یک شکل بودند و نتایج حاصل از این تکثیر نشان داد که اگزون دوم ژن گیرنده‌ی پرولاکتین در جمعیت مطالعه شده مرغان مروارید به روش SSCP فاقد چند شکلی می‌باشد. بر اساس نتایج بدست آمده از آنالیزهای SSCP، دو الگوی ژنوتیپ AA و BB به همراه دو آلل A و B در بلدرچین ژاپنی شناسایی شد. به دلیل اینکه ژن گیرنده پرولاکتین در پرندگان روی کروموزوم Z می‌باشد (۷) و چون کروموزوم W فاقد این ژن می‌باشد لذا در جمعیت مورد مطالعه بلدرچین ژاپنی، ماده‌هایی با ژنوتیپ هتروزیگوت مشاهده نشد. فراوانی آلل‌ها و ژنوتیپ‌ها برای این ژن در بلدرچین ژاپنی در جدول ۱ نشان داده شد. همان‌گونه که مشاهده می‌گردد فراوانی ژنوتیپ‌های AA و BB به ترتیب برابر با ۹۳/۹ و ۶/۱ و فراوانی آلل‌های A و B به ترتیب برابر با ۹۳/۹ و ۶/۱ درصد برآورد شد. آزمون Chi-Square نشان داد که جمعیت بلدرچین ژاپنی برای این ناحیه از ژن گیرنده‌ی پرولاکتین در تعادل هاردی-واینبرگ نمی‌باشد (جدول ۲). با توجه به اینکه جمعیت مورد مطالعه از گله تحقیقاتی مرکز تحقیقات کشاورزی آذربایجان شرقی انتخاب شده است و در این مرکز برنامه‌های مختلف اصلاح‌نژادی صورت می‌گیرد عدم تعادل هاردی-واینبرگ دور از ذهن نیست. بنابراین، عدم تعادل جایگاه‌ها احتمالاً نشان‌دهنده حضور بعضی عوامل برهم زننده تعادل از جمله حذف و انتخاب باشد. تنوع ژنی محاسبه شده برای جایگاه اگزون ۲ ژن گیرنده پرولاکتین در جمعیت بلدرچین ژاپنی برابر ۰/۱۱۴ و اندازه موثر آللی هم ۱/۱۲۹٪ محاسبه شد (جدول ۳). شاخص شانون^۱ برای این جایگاه ۰/۲۳ می‌باشد که تنوع کم این جایگاه در جمعیت بلدرچین ژاپنی را تایید می‌کند.

پروتکل پروناز^۳ استخراج شد. برای انجام PCR از یک جفت پرایمر رفت و برگشت اختصاصی پیشنهاد شده توسط رشیدی (۱۹) برای تکثیر یک قطعه ۱۶۲ جفت بازی از اگزون ۲ ژن گیرنده‌ی پرولاکتین در نمونه‌های مورد مطالعه استفاده گردید. توالی پرایمرها به صورت زیر بودند:

PRLR-F: 5'-TTTGGCTCCTTGTGTTTATAGGA-3'
PRLR-R: 5'-TGGTTTCCTACCGAAAGGATT-3'

واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر صورت گرفت که شامل ۳۰ نانوگرم از DNA ژنومیک، ۱۰ میکرومول از هر پرایمر (Sina Gene, Tehran, Iran)، ۱ واحد آنزیم Taq DNA Polymerase، ۰/۲ میکرومول dNTP، ۱/۵ میلی‌مول $MgCl_2$ و بافر ۱X (Sina Gene, Tehran, Iran) بود. سیکل‌های به کار گرفته شده برای توسعه ژن گیرنده پرولاکتین به شرح ذیل بودند. ۹۵ درجه سانتی‌گراد برای واسرشت اولیه به مدت ۵ دقیقه، سپس ۳۵ چرخه با ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، ۵۳ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۵ ثانیه برای اتصال آغازگرها (بر اساس تکنیک گرادینت دمایی تعیین گردید)، ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۰ ثانیه برای بسط ناحیه تکثیر و در نهایت ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه برای بسط کلیه محصولات. نتایج الکتروفورز محصولات PCR روی ژل پلی آکرلامید غیر دناتوره ۸٪ با ولتاژ ۷۰ صحت تکثیر قطعه‌ی ۱۶۲ جفت بازی از اگزون ۲ ژن گیرنده‌ی پرولاکتین را مورد تأیید قرار داد. به منظور انجام تکنیک SSCP، ۷ میکرولیتر از محصول تکثیر شده با ۸ xylene cyanol، ۹۸٪ formamide، ۰/۰۹٪ bromophenol blue و ۰/۰۹٪ FF در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه در دستگاه ترموسایکلر (Mastercycler gradient 5331) قرار داده شده و بعد از آن جهت ممانعت از تشکیل مجدد دو رشته‌ای، به سرعت تیوپ‌ها روی یخ منتقل گردیدند (۱۸). محصولات تک رشته‌ای شده روی ژل پلی آکرلامید غیر دناتوره ۱۰٪ با ولتاژ ۱۰۰ به مدت ۱۷ ساعت به منظور بررسی تنوع ژنتیکی در بلدرچین ژاپنی و مرغان مروارید الکتروفورز شدند. باندهای DNA روی ژل به وسیله‌ی رنگ آمیزی نیترات نقره ظاهر شدند و سپس با توجه به باندهای ایجاد شده ژنوتیپ‌ها مشخص گردید. پس از تعیین ژنوتیپ، فراوانی ژنوتیپی و آللی با استفاده از نرم‌افزار Popgene نسخه ۳/۲ برآورد گردید (۲۷).



شکل ۱- ژنوتیپ مشاهده شده برای ژن گیرنده پرولاکتین در جمعیت مرغان مروارید
Figure 1. Observed genotype for Prolactin receptor gene in Guinea Fowl population

1- Shannon's Information index



شکل ۲- ژنوتیپ‌های مشاهده شده برای ژن گیرنده پرولاکتین در جمعیت بلدرچین ژاپنی
Figure 2. Observed genotypes for Prolactin receptor gene in Japanese Quail population

جدول ۱- فراوانی‌های آلی و ژنوتیپی در اگزون ۲ ژن گیرنده پرولاکتین در جمعیت بلدرچین ژاپنی
Table 1. The allele and genotype frequencies for exon 2 prolactin receptor gene in Japanese Quail population

فراوانی‌های ژنوتیپی (%)		فراوانی‌های آلی (%)	
AA	BB	A	B
۹۳/۹	۶/۱	۹۳/۹	۶/۱

جدول ۲- آزمون تعادل هاردی- واینبرگ در جمعیت بلدرچین ژاپنی
Table 2. Hardy-Weinberg test in Japanese Quail population

ژنوتیپ	فراوانی مشاهده شده (O)	فراوانی مورد انتظار (E)	(O-E)/E	χ^2
AA	۱۶۹	۱۵۸/۶	۰/۶۸	۱۸۸/۰۹**
AB	۰	۲۰/۷۱	۲۰/۷۱	
BB	۱۱	۰/۶۴	۱۶۶/۶۹	

جدول ۳- پارامترهای آماری برآورد شده اگزون ۲ ژن گیرنده پرولاکتین در جمعیت بلدرچین ژاپنی
Table 3. Estimated statistical parameters for exon 2 of Prolactin receptor gene in Japanese Quail population

هتروزیگوسیتی مشاهده شده	هتروزیگوسیتی مشاهده شده	متوسط هتروزیگوسیتی (تنوع ژنی)	هتروزیگوسیتی Nei Het _(Nei)	هموزیگوسیتی مورد انتظار	هتروزیگوسیتی مورد انتظار
Obs-Het	Obs-Hom	Ave-Het		Exp-Het	Exp-Hom
۰/۱۱	۰/۸۸۴	۰/۱۱۴	۰/۱۱۴	۰	۱

پرولاکتین با کرجی وابسته نبود ($P > 0.05$). فراوانی ژنوتیپ AA (۰/۸۸) در اگزون ۳ گیرنده پرولاکتین نسبت به GG (۰/۱۲) بیشتر بود. در حالی که، TG و CA در اگزون ۶ گیرنده پرولاکتین تقریباً فرکانس یکسانی داشتند (۱۱). طی پژوهش انجام شده روی مرغ‌های بومی مازندران، در اگزون-های ۲ و ۵ ژن گیرنده پرولاکتین به ترتیب با استفاده از تکنیک‌های PCR-RFLP و PCR-SSCP و A/A (۰/۵۴)، B/B (۰/۴۶) و AA (۰/۷۲)، BB (۰/۲۸) گزارش شد. نتایج بدست آمده در این پژوهش وجود ارتباط معنی‌داری ($P < 0.05$) را بین SNP اگزون ۲ با صفات وزن بدن در هیچ و در سن بلوغ جنسی و همچنین بین SNP اگزون ۵ با صفات تعداد تخم‌مرغ تولیدی را نشان دادند (۱۹). نتیجه تحقیق حاضر در بلدرچین ژاپنی مطابق با نتایج تحقیقات دیگر محققین در زمینه چند شکلی می‌باشد که در هر کدام از جایگاه‌های بررسی شده دو ژنوتیپ مشاهده شده است. عدم انطباق فراوانی‌های ژنوتیپی مشاهده شده در این مطالعه با نتایج سایر تحقیقات احتمالاً بدلیل متفاوت بودن تعداد نمونه‌های مورد بررسی و روش‌های بکارگرفته شده برای بررسی چند شکلی باشد. اکثر تحقیقات ارتباط چند شکلی‌های مشاهده شده در این ژن را با صفات اقتصادی مثل تولید تخم مرغ بررسی کرده‌اند. بنابراین، می‌توان به این نتیجه رسید که این ژن می‌تواند به‌عنوان یک ژن کاندید مطلوب در صفات تولیدی بلدرچین ژاپنی مورد بررسی بیشتری قرار گیرد.

در بررسی انجام شده روی چند شکلی اگزون ۶ ژن گیرنده پرولاکتین و ارتباط آن با صفت تولید تخم در مرغ‌های Erlang Mountainous، دو ژنوتیپ GG و CC به ترتیب با فراوانی‌های ۵۶/۲۲٪ و ۴۳/۷۸٪ گزارش شد و ژنوتیپ CC روی سن در اولین تخم‌گذاری اثر معنی‌داری ($P < 0.01$) داشت (۱۴). در مطالعه‌ای که به اثرات ژنتیکی ژن گیرنده پرولاکتین روی صفت تولید تخم مرغ در مرغ بومی چینی پرداختند، سه SNPs پیوسته در لوکوس P1، دو SNPs پیوسته در لوکوس P2 و یک SNP در لوکوس P3 گزارش کردند. در این مطالعه نیز در هر لوکوس دو ژنوتیپ، GAG (۰/۲۸۲۸) و ACA (۰/۷۱۷۲) در لوکوس P1، GT (۰/۴۴۷۰) و AA (۰/۵۵۳۰) در لوکوس P2، T (۰/۶۲۳۷) و C (۰/۳۷۶۳) در لوکوس P3 گزارش کردند. در لوکوس P1 بین ژنوتیپ GAG و ACA با وزن بدن در اولین تخم‌گذاری و در لوکوس P2 با وزن تخم مرغ در ۳۰۰ روزگی از سن ارتباط معنی‌داری وجود داشت. در لوکوس P3 ارتباط معنی‌داری وجود نداشت (۲۸). در یک مطالعه انجام یافته روی مرغ‌های محلی چینی، ۱۲ جفت پرایمر برای شناسایی چندشکلی در اگزون ۱ تا اگزون ۸ ژن گیرنده پرولاکتین استفاده شد. ۲ تا از دوازده جفت پرایمر استفاده شده، وقوع یک SNP در اگزون ۳ و دو SNP در اگزون ۶ ژن گیرنده پرولاکتین را نشان داد. آنالیزها نشان داد که چندشکلی ژنتیکی در اگزون ۳ و اگزون ۶ ژن گیرنده پرولاکتین

منابع

1. Alamer, M. 2011. The role of prolactin in thermoregulation and water balance during heat stress in domestic ruminants. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 6: 1153-1169.
2. Bacon, W.L., W.H. Burke, K.E. Nestor and K.I. Brown. 1983. Influence of genetic increases in egg production on traits associated with broodiness in turkeys. *Poultry Science*, 62: 2460-2473.
3. Bailes, S.M., J.J. Devers, J.D. Kirby and D.D. Rhoads. 2007. An inexpensive, simple protocol for DNA isolation from blood for high-throughput genotyping by polymerase chain reaction or restriction endonuclease digestion. *Poultry Science*, 86: 102-106.
4. Bole-Feysot, C., V. Goffin, M. Edery, N. Binart and P.A. Kelly. 1998. Prolactin (PRL) and its receptor: actions signal transduction pathways and phenotypes observed in PRL receptor knockout mice. *Endocrine Reviews*, 19: 225-268.
5. Burke, W.H. and P.T. Dennison. 1980. Prolactin and luteinizing hormone levels in femal turkeys (*Meleagris gallopavo*) during a photoinduced reproductive cycle and broodiness. *General and Comparative Endocrinology*, 41: 92-100.
6. Cheng, H.H., I. Levin, R.L. Vallejo, H. Khatib, J.B. Dodgson, L.B. Crittenden and J. Hiller. 1995. Development of genetic map of the chicken with markers of utility. *Poultry Science*, 74: 1855-1874.
7. Dunn, I.G., G. Mcewan, T. Okhubo, P.J. Sharp, I.R. Paton and D.W. Burt. 1998. Genetic mapping of the chicken prolactin receptor gene: a candidate gene for the control of broodiness. *British Poultry Science*, 39: S23-S24.
8. Elkins, P.A., H.W. Christinger, Y. Sandowski, E. Sakal, A. Gertler, A.M. Devos and A.A. Kossiakoff. 2000. Ternary complex between placental lactogen and the extracellular domain of the prolactin receptor. *Nature Structural & Molecular Biology*, 7: 808-815.
9. Fumoto, M., Y. Okimura, Y. Sakagami, G. Lguchi, M. Kishimoto, Y. Kaji and K. Chihara. 2003. Cloning of a protein binding to the most proximal Pit-1 binding element of prolactin gene from human pituitary cDNA library. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 207: 31-38.
10. Hiyama, G., N. Kansaku, M. Kinoshita, T. Sasanami, A. Nakamura, K. Noda, A. Tsukada, K. Shimada and D. Zadworny. 2009. Changes in post-translational modifications of prolactin during development and reproductive cycles in the chicken. *General and Comparative Endocrinology*, 161: 238-245.
11. Jiang, R.S., G.Y. Xu, X.Q. Zhang and N. Yang. 2005. Association of polymorphisms for prolactin and prolactin receptor genes with broody traits in chickens. *Poultry Science*, 84: 839-845.
12. Kishimoto, M., Y. Okimura, S. Hinuma, S. Fukusumi, G. Lguchi, M. Fumoto, K. Lida, H. Kaji and K. Chihara. 2000. Cloning and characterization of the 5'-flanking region of the human prolactin-releasing peptide receptor gene. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 276: 411-416.
13. Leung, F.C.C. and Y. Wang. 2005. Genomic organization and comparative syteny analysis of the chicken prolactin receptor gene. (cPRLR) *Plant and Animal Genomes XIII Conferenc*, 133.
14. Liu, L.B., D.Y. Li, X.L. Zhao, Y.P. Liu, Y. Wang and Q. Zhu. 2012. Polymorphism of prolactin receptor gene and its association with egg production traits in Erlang Moutainous chicken. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 7: 1183-1190.
15. Malaguarnera, L., M. Musumeci, F. Licata, M. Dirosa, A. Messina and S. Musumeci. 2004. Prolactin induces chitotriosidase gene expression in human monocyte-derived macrophages. *Immunology Letters*, 94: 57-63.
16. Nicoll, C.S., G.L. Mayer and S.M. Russell. 1986. Structural features of prolactin and growth hormones that can be related to their biological properties. *Endocrine Reviews*, 7: 169-203.
17. Peirce, S.K. and W.Y. Chen. 2004. Human prolactin and its antagonist, hPRL-G129R, regulate bax and bcl-2 gene expression in human breast cancer cells and transgenic mice. *Oncogene*, 23: 1248-1255.
18. Pipalia, D.L., C.G. Joshi, D.N. Rank and B.P. Brahmkshtri. 2004. PCR-SSCP typing of MHC in cattle and buffaloes. *Indian Journal of Animal Science*, 74: 637-639.
19. Rashidi, H., G. Rahimi-Mianji, A. Farhadi and M. Gholizadeh. 2012. Association of prolactin and prolactin receptor gene polymorphisms with economic traits in breeder hens of indigenous chicken of Mazandaran province. *Iranian Journal of Biotechnology*, 10: 129-135.
20. Reddy, I.J., C.G. David, P.V. Sarma and K. Singh. 2002. The possible role of prolactin in laying performance and steroid hormone secretion in domestic hen (*Gallus domesticus*). *General of Comparative Endocrinology*, 127: 249-255.
21. Romanov, M.N., R.T. Talbot, P.W. Wilson and P.J. Sharp. 2002. Genetic control of incubation behavior in the domestic hen. *Poultry Science*, 81: 928-931.
22. Schardin, C. and G. Anzenberger. 1999. Prolactin, the hormone of Paternity. *News in physiological Sciences*, 14: 223-231.
23. Shimada, K., H. Ishida, K. Sato, H. Seo and N. Matsui. 1991. Expression of prolactin gene in incubating hens. *Journal of Reproduction & Fertility Ltd*, 91: 147-154.
24. Sockman, K.W., H. Schwabl and P.J. Sharp. 2000. The role of prolactin in the regulation of clutch size and onset of incubation behavior in the American kestrel. *Hormones and Behavior*, 38: 168-176.
25. Trott, J.F., R.C. Hovey, S. Koduri and B.K. Vonderhaar. 2004. Multiple new isoforms of the human prolactin receptor gene. *Advances Experimental Medicine and Biology*, 554: 495-499.
26. Vlahos, N.P., E.M. Bugg, M.J. Shamblott, J.Y. Phelps, J.D. Gearhart and H.A. Zacur. 2001. Prolactin receptor gene expression and immunolocalization of the prolactin receptor in human luteinized granulosa cells. *Molecular Human Reproduction*, 7: 1033-1038.
27. Yeh, F.C., T. Boyle and R. Yang. 1997. POPGENE Version 1.31. Microsoft Window-Based Freeware for Population Genetic Analysis. University of Alberta, Edmonton.
28. Zhang, L., D.Y. Li, Y.P. Liu, Y. Wang, X.L. Zhao and Q. Zhu. 2012. Genetic effect of the prolactin receptor gene on egg production traits in chicken. *Genetics and Molecular Research*, 11: 4307-4315.

Investigation of Polymorphism in Exon 2 of Prolactin Receptor Gene in Japanese Quail and Guinea Fowl

Oreynab Looch Maleki¹, Ali Hashemi¹, Ghorban Elyasi zarringhabaie², Mohammad Farhadian³ and Zahra Erfaniasl¹

1- M.Sc. Student, Faculty of Agriculture, Urmia University

2- Associate Professor, Faculty of Agriculture, Urmia University (Corresponding author: a.hashemi50@gmail.com)

3- Scientific member of Agriculture and Natural resources Research Center of East Azarbaijan Province, Tabriz, Iran.

4- PhD Student of genetic and animal breeding, Tabriz University

Received: April 9, 2015

Accepted: August 3, 2015

Abstract

Prolactin (PRL) is known as the beginning and maintenance factor of broodiness in avian species. The prolactin receptor (PRLR) gene plays an important role in the process of PRL hormone signal transduction. In the present study, the polymorphism in exon 2 of PRLR gene in Japanese quail and guinea fowl were investigated. Blood samples were randomly obtained from 180 Japanese quail and 157 guinea fowl. After genomic DNA extraction polymerase chain reaction (PCR) was run for amplification of a DNA segment with 162bp. After determination of the single stranded conformation polymorphism (SSCP) of PCR product, the banding patterns were recognized using non denatured polyacrylamide gel and silver nitrate staining. Two alleles of A(0.939) and B(0.061) and two genotypes of AA(0.939) and BB(0.061), were identified in Japanese quail. The exon 2 region of PRLR gene was monomorph among the guinea fowl samples. The Chi-square test showed significant deviation from Hardy- Weinberg equilibrium for this locus in Japanese quails. The results showed that PRLR gene polymorphism could be regarded as a marker for breeding program in the Japanese quail.

Keywords: Guinea Fowl, Japanese quail, Polymorphism, Prolactin Receptor Gen