



## ارتباط چندشکلی‌های اگزون ۲ ژن فاکتور رونویسی ۷ با صفات چربی خون و دنبه در گوسفندان لری بختیاری و زل

اصغر بزازپریخانی<sup>۱</sup>، مصطفی صادقی<sup>۲</sup> و حسین مرادی شهربایک<sup>۳</sup>

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد و استادیار، گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران  
۲- دانشیار گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران (نویسنده مسؤل): sadeghimos@ut.ac.ir  
تاریخ دریافت: ۹۳/۲/۳ تاریخ پذیرش: ۹۴/۳/۳۰

### چکیده

ژن فاکتور رونویسی ۷ (TCF7) در منطقه ژنومی کاندیدا برای صفات چربی روی کروموزوم ۵ گوسفند واقع شده است. در مطالعه حاضر از ۱۶۳ رأس گوسفند نژاد لری بختیاری ایستگاه اصلاح نژاد نسولی شهرکرد و ۱۱۲ رأس گوسفند نژاد زل ایستگاه اصلاح نژاد شیرنگ گرگان خونگیری به عمل آمد. استخراج DNA از نمونه‌های خون به روش بهینه یافته نمکی و واکنش‌های زنجیره‌ای پلیمرز جهت تکثیر قطعه ۶۴۳ جفت بازی اگزون ۲ ژن TCF7 انجام گرفت. تعیین الگوهای ژنوتیپی دام‌ها بر اساس الگوی بدست آمده در الکتروفورز عمودی و رنگ آمیزی بر روی ژل اکریل‌آمید سه الگوی ژنوتیپی AA، AB و BB را مشخص نمود. به طوری که در نژاد زل الگوهای ژنوتیپی AA و AB به ترتیب با فراوانی ۷۱ و ۲۹ درصد و در نژاد لری بختیاری الگوهای ژنوتیپی AB و BB به ترتیب با فراوانی ۱۰ و ۹۰ درصد دیده شدند. اثر الگوهای ژنوتیپی مشاهده شده در جایگاه ژن TCF7 بر صفات چربی خون در نژاد زل معنی‌دار نبود، ولی در نژاد لری بختیاری این اثرات معنی‌دار بود. به طوری که ژنوتیپ AB بیشترین تاثیر را روی وزن دنبه و کلسترول خون و ژنوتیپ BB تاثیر به سزایی روی تری‌گلیسرید خون داشت.

واژه‌های کلیدی: گوسفند، ژن TCF7، PCR-SSCP، وزن دنبه، کلسترول خون، تری‌گلیسرید خون

### مقدمه

صفات مرتبط با چربی از جمله صفاتی هستند که چه از دیدگاه اقتصادی در پرورش گوسفند و چه از لحاظ سلامتی و ایجاد بیماری‌های مرتبط با چاقی در انسان دارای اهمیت زیادی می‌باشند. داشتن دنبه صفتی است که کلیه نژادهای اهلی شده‌ی گوسفند را می‌توان براساس آن به دو گروه عمده‌ی دنبه‌دار و بدون دنبه تقسیم‌بندی کرد. دنبه به دنبال یک پاسخ انطباقی در گوسفند در مقابله با شرایط نامساعد محیطی تکامل یافته است که یک ذخیره ارزشمند انرژی طی مهاجرت و زمستان محسوب می‌شود. بنابراین، به نظر می‌رسد که شرایط اقلیمی و نیازهای بشری هر دو باعث انتخاب در جهت افزایش اندازه دنبه در این نژادها طی نسل‌های طولانی شده است (۷،۲). در مطالعه‌ای که مرادی و همکاران (۶) برای شناسایی مناطق کاندیدا در ذخیره چربی روی گوسفند انجام دادند سه منطقه‌ی ژنومی مشخص کردند که ژن TCF7 روی یکی از این مناطق در کروموزوم ۵ گوسفند واقع شده است که احتمال داده شد روی صفات رشد و چربی مؤثر باشد. این محققین نقشه انتخاب در سطح ژنوم گوسفند را توسعه داده و نشانه‌های انتخاب را در مناطق ژنومی روی کروموزوم X، ۵ و ۷ شناسایی کردند و گزارش کردند، که بررسی مناطق ژنومی کاندیدا روی کروموزوم های X و ۵ بیانگر آن است که انتخاب در این مناطق در جهت افزایش فراوانی آلل‌های مؤثر بر اندازه‌ی دنبه اتفاق افتاده و فراوانی آنها تا مرحله‌ی تثبیت شدن نیز پیش رفته است. از طرفی، بررسی منطقه کاندیدا

روی کروموزوم ۷ نیز حاکی از شواهد آشکاری از انتخاب و افزایش هموزایگوسیتی به نفع نژاد بدون دنبه بوده است. بنابراین، بر اساس نتایج گزارش شده توسط مرادی و همکاران (۶) انتظار می‌رود که این مناطق در ارتباط با ذخیره چربی باشند. در رابطه با منطقه کاندیدا روی کروموزوم ۵، بررسی‌های انجام شده با استفاده از سایت‌های بیوانفورماتیکی حاکی از وجود ژن TCF7 و چند ژن دیگر در این منطقه است که در این پژوهش تمرکز روی ژن TCF7 بوده است. ژن TCF7 که نام سابق آن TCF-1 (شماره شناسایی در بانک ژن X63901) است، از خانواده‌ی فاکتورهای رونویسی HMG box است. این خانواده همچنین شامل TCF-4 نیز است (۹). این ژن در انسان روی کروموزوم ۵ و در گاو روی کروموزوم ۷ قرار گرفته است. وند وترینگ و همکاران در سال ۱۹۹۲ گزارش کردند که ژن TCF7 شامل حداقل ۱۰ اگزون است که اگزون اول کدکننده نیست. ژن همولوگ TCF7 در موش روی کروموزوم ۱۱ قرار دارد (۴). در سال ۱۹۹۱ معلوم گردید که TCF7 دارای ۳ ایزوفرم است که TCF1A و TCF1B و TCF1C نامیده می‌شوند (۱۱). پروتئینی که توسط این ژن کد می‌شود به عنوان یک فعال‌کننده‌ی رونویسی عمل می‌کند که احتمالاً در بسیاری از مسیرهای متابولیکی بدن می‌تواند شرکت کند. تاکنون در رابطه با این ژن‌ها هیچ گونه پژوهشی در گوسفند و دیگر حیوانات مزرع‌ای انجام نشده است و این اولین پژوهش مورد در رابطه با مطالعه‌ی چند شکلی این ژن در حیوانات مزرع‌ای می‌باشد.

## مواد و روش‌ها داده‌ها

در مطالعه حاضر از ۲۷۵ رأس از نژادهای ایرانی گوسفند شامل ۱۶۳ رأس گوسفند نژاد لری-بختیاری از مرکز اصلاح نژاد شولی واقع در شهرستان شهرکرد و ۱۱۲ رأس گوسفند زل از مرکز اصلاح نژاد شیرنگ واقع در شهرستان گرگان به صورت تصادفی و در سنین مختلف، با استفاده از ونوجکت های 5ml حاوی ماده ضد انعقاد EDTA از سیاهرگ وداجی خون‌گیری انجام شد.

### استخراج DNA و تکثیر قطعه مورد نظر

استخراج DNA با استفاده از روش‌های معمول نمکی انجام شد (۵). غلظت و کیفیت DNA استخراج شده با استفاده از ژل آگارز ۱٪ و روش اسپکتروفتومتری بررسی و تایید شد. تکثیر قطعه ۶۴۳ جفت بازی از TCF7 که در برگیرنده‌ی اگزون ۲ و قسمتی از اینترون‌های ۱ و ۲ است، توسط یک جفت آغازگر اختصاصی طی واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراس با شرایط دائمی موجود در جدول ۱ توسط دستگاه ترموسایکلر (مدل XP شرکت Bioer ساخت چین) انجام

جدول ۱- دما و زمان هر یک از مراحل واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراس

Table 1. The temperature and time of each cycle of polymerase chain reaction

ردیف	مراحل	دما	زمان
۱	واسرشته سازی اولیه	۹۶ درجه سانتی‌گراد	۱۰ دقیقه
۲	واسرشته سازی	۹۶ درجه سانتی‌گراد	۱ دقیقه
۳	اتصال آغازگرها	۶۰ درجه سانتی‌گراد	۱ دقیقه
۴	تکثیر	۷۲ درجه سانتی‌گراد	۱/۵ دقیقه
۵	بسط نهایی	۷۲ درجه سانتی‌گراد	۱۰ دقیقه

مرحله ۲ الی ۴ به تعداد ۴۰ چرخه تکرار گردید

### تعیین الگوی ژنوتیپ‌ها

امروزه PCR-SSCP به‌عنوان روشی توانمند و قابل اطمینان جهت آزمایش چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی (SNP) در تعیین ژنوتیپ به شمار می‌رود. تکنیک SSCP روش مؤثری در شناسایی تنوع توالی تکثیر شده می‌باشد (۸). اساس این تکنیک مهاجرت DNA دنا توره شده از میان ژل پلی‌اکریل‌امید غیر دنا توره براساس اندازه و توالی آن می‌باشد. بنابراین، وجود حتی یک جهش نقطه‌ای، با تفاوت حرکت در روی ژل قابل مشاهده می‌باشد (۱۳). تعیین الگوی ژنوتیپی نمونه‌ها به روش PCR-SSCP با استفاده از الکتروفورز عمودی روی ژل پلی‌اکریل‌امید (۱۰ درصد) و رنگ‌آمیزی با نیترات نقره انجام گرفت. بدین منظور ۱۶ میکرولیتر بافر بارگذاری مخصوص SSCP (شامل فرمامید ۹۹٪، EDTA ۶ مولار، برموفنل و زینول سیانید ۱۰٪) با ۴ میکرولیتر محصول PCR مخلوط شد و سپس در دستگاه ترموسایکلر به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۹۶ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شد تا رشته‌های DNA واسرشت شوند. نمونه‌های واسرشت شده به مدت ۱۰ دقیقه روی یخ قرار گرفتند تا از پیوند دوباره رشته‌های مکمل جلوگیری شود. برای مشاهده الگوهای بانندی از تانک الکتروفورز عمودی شرکت BioRad با صفحات شیشه‌ای به ابعاد ۱/۱ × ۲۰ × ۱۸ سانتی‌متر و ژل پلی‌اکریل‌امید ۱۲٪ استفاده شد. به این ترتیب که مخلوط

شد که واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر و با ترکیب ۲ میکرولیتر DNA ژنومی با غلظت ۱۰۰ نانوگرم، ۲ میکرولیتر از هر آغازگر با غلظت ۵ پیکومول، ۲/۵ میکرولیتر بافر X ۱۰، ۰/۷۵ میکرولیتر کلرید منیزیم با غلظت ۱/۵ میلی‌مولار، ۰/۷۵ میکرولیتر مخلوط نوکلئوتیدها با غلظت ۱۰ میلی‌مولار، ۰/۲ میکرولیتر معادل یک واحد آنزیم Taq پلیمراس (شرکت Gene all کره جنوبی) بهینه گردید. آغازگر اختصاصی توسط نرم‌افزار آنلاین Primer3plus و با استفاده از شماره دسترسی NC\_019462 طراحی گردید (۱۰). ویژگی‌های مناسب از جمله طول پرایمر، درصد GC بهینه، نداشتن انواع دایمرها، دمای اتصال ویژه، ناحیه اختصاصی تکثیر و ساختارهای سنجاق سری با استفاده از نرم‌افزارهای برخط OligoAnalyzer 3.1، Oligocal و بخش Primer Blast پایگاه NCBI مورد آزمون قرار گرفت. توالی آغازگر رفت 5'-CCCTTCGTCAAACCTTGGCAC-3' و توالی آغازگر برگشت 5'-ATGCGACTTACACCACCTG-3' بود.

محصول PCR و بافر بارگذاری مخصوص SSCP درون چاهک‌های ژل بارگذاری شدند. سپس الکتروفورز نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت و با اختلاف پتانسیل ۳۰۰ ولت در دمای چهار درجه سانتی‌گراد و با بافر (۰/۵X) TBE انجام گرفت. در نهایت رنگ‌آمیزی ژل جهت مشاهده الگوهای بانندی به روش نیترات نقره انجام شد (۱).

### تجزیه و تحلیل آماری

مدل‌های مورد استفاده برای بررسی ارتباط الگوهای حاصل از ژن تحت بررسی با صفات موردنظر، در زیر آورده شده است. مدل ۱ برای صفات کلاسترول، تری‌گلیسرید به صورت مشترک برای گوسفندان نژاد زل و لری بختیاری مورد استفاده قرار گرفت. مدل ۲ برای بررسی وزن دنبه در گوسفندان لری بختیاری مرکز اصلاح نژاد استفاده شد.

$$1) Y_{ijm} = \mu + G_i + S_j + b_1(A_{ijm} - \bar{A}) + b_2(W_{ijm} - \bar{W}) + e_{ijm}$$

$$2) Y_{ijm} = \mu + G_i + S_j + b_1(W_{ijm} - \bar{W}) + e_{ijm}$$

که در رابطه بالا  $Y_{ijm}$  مشاهدات مربوط به صفات (کلاسترول، تری‌گلیسرید و وزن دنبه)،  $\mu$  میانگین صفت در جامعه،  $G_i$  اثر آمین الگوی ژنوتیپی در جایگاه ژنی،  $S_j$  اثر ژامین جنس حیوان،  $b_1$  ضریب تابعیت  $Y$  روی  $A$  (سن حیوان)،  $b_2$  ضریب تابعیت  $Y$  روی  $W$  (وزن ۳ ماهگی)،  $A$  سن حیوان،  $W$  وزن ۳ ماهگی و  $e_{ijm}$  اثر باقی‌مانده می‌باشد. لازم به ذکر

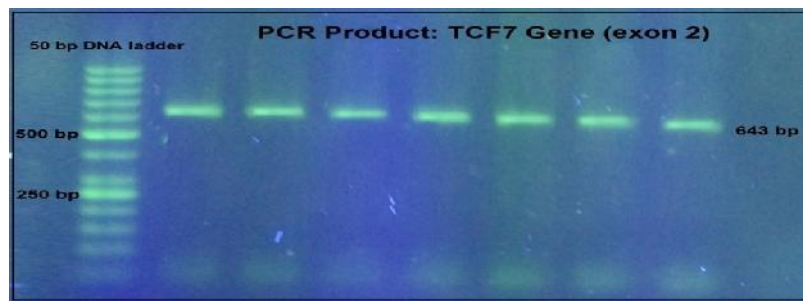
برای بررسی ارتباط بین ژنوتیپ‌ها و صفات موردنظر برای دو نژاد جداگانه انجام پذیرفت. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که در نژاد زل اثر الگوهای ژنوتیپی جایگاه ژن TCF7 بر صفات کلاسترول و تری گلیسرید خون معنی‌دار نبود (جدول ۳)، ولی در نژاد لری بختیاری بر صفات کلاسترول و تری گلیسرید خون و وزن دنبه معنی‌دار بود (جدول ۳). به این ترتیب که مقایسه‌ی میانگین حداقل مربعات دو الگوی ژنوتیپی جایگاه ژن TCF7 روی صفات چربی در نژاد زل با هم اختلاف معنی‌داری نداشت، اما در نژاد لری بختیاری بین ژنوتیپ AB با ژنوتیپ BB برای صفات کلاسترول خون و وزن دنبه در سطح خطای یک درصد ( $P < 0.01$ ) و برای صفت تری گلیسرید خون در سطح خطای پنج درصد ( $P < 0.05$ ) تفاوت معنی‌داری مشاهده شد. از آنجایی که این مطالعه اولین مطالعه در مورد چندشکلی این ژن و ارتباط آن با صفات چربی می‌باشد، پژوهش‌های موافق و مخالفی با نتایج بدست آمده در این پژوهش موجود نمی‌باشد و در توجیه این نتایج می‌توان گفت با توجه به این که این ژن در منطقه‌ی کاندیدای گزارش شده برای چربی توسط مرادی و همکاران در سال ۲۰۱۲ قرار دارد، می‌تواند به‌عنوان یک ژن با اثرات عمده باشد. دلیل احتمالی دیگر وجود پیوستگی ژنی بین ژن TCF7 و QTL‌های مؤثر بر صفات چربی موجود در نزدیکی این ژن می‌باشد که نمونه‌ای از این QTL‌ها، ژن FA-C16:1 است که در سال ۲۰۰۶ در پژوهشی که توسط کارامیچو و همکاران (۳) گزارش شده است که روی کروموزوم ۵ گوسفند قرار داشته و با صفات چربی مرتبط بود. بنابراین از آنجائیکه این ژن در منطقه کاندیدا برای صفات چربی و دنبه قرار دارد و همچنین پیوستگی این ژن با QTL‌های مؤثر بر صفات چربی به اثبات رسیده است، این ارتباطات معنی‌دار برای این ژن با صفات چربی دور از انتظار نیست. همچنین پروتئینی که توسط ژن TCF7 کد می‌شود، به‌عنوان یک فعال‌کننده رونویسی عمل می‌کند و در بسیاری از مسیرهای متابولیکی بدن مثل متابولیسم چربی شرکت می‌کند.

است که وزن دنبه برای گوسفندان لری بختیاری به صورت غیرمستقیم و با استفاده از معادلات ارائه شده توسط وطن‌خواه و همکاران (۱۲) برآورد شد. این محققین گزارش کردند که برای برآورد وزن دنبه صفات محیط بالای دنبه، عرض پایین دنبه و طول شکاف دنبه به ترتیب دارای ضریب رگرسیون  $0.069$ ،  $0.110$  و  $0.190$  با عرض از مبدا  $-6/5$  می‌باشد و  $R^2$  این مدل  $0.807$  است (مدل ۳).

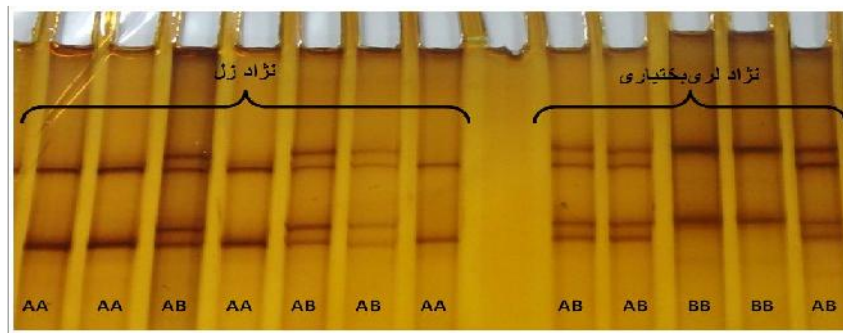
$W_i = -6/5 + 0.069A_i + 0.110B_i + 0.190C_i + e_i$   
 که  $W_i$  وزن دنبه حیوان ام،  $A_i$  محیط بالای دنبه،  $B_i$  عرض پایین دنبه،  $C_i$  طول شکاف دنبه و  $e_i$  اثر باقیمانده می‌باشد.

### نتایج و بحث

تکثیر اگزون ۲ جایگاه ژن TCF7 با موفقیت انجام شد، شکل ۱ الکتروفورز محصولات PCR را روی ژل آگارز ۲٪ نشان می‌دهد. در این تصویر قطعه ۶۴۳ جفت بازی ژن مورد نظر مشاهده می‌شود. برای ارزیابی دقیق‌تر قطعات تکثیر شده از یک سایز مارکر ۵۰ جفت بازی (GeneRuler 50 bp DNA ladder, Thermo Scientific) استفاده شد. قطعه ۶۴۳ جفت بازی تکثیر شده حاصل از واکنش زنجیره‌ای پلیمرز مربوط به ژن TCF7 در الکتروفورز عمودی و رنگ‌آمیزی بر روی ژل اکریل‌آمید مورد آزمون PCR-SSCP قرار گرفت و سه الگوی ژنوتیپی متفاوت مشاهده گردید، که در نژاد زل ژنوتیپ BB مشاهده نشد و ژنوتیپ AA و AB به ترتیب با فراوانی ۷۱ و ۲۹ درصد دیده شدند. در نژاد لری بختیاری ژنوتیپ AA مشاهده نشد و ژنوتیپ AB و BB به ترتیب با فراوانی ۱۰ و ۹۰ درصد ظاهر گردیدند. این الگوهای ژنوتیپی به نحوی بین دو نژاد پخش شدند که ژنوتیپ چهار خطی (AB) که نشان‌دهنده‌ی حالت هتروزیگوت می‌باشد در هر دو نژاد دیده شد و ژنوتیپ‌های دو خطی AA و BB به ترتیب فقط در نژاد زل و لری بختیاری دیده شدند (شکل ۲). با توجه به اینکه یک الگوی ژنوتیپی مشترک بین دو نژاد مورد بررسی وجود داشت، آنالیز داده‌ها



شکل ۱- الکتروفورز قطعه ۶۴۳ جفت بازی جایگاه اگزون ۲ ژن TCF7 روی ژل آگاروز (۲٪)  
 Figure 1. A fragment with 643 bp from exon 2 of TCF7 gene on agarose gel (3%)



شکل ۲- الگوی باندهای SSCP برای اگزون ۲ ژن TCF7 در دو نژاد گوسفند زل و لری بختیاری  
Figure 2. SSCP band pattern for exon 2 of TCF7 gene in Zel and Lori-Bakhtiari sheep breeds.

جدول ۲- مقایسه‌ی میانگین حداقل مربعات (±SE) اثر دو ژنوتیپ ژن TCF7 بر صفات چربی در جمعیت گوسفند نژاد زل  
Table 2. Comparison of least squares mean of two genotypes of TCF7 gene on fat traits in Zel sheep breed

صفت	(۸۰) AA	(۳۳) AB
کلسترول خون (mg/dL) <sup>ns</sup>	۵۲/۷۵±۳/۱۵۹	۵۴/۰۵±۵/۰۳۲
تری‌گلیسرید خون (mg/dL) <sup>ns</sup>	۱۲/۷۸۱±۱/۵۰۱	۱۸/۷۵±۲/۷۷۱

ns: اختلاف معنی‌داری بین ژنوتیپ‌ها وجود ندارد. اعداد داخل پرانتز نشان‌دهنده‌ی تعداد مشاهده شده از هر ژنوتیپ می‌باشد.

جدول ۳- مقایسه‌ی میانگین حداقل مربعات (±SE) اثر دو ژنوتیپ ژن TCF7 بر صفات چربی در جمعیت گوسفند نژاد لری بختیاری  
Table 3. Comparison of least squares mean of two genotypes of TCF7 gene on fat traits in Lori-Bakhtiari sheep breed

صفت	(۱۶) AB	(۱۴۸) BB
کلسترول خون (mg/dL) <sup>**</sup>	۶۸/۵۷±۲/۶۲۵ <sup>a</sup>	۵۹/۸۳±۰/۸۹۱ <sup>b</sup>
تری‌گلیسرید خون (mg/dL) <sup>*</sup>	۳۱/۱۵±۲/۵۶۱ <sup>b</sup>	۳۷/۰۱±۰/۸۳۹ <sup>a</sup>
وزن دنبه (kg) <sup>**</sup>	۴/۹۰۰۷±۰/۲۳ <sup>a</sup>	۴/۰۳±۰/۰۷۷ <sup>b</sup>

\* و \*\*: به ترتیب نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح پنج و یک درصد می‌باشند. اعداد داخل پرانتز نشان‌دهنده تعداد دام در هر گروه ژنتیکی می‌باشد.

### منابع

- Bonifácio, C., I. Santos, C. Belo and A. Cravador. 2001. Single-Strand conformation polymorphism (SSCP) analysis of alfas1-casein, beta-casein and k-casein genes in charnequeira portuguese indigenous goat breed. *Archivos de zootecnia*, 50: 105-111.
- Gokdal, O., H. Ulker, F. Karakas, F. Cengiz, C. Temur and H. Handil. 2004. Growth, feedlot performance and carcass characteristics of Karakas and crossbred lambs (F1)(Ile de France x Akkaraman (G1) x Karakas) under rural farm conditions in Turkey. *South African Journal of Animal Science*, 34: 223-232.
- Karamichou, E., R. Richardson, G. Nute, K. Gibson and S. Bishop. 2006. Genetic analyses and quantitative trait loci detection, using a partial genome scan, for intramuscular fatty acid composition in Scottish Blackface sheep. *Journal of animal science*, 84: 3228-3238.
- Kingsmore, S., M. Watson and M. Seldin. 1995. Genetic mapping of the T lymphocyte-specific transcription factor 7 gene on mouse Chromosome 11. *Mammalian Genome*, 6: 378-382.
- Miller, S., D. Dykes and H. Polesky. 1988. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic acids research*, 16: 1215-1220.
- Moradi, MH., A. Nejati-Javaremi, M. Moradi-Shahrabak, KG. Dodds and JC. McEwan. 2012. Genomic scan of selective sweeps in thin and fat tail sheep breeds for identifying of candidate regions associated with fat deposition. *BMC genetics*, 13: 10-19.
- Negussie, E., O. Rottmann, F. Pirchner and J. Rege. 2003. Patterns of growth and partitioning of fat depots in tropical fat-tailed Menz and Horro sheep breeds. *Meat science*, 64: 491-498.
- Orita, M., H. Iwahana, H. Kanazawa, K. Hayashi and T. Sekiya. 1989. Detection of polymorphisms of human DNA by gel electrophoresis as single-strand conformations. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 86: 2766-2770.
- Roose, J., G. Huls, M. Van Beest, P. Moerer, K. vander Horn and R. Goldschmeding. 1999. Synergy between tumor suppressor APC and the -catenin-Tcf4 target Tcf1. *Science*, 285: 1923-1926.
- Untergasser, A., H. Nijveen, X. Rao, T. Bisseling, R. Geurts and J.A. Leunissen. 2007. Primer3Plus, an enhanced web interface to Primer3. *Nucleic acids research*, 35: 71-74.
- van de Wetering, M., M. Oosterwegel, D. Dooijes and H. Clevers. 1991. Identification and cloning of TCF-1, a T lymphocyte-specific transcription factor containing a sequence-specific HMG box. *The EMBO journal*, 10: 123-127.
- Vatankhah, M., M. Moradi-Shahebabak, A. Nejati-Javaremi, R. Miraei-Ashtiani and R. Vaez Torshizi. 2005. The relationships between body and fat-tail measurements with weights of live, hot carcass and hot carcass without fat-tail in lori-bakhtiari sheep. *Pajouhesh and sazaneghi*, 64:66-74.
- Zhu, X., N. Niu, Y. Liu, T. Du, D. Chen and X. Wang. 2006. Improvement of the sensitivity and resolution of PCR-SSCP analysis with optimized primer concentrations in PCR products. *Journal of genetics*, 85: 233-238.

## Association of Polymorphisms of Exon 2 of Transcription Factor 7 Gene with Fat Traits of Blood and Fat Tail in Lori-Bakhtiari and Zel Sheep Breeds

Asgar Bazzaz Parikhani<sup>1</sup>, Mostafa Sadeghi<sup>2</sup> and Hosein Moradi Shahrabak<sup>3</sup>

1 and 3- Graduated M.Sc. Student and Assistant Professor, Department of Animal Science, University College of Agriculture and Natural Resources (UTCAN), University of Tehran

2- Associate Professor, Department of Animal Science, University College of Agriculture and Natural Resources (UTCAN), University of Tehran, (Corresponding author: sadeghimos@ut.ac.ir)

Received: May 20, 2014

Accepted: June 20, 2015

### Abstract

Transcription factor 7 gene (TCF7) is located on genomic candidate region for fat traits on sheep chromosome no. 5 and it is expected to affect fat traits. In the present study, blood samples were collected from 164 Lori-Bakhtiari sheep in Shouli breeding station located at Shahr-e-Kord city, and 113 Zel sheep in Shirang breeding station located at Gorgan city. DNA was extracted from blood samples using modified salting out method and polymerase chain reactions were performed for amplification of 643 bp fragment of exon 2 of locus TCF7 gene. Determination of genotype patterns of sheep were obtained according to result of vertical electrophoresis and AA, AB and BB genotypes were revealed. In Zel breed, AA and AB genotype patterns were observed with frequency of 71 and 29 percent respectively and in Lori-bakhtiari breed, AB and BB genotype patterns were observed with frequency of 10 and 90 percent. There was no significant effect of genotype patterns on fat traits in Zel breed but it was significant effect in Lori-Bakhtiari breed. AB genotype had the greatest impact on fat-tail weight and blood cholesterol and BB genotype had considerable effect on blood triglycerides.

**Keywords:** Blood cholesterol, Blood triglycerides, Fat-tail weight, PCR-SSCP, Sheep, TCF7 gene