دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشهای تولیدات دامی

بررسی چند شکلی اینترون یک ژن گیرنده پرولاکتین در نژاد شال و آمیخته‌های شال و رومانوف با استفاده از روش PCR-SSCP

اسحق آبانگاه[۱]، محمد زندی[۲]، محمد رضا سنجابی[۳] و محمد حسین هادی تواتری[۴]

۱ و ۳- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد و استادیار، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران
۲- استادیار، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، (نویسنده مسوول: mz1075@yahoo.com)
۴- کارشناس پژوهشی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان قزوین، ایران
تاریخ دریافت: ۹۵/۸/۱۸ تاریخ پذیرش: ۹۶/۲/۱۷

چکیده

پرولاکتین از هیپوفیز قدامی ترشح می شود و نقش‌های مهمی از جمله در توسعه پستان، تمایز و شیرواری دارد. هدف از این مطالعه ارزیابی چند شکلی ژن گیرنده پرولاکتین در نژاد شال و آمیخته‌های شال و رومانوف بود. برای این منظور پس از خونگیری از دام‌ها و استخراج DNA به روش فنول کلروفرم، دو قطعه ۱۷۶ و ۲۱۵ جفت بازی از اینترون ۱ ژن گیرنده پرولاکتین توسط آغازگرهای اختصاصی و طی واکنش PCR تکثیر شدند. سپس محصولات PCR با استفاده از الکتروفورز ژل آکریل آمید و رنگ آمیزی نقره مورد آنالیز قرار گرفتند. نتایج نشان داد در قطعه ۱۷۶ جفت بازی از ژن گیرنده پرولاکتین (PRLR۱) در نژاد شال دو ژنوتیپ AB و AC مشاهده شد. فراوانی این ژنوتیپ‌ها به ترتیب ۰/۹۲ و ۰/۰۸ و فراوانی آلل‌های A، B و C به ترتیب ۰/۵۰، ۰/۴۶ و ۰/۰۴ بود. همچنین در جایگاه PRLR۱ از این ژن در نژاد آمیخته شال و رومانف فراوانی ژنوتیپ AB و AC به ترتیب ۰/۹۴ و ۰/۰۶ مشاهده شد و فراوانی آلل‌های A، B و C نیز به ترتیب ۰/۵۰، ۰/۴۷ و ۰/۰۳ بود. بررسی چند شکلی در قطعه ۲۱۵ جفت بازی از ژن گیرنده پرولاکتین (PRLR۲) در نژاد شال و آمیخته شال و رومانف، تنها ژنوتیپ AA را نشان داد. نتایج این مطالعه نشان داد که جایگاه PRLR۱ در نژاد شال و آمیخته شال و رومانف چند شکل در حالی که جایگاه PRLR۲ در نمونه‌های مورد مطالعه یک شکل بود.

واژه‌های کلیدی: شال، رومانوف، ژن گیرنده پرولاکتین، آمیخته گری، چند شکل

مقدمه

درحوزه ژنتیک و اصلاح نژاد دام، اطلاعات از ساختار ژنتیکی جمعیت‌ها می‌تواند کمک بزرگی برای برنامه‌ریزی برای طرح‌های اصلاح نژادی و از همه مهمتر، حفظ ذخایر ژنتیکی باشد. روش‌های مولکولی و استفاده از نشان‌گرهای مولکولی در این زمینه یکی از بهترین گزینه‌ها به حساب می‌آید، زیرا با توجه به اطلاعات زیادی که به دست می‌دهد می‌تواند نتایجی که از تجزیه و تحلیل رکوردها با روش‌های آماری به دست آمده است را تأیید و تکمیل نموده و حتی ممکن است که آن‌ها را رد کند (۱). به‌علاوه، استفاده از ژنتیک ملکولی فواید زیادی دارد که یکی از این فواید معنی‌دار تعیین ژنوتیپ افراد برای جایگاه خاصی است (۲۴). همچنین استفاده از نشانگرهای ژنتیکی در انتخاب و اصلاح نژاد حیوانات ممکن است به طور مهیجی پیشرفت ژنتیکی را تسریع کند (۱۰).

ژن‌های کاندیدا دارای نقش بیولوژیکی شناخته شده در چرخه‌های فیزیولوژی هستند و می‌توانند صفات مورد نظر را تحت تاثیر قرار دهند. ژن‌های کاندیدا یا مستقیما صفت مورد نظر را تحت تاثیر قرار می‌دهند و یا با ژن‌های اثرگذار بر صفت مورد بررسی همبستگی دارند. می‌توان از چند شکلی ژن‌های کاندیدا برای ارتباط آن‌ها با صفات کمی و درک بهتر اثر آن‌ها و همچنین استفاده از آن‌ها در برنامه انتخاب به کمک نشان‌گر بهره برد (۵). همچنین مطالعه تنوع ژنتیکی نژادهای بومی برای حفاظت از منابع ژنتیکی ذخایر بومی لازم و ضروری است (۲۳). حفاظت باید بر اساس دانش عمیقی از منابع ژنتیکی نژادهای خاص باشد، لذا تلاش برای شناسایی و تعیین خصوصیات ژنتیکی نژادهای بومی و محلی بسیار اهمیت دارد (۳۰،۳۳). پرولاکتین هورمون پپتیدی از هیپوفیز قدامی است و در تعداد زیادی از فعالیت‌های درون ریز نقش دارد و برای عملکرد تولیدمثلی موثر است. عملکرد این هورمون وابسته به گیرنده‌ی آن می‌باشد. ژن گیرنده پرولاکتین روی کروموزوم ۱۶ در گوسفند قرار دارد و با ایزوفرم‌های مختلف شناسایی می‌شود (۲۰،۲۶). گیرنده پرولاکتین در سلول‌های مختلف از جمله مغز، تخمدان، جفت و رحم در گونه‌های مختلف پستانداران شناسایی شده است (۲۶). این ژن به عنوان تنظیم کننده اثرات مادری نیز عمل می‌کند و نقش اصلی را در ایجاد اثرات مادری دارد (۳۲). همچنین مهم‌ترین نقش را در چندقلوزایی و تنظیم تخمک گذاری در گوسفند دارد (۴). همچنین گیرنده پرولاکتین به عنوان ژن کاندیدایی که بر صفات کمی مانند تولید مثل و رشد موثر است، شناسایی شده است (۱۹). در این خصوص، شمس الدینی و همکاران (۲۹) ارتباط معنی‌داری بین صفات کرک و چندشکلی ژن پرولاکتین در بز کرکی راینی را گزارش نمودند و نتیجه گرفتند که چندشکلی ژن پرولاکتین می‌تواند به عنوان یک ژن کاندیدا برای بهبود و پیشرفت تولید کرک مورد استفاده قرار گیرد، بدون آن‌که اثر منفی روی قطر کرک داشته باشد.

بهبود عملکرد تولید مثلی در حیوانات مزرعه‌ای به ویژه گوسفند از اهمیت زیادی برخوردار است، بطوری که موفقیت در چندقلوزایی حتی به میزان کم هم باعث ایجاد منافع

بسیاری خواهد شد (۴). آمیخته‌گری با نژادهای چندقلوزا یا انتقال ژن‌های موثر در نرخ تخمک‌گذاری به منظور افزایش چندقلوزایی موثر می‌باشد (۲۵). بالغ بر ۲۶ نژاد گوسفند در ایران وجود دارد که با مناطق مختلف سازگار شده‌اند. در حال حاضر، تولید گوشت مهم‌ترین دلیل پرورش گوسفند در ایران است و تولیدات دیگر مانند پشم، شیر و پوست در درجات بعدی اهمیت قرار دارند (۲۲،۲۸). نژاد رومانوف یکی از نژادهایی است که دارای خصوصیات بلوغ جنسی زودرس، چندقلوزایی و فصل طولانی تولیدمثلی است. درحالی که دارای کیفیت پایین لاشه و نرخ پایین رشد در مقایسه با نژادهای گوشتی می‌باشد (۱۸). نژاد شال از جمله نژادهای درشت جثه، دنبه دار و مقاوم به آب و هوای نامساعد می‌باشد (۹). اگر چه پژوهش‌های زیادی در گوسفندان و بزهای ایرانی روی ژن‌های مرتبط با باروری، انجام شده است (۱، ۲۱،۳۱،۱۴،۱۵،۱۶،۱۷،۶،۷،۸). ولی تا کنون ژن گیرنده پرولاکتین در نژاد شال و آمیخته‌های شال و رومانوف مطالعه نشده است. لذا، هدف از این مطالعه ارزیابی چند شکلی ژن گیرنده پرولاکتین در نژاد شال و آمیخته‌های شال و رومانوف بود.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش، از تعداد ۵۰ رأس میش نژاد شال و ۵۰ راس از آمیخته‌های شال و رومانف موجود در مرکز تحقیقات علوم دامی جهاد کشاورزی قزوین و گله‌های محلی خون‌گیری به عمل آمد. خون‌گیری از سیاهرگ وداجی گردن به مقدار ۵ میلی‌لیتر انجام گرفت. برای جلوگیری از انعقاد خون از ماده ضد انعقاد EDTA (۰/۵ مولار و PH=۸) به نسبت ۱ به ۱۰ (حجم ماده ضد انعقاد به حجم نمونه خون) استفاده شد. نمونه‌های گرفته شده بلافاصله بعد از شماره گذاری و با حفظ شرایط سرد به آزمایشگاه منتقل و تا زمان استخراج DNA در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای استخراج DNA از روش فنول کلروفرم استفاده شد (۲۷). پس از مراحل استخراج برای تکثیر قطعات ۱۷۶ (PRLR۱) و ۲۱۵ (PRLR۲) جفت بازی از اینترون ۱ ژن گیرنده پرولاکتین، از تکنیک PCR استفاده شد. توالی آغازگرهای مورداستفاده دراین پژوهش برای جایگاه ۱۷۶ جفت بازی گیرنده پرولاکتین (PRLR1) و جایگاه ۲۱۵ جفت بازی گیرنده پرولاکتین (PRLR2) بر اساس نتایج چو و همکاران (۴) انتخاب شدند و در جدول ۱ نمایش داده شده است. شرایط واکنش شامل واسرشتی در دمای ۹۴C° به مدت پنج دقیقه بود. پس از آن برنامه چرخشی (۳۲ چرخه) شامل ۹۴C° به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال آغازگر در دمای ۶۰C° به مدت ۳۰ ثانیه و در پایان ۷۲C° به مدت ۴۵ ثانیه بود. واکنش در مرحله‌ی توسعه در دمای ۷۲C° به مدت ۱۰ دقیقه به پایان رسید. در پایان محصولات PCR روی ژل آگارز ۱/۵ درصد الکتروفورز گردیده و عمل عکس برداری با دستگاه ژل داک صورت گرفت. آغازگرهای مورد استفاده در این مطالعه توسط شرکت سینا کلون سنتز شدند.

جدول ۱- توالی‌های آغازگرها

Table 1. Primer sequences

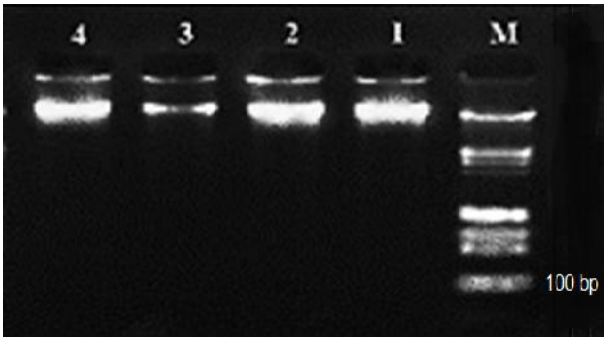
منبع	دمای اتصال	اندازه	توالی	جایگاه	آغازگر
چو و همکاران (۴)	۶۰	۱۷۶	5’-TGTCAGTAAGCGTCAGAGGGC-3’	رفت	PRLR1
			5-GGCTGGTGGAAGGTCACTCTT-3’	برگشت	
چو و همکاران (۴)	۶۰	۲۱۵	5’- CATCTGCTGGAGGTAAGTGC-3’	رفت	PRLR2
			5’-TTCATTGCCCTCTGACGCTT-3’	برگشت	

برای انجام SSCP از روش جای و همکارن (۱۱) استفاده شد. برای این منظور مقدار ۲ میکرولیتر از محصول PCR با ۸ میکرولیتر از بافر بارگذاری (فرمامید ۹۵٪، ۲ میلی‌مولار EDTA، ۰/۰۲۵ درصد گزیلن سیانول، ۰/۰۲۵ درصد برومونفل بلو) مخلوط شد. به‌منظور واسرشتی محصول PCR، نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۹۵C° حرارت داده شدند و بلافاصله بر روی یخ قرار گرفتند.

برای مشاهده قطعات مختلف DNA از روش الکتروفورز ژل پلی اکریل آمید ۱۰ درصداستفاده شد. نمونه ها ابتدا به مدت ۵ دقیقه با ولتاژ ۳۰۰ ولت سپس به مدت ۲ ساعت و با ولتاژ ۲۰۰ ولت الکتروفورز عمودی شدند و از رنگ نیترات نقره ۰/۱ درصد به منظور رنگ آمیزی ژل استفاده شد و با استفاده از NaOH دو درصد بررسی شدند (۳۴). برای محاسبه ی فراوانی آلل ها و بررسی تعادل هاردی واینبرگ از نرم‌افزار GenAlex 6.41 استفاده شد.

نتایج و بحث

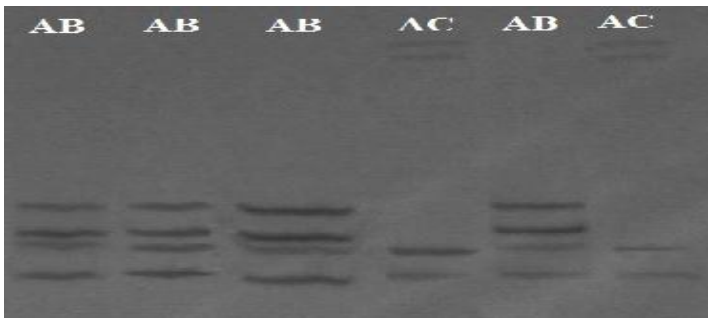
نتایج حاصل از الکتروفورز DNA استخراج شده در شکل ۱ نمایش داده شد. در نمونه‌های فاقد باند و همچنین نمونه‌های با باند ضعیف مجددا استخراج DNA صورت گرفت.



شکل ۱- DNA استخراج شده در تعدادی از نمونه‌های خون نژاد شال و آمیخته شال و رومانوف، M : نشانگر ۱۰۰bp
Figure 1. DNA extracted in some blood samples of Shal breed and Shal×Romanov crossbreeds, M: Marker 100 bp

نتایج حاصل از فراوانی آلل‌ها و ژنوتیپ‌های مشاهده شده در جایگاه PRLR۱ از اینترون یک ژن گیرنده پرولاکتین در جمعیت مورد بررسی از نژاد شال و آمیخته شال و رومانوف در جدول ۲ نمایش داده شده است.

نتایج حاصل از SSCP جایگاه (PRLR۱) در جمعیت مورد بررسی از نژاد شال و آمیخته شال و رومانوف سه آلل A، B و C را نشان دادند که ژنوتیپ‌های مشاهده شده شامل AB و AC بودند (شکل ۲).



شکل ۲- نمونه‌هایی از باندهای حاصل از SSCP جایگاه نشانگری PRLR۱
Figure 2. Examples of bands derived from SSCP of PRLR1 marker site

برای بررسی تعادل هاردی-واینبرگ[1] از آزمون کای اسکور[2] استفاده شد. با توجه به کی دو درون نژادی بدست آمده (۴۹ برای نژاد شال و ۴۹ برای آمیخته شال و رومانوف) و مقایسه آن با سطح احتمال ۵ درصد مشخص شد که دو جمعیت مورد مطالعه برای ژن گیرنده پرولاکتین در تعادل هاردی-واینبرگ قرار ندارند. نتایج د رجدول ۲ نمایش داده شده است. عدم تعادل جایگاه‌ها احتمالا می‌تواند نشان‌دهنده حضور بعضی از عوامل برهم زننده تعادل، مانند انتخاب باشد (۲).

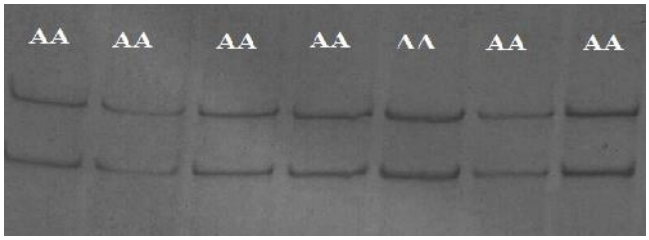
جدول ۲- مقایسه وفور آللی و ژنوتیپی جایگاه نشانگری PRLR۱
Table 2. Comparison of allelic and genotypic frequency in PRLR1 marker site.

جمعیت	تعداد نمونه	توزیع ژنوتیپی		فراوانی ژنوتیپی (٪)		توزیع آللی			فراوانی آللی (٪)			کای دو
		AB	AC	AB	AC	A	B	C	A	B	C	
شال	۵۰	۴۶	۴	۹۲	۸	۱۰۰	۹۲	۸	۵۰	۴۶	۰/۰۴	۴۹***
امیخته	۵۰	۴۷	۳	۹۴	۶	۱۰۰	۹۴	۶	۵۰	۴۷	۰/۰۳	۴۹***

***: معنی‌دار در سطح کمتر از ۰/۰۰۱

نتایج حاصل از ژنوتیپ‌های مشاهده شده در جایگاه PRLR۲ ژن گیرنده پرولاکتین در جمعیت مورد بررسی از نژاد شال و آمیخته شال و رومانوف در شکل ۳ نمایش داده شده است. نتایج نشان داد که همه نمونه‌های مورد بررسی در هر دو نژاد شال و آمیخته شال و رومانوف، ژنوتیپ AA را نشان دادند. بنابراین در این جایگاه هیچ نوع چند شکلی مشاهده نشد و همه نمونه‌ها دارای آلل A با فراوانی ۱۰۰ درصد بودند (شکل ۳).

1- Hardi-Wayenberg
2- Chi-Squre



شکل ۳- نمونه‌هایی از باندهای حاصل از SSCP جایگاه نشانگری PRLR۲
Fiqure 3. Examples of bands derived from SSCP of PRLR1 marker site.

کامجو و همکاران (۱۲) اقدام به بررسی چند شکلی ژن گیرنده پرولاکتین در گوسفند بلوچی و رابطه آن با صفات تولیدی و تولید مثلی کردند. آن‌ها دو آلل A و B را در جایگاه PRLR۱ مشاهده کردند که فراوانی آن‌ها به ترتیب ۰/۶۷۶۷ و ۰/۳۲۳۳ برآورد شد. همچنین سه آلل A، B و C برای جایگاه PRLR۲ مشاهده کردند و فراوانی آن‌ها به ترتیب ۰/۵۴۳۳، ۰۷۶۷ و ۰/۳۸ برآورد شد. آنالیزهای انجام شده روی داده‌های کمی مرتبط به صفات تولیدی و تولید مثلی بیانگر عدم معنی‌داری جایگاه PRLR۲ و معنی‌داری جایگاه PRLR۱ با صفت چند قلوزایی در جمعیت گوسفندان بلوچی بود.

چو و همکاران (۴) در تحقیقی روی ژن گیرنده پرولاکتین در گوسفندان نژاد هان دم کوتاه سه ژنوتیپ AA، AB و BB با استفاده از سه جفت پرایمر طراحی شده برای تکثیر قطعاتی در نقاط اینترون ۱ (دو جایگاه) و اگزون ۱۰ (یک جایگاه) استفاده کردند. آنالیز آماری نشان داد که میش‌های دارای ژنوتیپ‌های BB و AA به ترتیب ۶۴ تا ۷۶ و ۴۴ تا ۵۴ درصد، بره زائی بیشتری نسبت به ژنوتیپ‌های AA داشتند. مطالعات فوق نشان می‌دهد که جایگاه گیرنده پرولاکتین یک ژن تاثیر گذار برای تولید مثل بالا در گوسفندان دم کوتاه هان بوده و یا اینکه با یک ژن ارتباط نزدیکی دارند. آن‌ها برای نخستین بار رابطه معنی‌داری بین این جایگاه و دوقلوزائی در گوسفندان هان دم کوتاه گزارش دادند.

در مطالعه حاضر اختلافی در جایگاه‌های PRLR۱ و PRLR۲ از اینترون یک ژن گیرنده پرولاکتین بین نژاد شال و آمیخته شال و رومانوف مشاهده نشد. خان احمدی و همکاران (۱۳) با مطالعه چند شکلی آللی ژن‌های BMP15 (واریانت‌های FexG و FexB)، GDF9 (واریانت‌های G8 و G1) و BMPRIB (FecB) در آمیخته‌های شال و رومانف، وجود جهش در جایگاه BMP15، BMPRIB و اگزون ۲ ژن GDF9 را تایید نکردند. اگرچه دراگزون ۱ ژن GDF9 چندشکلی مشاهده شد.

انجام مطالعه در جایگاه‌های دیگر ژن گیرنده پرولاکتین و استفاده از نمونه‌های بیشتر توصیه می‌گردد. همچنین بررسی عملکرد تولید مثلی آمیخته‌های شال و رومانوف می‌تواند در بررسی نتایج این مطالعه سودمند باشد.

منابع

1. Alinaghizadeh, H., M.R. Mohammad Abadi and S. Zakizadeh. 2010. Exon 2 of BMP15 gene polymorphisminJabalBarez Red Goat. Journal of Agricultural Biotechnology, 2(1): 69-80 (In Persian).
2. Amiri, F., S.R. Miraei Ashtiani and M. Sadeghi. 2011. Polymorphism in the GDF8 gene and their effects on carcass traits in lori- bakhtiari and zel sheep breeds, 2(4): 12-23.
3. Brym, P., S. Kaminski and E. Wojcik. 2005. Polymorphism within the bovine prolactin receptor gene (PRLR). Animal Science Papers and Reports, 23: 61-66.
4. Chu, M.X., Y.L. Mu, L. Fang and S.C. Ye. 2007. Prolactin receptor as a candidate gene for prolificacy of small tail han sheep. Animal Biotechnology, 18: 65-73.
5. Gao, W., X.Y. Lv, X.N. Zhang, Q.Z. Wang, H. Hassan Musa, H.S. Xu, W.H. Hua, Q. Liu, W.Z. Liu and W. Sun. 2015. Association between genetic polymorphsim of exon 10 of prolactin receptor gene and litter size of sheep. Journal of Science, 5(12): 1325-1331.
6. Hadizadeh, M., M.R. Mohammadbadi, A. Niazi, A.K. Esmailizadeh and Y.M. Gazooei. 2014. Search for polymorphism in growth and differentiation factor 9 (GDF9) gene in prolific beetal and tali goats (Capra hircus). Journal of Biodiversity and Environmental Sciences, 4(4): 186-191.
7. Hadizadeh, M., M.R. Mohammadabadi, A. Niazi, A.K. Esmailizadeh, Y.G. Mehdizadeh and S. Molaei. 2013. Use of bioinformatics tools to study exon 2 of GDF9 gene in Tali and Beetal goats. Modern Genetics Journal, 8(334): 283-288.
8. Hadizadeh, M., A. Niazi, M. Mohammad Abadi, A. Esmailizadeh Mehdizadeh and Y. Gazooei. 2014. Bioinformatics analysis of the BMP15 exon 2 in Tali and Beetal goats. Modern Genetics, 9(1): 117-120.
9. Hossein-Zadeh, N.G. 2015. Modeling the growth curve of Iranian Shal sheep using non-linear growth models. Small Ruminant Research, 130: 60-66.

10. Javanmard, A., M.R. Mohammadabadi, G.E. Zarrigabayi, A.A. Gharahedaghi, M.R. Nassiry, A. Javadmansh and N. Asadzadeh. 2008. Polymorphism within the intron region of the bovine leptin gene in Iranian Sarabi cattle (Iranian Bostaurus). Russian Journal of Genetics, 44(4): 495-497.
11. Ji, D., G. Cheng, Y. Li, H. Zhang, H. Guo and M. Cai. 2016. Association of polymorphisms at PRLR gene loci with litter size in Haimen goat. Biochemistry and Molecular Biology, 1: 23-26.
12. Kamjoo, B., G. Rahimi Mianji, M. abdoli, E. Roomi zadeh and K. Ahmadian. 2011. Detection of allelic polymorphisms in prolactin receptor gene and its association with reproduction trait in Baluchi sheep. 7 national biotechnology congress of I.R. Iran (In Persian).
13. Khanahmadi, A., G. Rahimi Mianji, S.H. Hafezian, R. Khataminejad, N. Mamizadeh, S.M. Mosavi. 2016. Effect of polymorphisms in some candidate genes on twinning in cross breeds of Sall and Romanov. Research on Animal Production, 7(14): 187-192.
14. Khodabakhshzadeh, R., M.R. Mohamadabadi, A.K. Esmailizadeh, H. Moradi Shahrebabak, F. Bordbar and S. Ansari Namin. 2016a. Identification of point mutations in exon 2 of GDF9 gene in Kermani sheep. Polish Journal of Veterinary Sciences, 19(2): 281-289.
15. Khodabakhshzadeh, R., M.R. Mohammadabadi, A.K. Esmailizadeh, A. Koshkoieh, H. Moradi-Shahrebabak and S. Ansari Namin. 2015a. Study of mutations available in first-halfexon 2 of GDF9 gene in crossbred sheep born from crossing of Romanov rams with Kermani ewes. Iranian Journal of Animal Science Research, 6(4): 395-403.
16. Khodabakhshzadeh, R., M.R. Mohammadabadi, H. Moradi and A.K. Esmailizadeh. 2016b. Identification of available mutations in the first-half (from 5'end) of exon 2 of GDF9 gene in crossbred sheep from crossing of Romanov and Lori-Bakhtiari breeds. Animal Production Research, 4(4): 15-26.
17. Khodabakhshzadeh, R., M.R. Mohammadabadi, H. Moradi, A.K. Esmailizadeh and S. Ansari Namin 2015b. Identify of G—›A point mutation at positions 477 and 721 in exon 2 of GDF9 gene in Kermani sheep. Modern Genetics, 10(2): 261-268.
18. Kuchtík, J., D. Zapletal and K. Sustova. 2012. Chemical and physical characteristics of lamb meat related to crossbreeding of Romanov ewes with Suffolk and Charollais sires. Meat Science, 90: 426-430.
19. Lu, A., X. Hu, H. Chen, Y. Dong and Y. Pang. 2011. Single nucleotide polymorphisms of the prolactin receptor (PRLR) gene and its association with growth traits in chinese cattle. Molecular Biology Reports, 38: 261-266.
20. Mishra, C. 2014. Genetic Basis of Prolificacy in Sheep. International Journal of Livestock Research, 4(1): 46-57.
21. Moghadaszadeh, M., M.R. Mohammadabadi and A.K. Esmailizadeh. 2015. Association of Exon 2 of BMP15 Gene with the Litter Size in the Raini Cashmere Goat. Genetics in the 3rd Millennium, 13(3): 4062-4067.
22. Mohammadabadi, M.R. and R. Sattayimokhtari. 2013. Estimation of (co) variance components of ewe productivity traits in kermani sheep. Slovak Journal of Animal Science, 46: 45-51.
23. Mohammadi, A., M.R. Nassiry, J. Mosafer, M.R. Mohammadabadi and G.E. Sulimova. 2009. Distribution of BoLA-DRB3 allelic frequencies and identification of a new allele in the Iranian cattle breed Sistani (Bosindicus). Russian journal of genetics, 45(2): 198-202.
24. Mousavizadeh, A., M.R. Mohammad Abadi, A. Torabi, M.R. Nassiry and G.A.K. Esmailizadeh. 2009. Genetic polymorphism at the growth hormone locus in Iranian Talli goats by polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism (PCR-SSCP). Iranian Journal of Biotechnology, 7(1): 51-53.
25. Notter, D.R. 2012. Genetic improvement of reproductive efficiency of sheep and goats. Animal Reproduction Science, 130: 147-151.
26. Ozmen, O., I. Seker, O. Ertugrul, E. Ozkan and N. Tekin. 2011. Prolactin receptor (PRLR) gene polymorphism in Chios, White Karaman and Awassi sheep breeds. Archiv Tierzucht, 54(4): 381-390.
27. Psifidi, A., C.I. Dovas, G. Bramis, T. Lazou, C.L. Russel, G. Arsenos and G. Banos. 2015. Comparison of eleven methods for genomic DNA extraction suitable for large-scale whole-genome genotyping and long-term DNA banking using blood samples. PLoS One, 10: 0115960.
28. Sattai Mokhtari, M., A. Rashidi, M.R. Mohammadabadi and H. Moradishahrbabak. 2009. Estimation of Genetic, Phenotypic and Environmental Trends of Growth Traits in Kermani Sheep. Iranian Journal of Animal Science, 4(1): 51-58.
29. Shamsalddini, S., M.R. Mohammadabadi and A.K. Esmailizadeh. 2016. Polymorphism of the prolactin gene and its effect on fiber traits in goat. Russian Journal of Genetics, 52(4): 405-408.
30. Shojaei, M., M.R. Mohammad Abadi, M. AsadiFozi, O. Dayani, A. Khezri and M. Akhondi. 2010. Association of growth trait and Leptin gene polymorphism in Kermani sheep. Journal of Cell and Molecular Research, 2: 67-73.
31. Soufy, B., M.R. Mohammadabadi, K. Shojaeyan, A. Baghizadeh, S. Ferasaty, N. Askari and O. Dayani. 2009. Evaluation of Myostatin gene polymorphism in Sanjabi sheep by PCR-RFLP method. Animal Science Reserches, 19(1): 81-89.
32. Wang, L.P., R.Q. Geng, X.N. Zhang and W. Sun. 2015. Identification of SNPs within the PRLR gene and effects on maternal behavior in sheep. Genetics and Molecular Research, 14(4): 17536-17543.
33. Zamani, P., M. Akhondi, M.R. Mohammadabadi, A.A. Saki, A. Ershadi, M.H. Banabazi and A.R. Abdolmohammadi. 2013. Genetic variation of Mehraban sheep using two intersimple sequence repeat (ISSR) markers. African Journal of Biotechnology, 10: 1812-1817.
34. Zhang, C., Y. Wang, H. Chen, X. Lan and C. Lei. 2007. Enhance the efficiency of single-strand conformation polymorphism analysis by short polyacrylamide gel and modified silver staining. Analytical Biochemistry, 15(2): 286-287.

Investigating of Polymorphism in Intron 1 of Prolactin Receptor Gene in Shal Breed and Shal×Romanov Crossbreed using PCR-SSCP Technique

Eshagh Abangah[1], Mohammad Zandi[2], Mohammad Reza Sanjabi[3] and Mohammad Hossin Hadi Tavatori[4]

1, 3- Graduated M.Sc. Student and Assistant Professor, Department of Agriculture, Iranian Research Organization for Science and Technology (IROST), Tehran
2- Assistant Professor, Department of Agriculture, Iranian Research Organization for Science and Technology (IROST), Tehran, (Corresponding author: mz1075@yahoo.com)
4- Research Expert, Agricultural and Natural Resources Research Center of Qazvin Province, Qazvin
Received: November 8, 2016 Accepted: May 7, 2017

Abstract

Prolactin is secreted from the anterior pituitary gland and plays an important role in the mammary gland development, differentiation and lactation. The aim of current study was to evaluate prolactin receptor gene polymorphisms in the Shal breed and Shal×Romanov crossbreeds. For this purpose, after blood sampling of animals and extraction of DNA using phenol chloroform method, two fragments of 176 and 215 base pairs from intron 1 of prolactin receptor gene were amplified using PCR reaction. Then PCR products were analysed by acrylamide gel electrophoresis and silver staining. Results showed that AB and AC genotypes were identified in 176 base pairs fragment of prolactin receptor gene (PRLP1) in Shal breed. The frequencies of these genotypes were 0.92 and 0.08, respectively; and the frequencies of A, B and C alleles were 0.5, 0.46 and 0.04, respectively. Also, in the position of PRLR1 of this gene in Shal×Romanov crossbreeds, the frequencies of AB and AC genotypes were 0.94 and 0.06, respectively; and the frequencies of A, B and C alleles were 0.50, 0.46 and 0.04, respectively. A polymorphism study in the 215 bp fragment of the prolactin receptor gene (PRLR2) in the Shal and Shal×Romanov crossbreeds showed only AA genotype. Results of this study showed that PRLP1 position in Shal breed and Shal×Romanov crossbreeds was polymorphic, however the PRLP2 position in the studied samples was monomorphic.

Keywords: Shal Breed, Romanov Breed, Prolactin Receptor Gene, Crossbreeding, Polymorphism