دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشهای تولیدات دامی

چند شکلی در اگزون ۱۷ ژن DGAT1 و ارتباط آن با صفات تولید شیر در بزهای نژاد مهابادی با روش PCR-SSCP

زهرا عزیزی[۱]، حسین مرادی شهر بابک[۲]، محمد مرادی شهر بابک[۳] و ابوالفضل زالی[۴]

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، (نویسنده مسوول: zahra_azizi@yahoo.com)
۲، ۳ و ۴- استادیار، استاد و دانشیار، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران

تاریخ دریافت: ۹۱/۸/۱۱ تاریخ پذیرش: ۹۱/۱۲/۱۹

چکیده

دی آسیل گلیسرول آسیل ترانسفراز، یک آنزیم میکروزومی است که نقش مهمی در متابولیسم گلیسرو لیپید دارد. این ژن نقش کلیدی در کنترل سنتز تری‌گلیسرید در سلول‌های چربی دارد. این آنزیم مرحله نهایی سنتز تری‌گلسیریدها، یعنی تبدیل دی آسیل گلیسرول (DAG) به تری آسیل گلیسرول (TAG)، را کاتالیز می‌نماید. هدف از این پژوهش مطالعه چند شکلی ژن DGAT1 و ارتباط آن با صفات تولید شیر در بز نژاد مهابادی بود. از تعداد ۷۹ رأس از بزهای مهابادی موجود در مزرعه آموزشی و پژوهشی گروه علوم دامی دانشگاه تهران (کرج) خونگیری به عمل آمد. استخراج DNA با استفاده از روش بهینه یافته نمکی انجام شد. کمیت و کیفیت DNA با روش اسپکتروفتومتری و ژل آگارز ۱٪ بررسی و تکثیر قطعه اختصاصی بخشی از اگزون ۱۷ ژن DGAT1 به کمک واکنش‌های زنجیره‌ای پلیمراز انجام شد. برای بررسی چند شکلی این قطعه، از روش چند شکلی فضایی تک رشته‌ای DNA (SSCP) استفاده شد. پس از الکتروفورز نمونه‌ها روی ژل پلی‌اکریل‌آمید ۱۲٪ و رنگ‌آمیزی ژل‌ها با روش نیترات نقره در مجموع ۴ الگوی باندی مختلف با فراوانی‌های ۰/۴۵ (الگوی۴)، ۰/۲۵ (الگوی ۱)، ۰/۲۴ (الگوی ۲)، ۰/۰۶ (الگوی ۳) مشاهده شد. اثر این جایگاه بر مقدار شیر (P <۰/۰۱) و درصد چربی شیر (P <۰/۰۵) معنی‌دار بود. مقایسه میانگین حداقل مربعات نشان داد که الگوی سه دارای بیشترین مقدار شیر (P <۰/۰۱) و الگوی یک دارای بیشترین میزان درصد چربی شیر بود (P <۰/۰۵). مطالعه چند شکلی ژنتیکی در این جایگاه ژنی و ارتباط آن با صفات تولید شیر بیانگر این است که می‌توان احتمالاً از این ژن کاندید به عنوان یک ابزار مفید در برنامه‌های اصلاحی و انتخاب استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: DGAT1، چند شکلی، PCR-SSCP، بز مهابادی، صفات تولید شیر

مقدمه

بز از نشخوارکنندگان کوچک با اهمیت است که در تولید انواع محصولات شیر، گوشت و پوست حائز اهمیت است. گوشت بز به عنوان منبع اصلی پروتئین حیوانی در بسیاری از کشورهای شمال آفریقا، جنوب شرق آسیا و

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2025-07-02]

نواحی دیگر آسیایی تلقی می‌شود (۵). روش‌های نوین مولکولی بر تجزیه و تحلیل ژنوم متمرکز است، تا امکانات جدیدی را برای ارزیابی صفات مهم اقتصادی در حیوانات مزرعه‌ای فراهم آورد. از جمله صفات اقتصادی مهم که صفات کمی نیز هستند می‌توان به تولید شیر و گوشت اشاره کرد که توسط تعدادی ژن کنترل می‌شوند. لذا شناخت این ژن‌ها، تعیین توالی و موتاسیون‌هایی که ممکن است عملکرد حیوانات و همچنین ارزش اصلاحی آنها را تغییر دهد، امری ضروری به نظر می‌رسد (۱۲). ژن DGAT1 نیز به عنوان QTL مطرح بوده و علاوه بر نقش مهم DGAT1 در سنتز تری‌گلیسریدها و ذخیره انرژی، در جذب چربی از روده، پیوند لیپید و پروتئین و تشکیل لیپوپروتئین‌ها، در ارتباط با جثه کوچک، پرورش آسان، بلوغ زودرس و باروری نیز نقش دارد (۲۱،۱۷).

غلظت تری آسیل گلیسرول پلاسما، در ذخیره چربی در سلول‌های چربی، متابولیسم انرژی در ماهیچه و تولید شیر، تولید تخم‌مرغ و تولید اووسیت پستانداران نقش مهمی دارد (۳). همچنین مشخص شده که DGAT1 به عنوان یک آنزیم مهم در تنظیم میزان تری‌گلسیریدها در بافت چربی می‌باشد (۴). ژنDGAT1 به صورت یک همو تترامر در غشای شبکه آندوپلاسمی قرار دارد و دارای ۱۷ اگزون و ۱۶ اینترون و طول آن ۱۰/۶۲ کیلو باز می‌باشد و پروتئین تولید شده توسط این ژن دارای ۵۰۰ اسیدآمینه است. یک QTL با اثر قوی بر صفات تولیدی شیر به خصوص محتویات چربی شیر در ناحیه ۳ سانتی مورگان پایانه سانترومری کروموزوم ۱۴ گاوی (BTA14) توسط ریکوت و همکاران (۱۴) گزارش شد. تحقیقاتی که روی گوسفندان شیری انجام گرفت نشان داد که اثر این ژن کاندیدا روی مقدار چربی شیر معنی‌دار است (۱۳). در آزمایش‌های دیگری اثر آن به عنوان یک نشانگر مربوط به کیفیت لاشه مانند افزایش حجم چربی داخل ماهیچه‌ای و کاهش میزان چربی پشت در گوسفند مشخص شد (۱۸). هدف از انجام این مطالعه، بررسی چند شکلی اگزون ۱۷ ژن DGAT1 به اندازه ۳۰۹ جفت باز و ارتباط این چند شکلی‌ها با صفات تولید شیر بود.

مواد و روش‌ها

خونگیری از تعداد ۷۹ رأس بز نژاد مهابادی واقع در مزرعه آموزشی و پژوهشی گروه علوم دامی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی کرج با ونوجکت‌های حاوی EDTA از رگ وداج گردن بز انجام شد. صفات اندازه‌گیری شده شامل صفات تولید شیر (رکوردگیری از سال ۸۹ تا سال ۹۱) به تعداد ۸۹۶ رکورد شیر، درصد چربی، درصد پروتئین شیر و تعداد سلول‌های بدنی (رکوردگیری از سال ۸۹ تا سال۹۰) که توسط آزمایشگاه مرکز اصلاح نژاد دام به وسیله دستگاه milko scan fosso اندازه‌گیری شد به تعداد ۲۴۴ رکورد و سایر عوامل شامل سن مادر هنگام زایش، وزن مادر هنگام زایش، ماه، فصل و سال زایش و ماه، فصل و سال رکوردگیری

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2025-07-02]

بودند. استخراج DNA به روش بهینه یافته نمکی انجام گرفت (۷) و برای تعیین کمیت و کیفیت DNA استخراجی از روش اسپکترومتری (تعیین غلظت DNA با دستگاه نانودراپ) و الکتروفورز روی ژل آگارز استفاده شد. تکثیر قطعه ۳۰۹ جفت بازی اگزون ۱۷ DGAT1 به کمک تکنیک PCR و با استفاده از دو پرایمر اختصاصی توالی‌های زیر که توسط زو و همکاران (۱۹) معرفی شدند، تکثیر یک قطعه ۳۰۹ بازی از جایگاه اگزون ۱۷ ژن DGAT1 انجام شد.

توالی پرایمرها به صورت زیر بود:

Forward: 5´-GCA TGT TCC GCC CTC TGG-3´

Reverse: 5´-GGA GTC CAA CAC CCC TGA-3´

جهت بهینه سازی واکنش PCR برنامه‌های حرارتی زیر با ۳۵ سیکل ایده آل ترین شرایط برای تکثیر ژنDGAT1 تشخیص داده شد: دمای واسرشت‌سازی اولیه ۹۵ درجه سانتی‌گراد برای ۵ دقیقه، دمای واسرشت ۹۵ درجه سانتی‌گراد برای ۴۰ ثانیه، دمای اتصال ۵۹/۸ درجه سانتی‌گراد به مدت۳۰ ثانیه برای اتصال پرایمرها، دمای بسط ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۰ ثانیه برای بسط قطعه مورد نظر و در نهایت دمای بسط نهایی ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه در دستگاه ترموسایکلر مدل BIOER شرکت TECHNE ساخت انگلیس انجام شد.

واکنش PCR جهت تکثیر یک قطعه ۳۰۹ جفت بازی از اگزون ۱۷ ژن DGAT1، بعد از بهینه‌سازی غلظت مواد در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۵۰ نانوگرم DNA ژنومی، ۲/۵ میکرولیتر بافر 10X، یک میکرولیتر از هر پرایمر ۱۰ pm/µL، ۲ میکرولیتر از هر ۱۰ mM /µL dNTP، ۲/۵ میکرولیتر از هر ۲۵ $mM/\mu L_2$، ۰/۳ میکرولیتر از آنزیم تک‌پلیمراز ۵ unit/µL و ۱۲/۷ میکرولیتر آب دیونیزه انجام شد. پس از انجام واکنش PCR برای اطمینان از صحت تکثیر و تعیین میزان DNAِ تکثیر شده، الکتروفورز محصولات PCR روی ژل آگارز ۲٪ انجام شد.

به منظور بررسی چگونگی چندشکلی‌های این جایگاه در این نژاد از روش چندشکلی فضایی تک‌رشته‌ای DNA که بر پایه‌ی میزان حرکت تک‌رشته‌های DNA روی ژل پلی‌اکریل‌آمید استوار است استفاده شد. برای این منظور ۱۲ میکرولیتر بافر بارگذاری مخصوص SSCP (شامل فرمامید ۹۹٪، EDTA ۶ مولار، برموفنل و زینول‌سیانید ۱۰٪) با ۵ یا ۶ میکرولیتر محصول PCR مخلوط و ورتکس 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 اتصال مجدد رشته‌های مکمل جلوگیری شود. برای مشاهده الگوهای باندی از تانک الکتروفورز عمودی شرکت Bio Rad با صفحات شیشه‌ای به ابعاد ۰/۱ × ۲۰ × ۸ سانتی‌متر و ژل اکریل‌آمید ۱۲٪ استفاده شد. به این ترتیب که مخلوط محصول PCR و بافر بارگذاریِ مخصوص SSCP درون چاهک‌های ژل بارگذاری شدند. سپس الکتروفورز نمونه‌ها به مدت ۲۱ ساعت و با اختلاف پتانسیل ۳۰۰

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2025-07-02]

ولت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و با بافر TBE (۰/۵X) انجام گرفت. در نهایت رنگ‌آمیزی ژل جهت مشاهده الگوهای باندی به روش نیترات نقره طی سه مرحله تثبیت، لکه‌گذاری و ظهور انجام شد و رنگ‌آمیزی تا ظهور باندها ادامه یافت (۲).

آنالیز آماری داده‌ها

برای تعیین ارتباط بین الگوهای ژنوتیپی از آنالیز واریانس استفاده شد. قبل از آنالیز واریانس باید از نرمال بودن صفات اطمینان حاصل نمود.

نرمال بودن توزیع باقیمانده‌های مربوط به هر صفت در جمعیت مورد بررسی با استفاده از برنامه SAS 9.1 با رویه Univariate و آماره شاپیرو- ویلک[1] بررسی شد. برای نرمال کردن داده‌ها با کمک نرم‌افزار SAS 9.1 و رویه transreg مقدار لامبدا (^{a}) برآورد و در فرمول زیر قرار داده شد.

$$X_{(n)} = (x^{a}) - \frac{1}{a}$$

X_n: داده نرمال شده، x: داده غیرنرمال ^{a}: مقدار لامبدا که معمولاً از ۵- تا ۵+ است و می‌توان این دامنه را تغییر داد.

پس از تعیین ژنوتیپ تک تک دام‌ها برای جایگاه مورد بررسی، این اطلاعات به همراه داده‌های مربوط به تولید شیر، درصد پروتئین، درصد چربی و تعداد سلول‌های بدنی وارد نرم‌افزار EXCEL شد و بعد از تنظیم داده‌ها در این نرم‌افزار، از نرم‌افزار SAS 9.1 و رویه GLM برای آنالیز داده‌ها استفاده شد. برای نرمال‌سازی داده‌ها نیز از روش box cox استفاده شد. در این آزمایش اثر ژن DGAT1 به عنوان عامل ثابت تأثیرگذار بر صفت تولید شیر، درصد پروتئین، درصد چربی و تعداد سلول‌های بدنی شیر در معادله مدل قرار داده شد. به این صورت که ژنوتیپ‌های مشاهده شده ژن DGAT1 اثر سن، سال زایش و ماه رکوردگیری به عنوان عامل ثابت و اثر وزن به عنوان کواریت در مدل قرار داده شد. سایر عوامل نیز در مدل قرار گرفتند ولی به دلیل اینکه معنی‌دار نبودند از مدل حذف شدند. معادله مدل استفاده شده برای آنالیز واریانس به صورت زیر بود:

مدل آماری:

$$Y_{ijklm} = \mu + A_i + G_j + Y_k + M_l + b(W_{ijklm} - \overline{W}) + e_{ijklm}$$

که در آن Y_{ijklm}: هر یک از مشاهدات مربوط به مقدار شیر، درصد چربی، پروتئین و میزان سلول‌های بدنی.

μ: میانگین صفت در جامعه

A_i: اثر i امین سن حیوان هنگام زایش

G_j: اثر j امین ژنوتیپ (DGAT1)

Y_k: اثر k امین سال زایش

M_l: اثر l امین ماه رکوردگیری

b: ضریب تابعیت Y از W (وزن دام‌ها در هنگام زایش)

W_{ijklm}: وزن حیوان هنگام زایش

$\overline{W}$: میانگین وزن دام‌ها در هنگام زایش

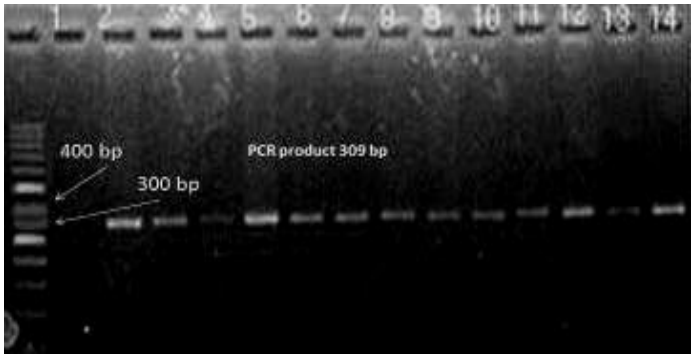
e_{ijklm}: اثر عوامل باقیمانده

1- Shapiro-Wilk

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2025-07-02]

نتایج و بحث

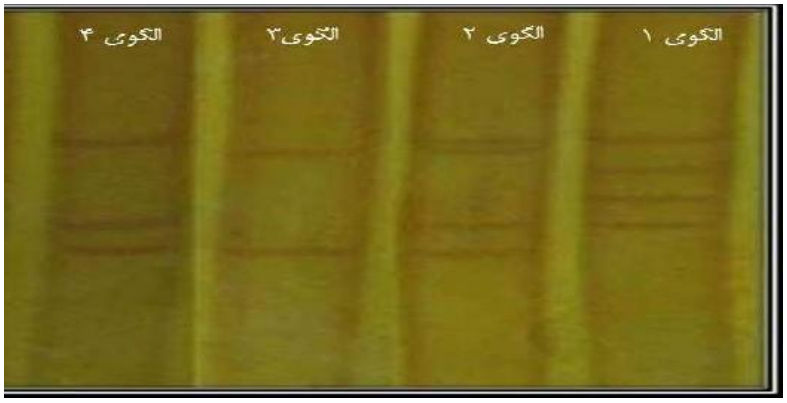
پس از استخراج DNA و اطمینان از کیفیت و کمیت آن توسط ژل آگارز ۱٪ و روش اسپکتروفتومتری، قطعه مورد نظر تکثیر شد. استفاده از نشانگر وزن مولکولی استاندارد در کنار محصولات PCR صحت تکثیر قطعه ۳۰۹ جفت بازی موردنظر را تأیید نمود (شکل ۱).



شکل ۱- الکتروفورز قطعه ۳۰۹ جفت بازی حاصل از تکثیر ژن دی آسیل گلیسرول آسیل ترانسفراز روی ژل آگارز (۲٪). نمونه شماره ۱ کنترل منفی است. نشانگر اندازه ۵۰ جفت بازی برای تعیین اندازه قطعه تکثیری استفاده شد.

SSCP اگزون ۱۷ ژن DGAT1

محصولات ۳۰۹ جفت بازی حاصل از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز، بعد از تک رشته‌ای شدن به روش SSCP روی ژل اکریل آمید الکتروفورز شدند. نتایج SSCP وجود چهار الگوی باندی متفاوت با فراوانی ۰/۴۵ (الگوی ۴)، ۰/۲۵ (الگوی ۳)، ۰/۲۴ (الگوی ۲)، ۰/۰۶ (الگوی ۱) را نشان داد (شکل ۲).



شکل ۲- الگوهای باندی ژن ۳۰۹ جفت بازی DGAT1 حاصل از SSCP محصولات PCR

کاپ و همکاران در سال ۲۰۰۴ چند شکلی این ژن در نژادهای هلشتاین فریزین را گزارش کردند (۹). در بررسی دیگری که اخیراً روی نژادهای بومی هندی (Barbari, Beetal ,Ganjam) در مقایسه با نژاد بز خارجی صورت گرفت یک قطعه ۳۰۷ جفت بازی در ناحیه اینترون ۱۵، اگزون ۱۶، اینترون ۱۶ و اگزون ۱۷ ژن DGAT1 بزهای

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2025-07-02]

بومی با روش SSCP آنالیز شد، که نشان‌دهنده تنوع در این سه نژاد بود، به طوری که آلل A وC در نژاد Ganjam و آلل A در نژاد Beetal و آلل B در نژاد Barbari، مشاهده شد (۱۶). این تفاوت الگو که ناشی از احتمال وجود SNP در قطعه موردنظر با فراوانی متفاوت است، نشان می‌دهد که این نژاد در این جایگاه دارای چند شکلی بالایی است و می‌توان با استفاده از این چند شکلی‌ها و ارتباط آن با صفات تولیدی از این ژن کاندید در برنامه‌های اصلاحی، جهت انتخاب استفاده کرد.

تجزیه واریانس اثر پلی‌مورفیسم ژن DGAT1 بر صفات عملکرد شیر

آماره شاپیرو- ویلک نشان داد که صفات مربوط به تولید شیر در جمعیت بز مهابادی دارای توزیع نرمال نبودند. به دلیل معنی‌دار بودن تست شاپیرو- ویلک در این آزمون (P <۰/۰۱) نرمال‌سازی با روش box cox و به کمک نرم‌افزار SAS 9.1 انجام گرفت. نتایج آزمون نرمال داده‌ها در جدول ۱ ارائه شده است. چنانچه در جدول زیر مشاهده می‌شود، بعد از نرمال‌سازی داده‌ها آماره شاپیرو- ویلک معنی‌دار نشد و نشان‌دهنده نرمال بودن داده‌ها می‌باشد.

مقایسات میانگین حداقل مربعات (بعد از نرمال‌سازی) در جمعیت بز مهابادی نشان می‌دهد که اثر جایگاه ژن DGAT1 بر مقدار شیر (P <۰/۰۱) و صفت درصد چربی شیر (P<۰/۵) معنی‌دار می‌باشد (جدول ۲). مقایسه میانگین حداقل مربعات نشان داد که الگوی سه بیشترین میزان تولید شیر و الگوی یک بیشترین مقدار درصد چربی شیر را داشت. این نتایج با بررسی‌هایی که توسط ولر و همکاران (۱۷) انجام شده و اثر جایگاه DGAT1 را بر صفات تولید شیر در گاوهای نر هلشتاین معنی‌دار گزارش کردند مطابقت دارد. در بررسی دیگری که توسط خراتی و همکاران (۱۱) صورت گفت اثر جایگاه DGAT1 روی چربی شیر تصحیح شده برای دو بار دوشش و پروتئین تصحیح شده برای ۳۰۵ روز را معنی‌دار گزارش کردند.

جدول ۱- نتایج آزمون نرمال باقیمانده‌ها برای صفات تولید شیر

صفت	آماره شاپیرو- ویلک	ارزش P
تولید شیر	۰/۹۹۵۶۲۷	۰/۱۲۷
درصد چربی	۰/۹۸۸۰۴۲	۰/۴۰۱
درصد پروتئین	۰/۹۹۱۲۱۱	۰/۶۶۹
تعداد سلول‌های بدنی	۰/۹۹۰۳۵۶	۰/۱۴۲

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2025-07-02]

جدول ۲- مقایسه میانگین حداقل مربعات (±SE) تصحیح شده الگوهای مختلف اگزون ۱۷ ژن DGAT1

الگوهای ژنوتیپی / صفت	الگوی یک (۲۰ نمونه)	الگوی دو (۱۹ نمونه)	الگوی سه (۵ نمونه)	الگوی چهار (۳۵ نمونه)
**: مقدار شیر (گرم)	(۱۳/۴۱±۰/۷۴)^{b}	(۱۳/۵۴±۰/۶۲)^{b}	(۱۵/۴۵±۰/۷۳)^{a}	(۱۳/۵۶±۰/۵۴)^{b}
*: چربی شیر (درصد)	(۱/۳۳±۰/۲۹)^{a}	(۰/۴۳±۰/۲۵)^{b}	(۰/۷۹±۰/۲۹)^{b}	(۰/۴۸±۰/۲۲)^{b}
ns: پروتئین شیر (درصد)	۰/۴۹±۰/۰۰۴	۰/۴۹±۰/۰۰۳	۰/۴۹±۰/۰۰۴	۰/۴۹±۰/۰۰۳
ns: تعداد سلول‌های بدنی$^{+}$	۴/۴۷±۰/۳۴	۳/۷۱±۰/۲۹	۴/۲۹±۰/۳۴	۴/۰۷±۰/۲۵

ns، **، * و + : به ترتیب اثر غیر معنی‌دار و معنی‌دار ژن بر صفت در سطح احتمال یک و پنج درصد و تعداد سلول به ازای هر میلی‌لیتر شیر.

گریسارت و همکاران (۶) یک جایگزینی دو نوکلئوتیدی غیرحفاظتی را در اگزون هشت ژن DGAT1 در نقاط ۱۰۴۳۳ و ۱۰۴۳۴ پیدا کردند که باعث جایگزینی یک اسیدآمینه در موقعیت ۲۳۲ DGAT1 گاوی می‌شد و دارای یک اثر بزرگ روی چربی شیر بود. واریته لایزین (K) DGAT1 با چربی بالا مرتبط بود در حالی که واریته آلانین (A) آن با افزایش تولید شیر و پروتئین همراه بود. کپنک و همکاران (۱۰) گزارش کردند که ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ‌ها و تولید شیر و درصد چربی وجود دارد. در بررسی دیگری که توسط صادقی و همکاران بر صفات تولید شیر در جایگاه اگزون هشت روی گاوهای نر هلشتاین ایران صورت گرفت نشان داده شد که بیشترین مقدار تولید شیر و پروتئین مربوط به گروه ژنتیکی AA بود ولی در این جایگاه تفاوت معنی‌داری بین ژنوتیپ‌ها برای تولید چربی وجود نداشت (۱۵). بانوس و همکاران (۱) نیز در بررسی که روی اگزون ۸ ژن DGAT1 انجام دادند دریافتند که تغییر آلانین به لایزین (K232A) با کاهش تولید شیر و کاهش پروتئین شیر و افزایش چربی شیر همراه است. در بررسی که توسط ایوان و همکاران (۸) روی جایگاه اگزون هشت انجام شد ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ‌ها و تولید شیر، درصد چربی شیر و SCC وجود داشت. با توجه به وجود چند شکلی ژنتیکی در این جایگاه و ارتباط آن با صفات تولید بیانگر این است که احتمالاً می‌توان از این ژن کاندید به عنوان یک ابزار مفید در برنامه‌های اصلاحی و انتخاب استفاده کرد.

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2025-07-02]

منابع

1. Banos, G., J.A. Woolliams, B.W. Woodward, A.B. Forbes and M.P. Coffey. 2008. Impact of single nucleotide polymorphisms in Leptin, Leptin Receptor, Growth Hormone Receptor and Diacylglycerol Acyltransferase (DGAT1) gene loci on milk production, feed and body energy traits of UK dairy cows. Journal of Dairy Science, 91: 3190-3200.
2. Bassam, B.J., C.G. Anolles and P.A. Gresshoff. 1991. Fast and sensitive silver staining of DNA inpolyacrylamid gels. Analytical Biochemistry, 19: 680-830.
3. Cases, S., S.J. Smith, Y.W. Zhang, H.M. Meyers, S.R.E. Lear, S.S. Novak, C.C.B. Welch, A.J. Lusis and S.K. Erickson. 1998. Identification of a gene encoding an acyl CoA: diacylglycerol acyltransferase, a key enzyme in triacylglycerol synthesis. Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS), 95: 13018-13023.
6. Coleman, R. and M. Bell. 1976. Triacylglycerol Synthesis in isolated fat cells. Biological Chemistry, 56: 4537-4543.
7. Corva, P.M., G.V.F. Macedo, L.A. Soria, J. Mazzucco, M. Motter, E.L. Villarreal, A. Schor, C.A. Mezzadra, L.M. Melucci and M.C. Miquel. 2009. Effect of leptin gene polymorphisms on growth, slaughter and meat quality traits of grazing Brangus steers. Genetics and Molecular Research, 8(1): 105-116.
8. Grisart, B., W. Coppieters, F. Farnir, L. Karim and C. Ford. 2002. Positional candidate cloning of a QTL in dairy cattle: Identification of a missense mutation in the bovine DGAT1 gene with major effect on milk yield and composition. Genome Recourse, 12: 222-231.
9. Iranpur, M. and A.K. Esmailizadeh. 2010. rapid extraction of high quality dna from whole blood stored at 4ºC for Long Period. Retrieved June 18, 2012, from http://www.google.com/protocol-onlin.org.
10. Ivan, M. and R. Honza. 2011. The DGAT1 gene K232A mutation is associated with milk fat content, milk yield and milk somatic cell count in cattle (Short Communication). Archiv Leibniz Institute for Farm Animal Biology, Dummerstorf, Germany. Tierzucht 54(2011) 3, 257-263.
11. Kaupe, B., A. Winter, R. Fries and G. Erhardt. 2004. DGAT1 polymorphism in Bos indicus and Bos Taurus cattle breeds. Journal Dairy Recourse, 71(2): 7-182.
12. Kepenek, E.S. 2007. Polymorphism of prolactin (PRL), Diacylglycerol acyltransferase (DGAT1) and Bovine solute carrier family 35 member 3 (SLC35A3) genes in native cattle breeds and its implication for Turkish breeding. M.Sc. thesis. Department of Biological Sciences. İnci Togan.
13. Kharrati Koopaei1, H., M.R. Mohammad Abadi, S. Ansari Mahyari, A. Esmailizadeh Koshkoiyeh, A.R. Tarang and P. Potki. 2012. Effect of DGAT1 variants on milk composition traits in Iranian Holstein cattle population. Institute of Genetics and Animal Breeding, Jastrzębiec, Poland Animal Science Papers and Reports, 30(3): 231-239.
14. Madeja, Z., T. Adamowicz, A. Chmurzynska, T. Jankowski, J. Melonek, M. Switonski and T. Strabel. 2004. Short communication: Effect of leptin gene polymorphisms on breeding value for milk production traits. Journal of Dairy Science, 87(11): 3925-3927.
15. Moioli, B., M.D. Andrea and F. Pilla. 2007. Candidate genes affecting shep and goat milk quality. Small Ruminant Research, 68: 179-192.

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2025-07-02]

16. Riquet J., W. Coppieters, N. Cambisano, J.J. Arranz, P. Berzi, S.K. Davis, B. Grisart, F. Farnir, L. Karim, M. Mni, P. Simon, J.F. Taylor, P. Vanmanshoven, D. Wagenaar, J.E. Womack and M. Georges. 1999. Fine-mapping of quantitative trait loci by identity by descent in outbred populations: application to milk production in dairy cattle. Proceedings of the National Academy of Sciences, 16: 9252-9257.
17. Sadeghi, M., M. Moradi Shahrebabak, G.H. Rahimi Mianji and A. Nejati Javaremi. 2007. Effect of candidate gene polymorphism on breeding value for milk production milk traits in Iranian Holesteins. Ph.D. thesis, Department of Animal Science, University College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran. (In Persian)
18. Sharma, R. and A.K. Pandey. 2011. Established SNPs in DGAT1 gene of exotic goat is absent in indigenous goat breeds. Indian Journal of Animal Sciences, 81(6): 621-623.
19. Weller, J.I., M. Golik, E. Seroussi and E. Ezra. 2003. And Ron M: Population wide analysis of a QTL affecting milk-fat production in the Israeli Holstein population. Journal of Dairy Science, 86: 2219 pp.
20. Xu, Q.L., Y.L. Chen, R.X. Ma and P. Xue. 2009. Polymorphism of DGAT1 associated with intramuscular fat-mediated tenderness in sheep. Journal of the Science of Food and Agriculture, 89(2): 232-237.
21. Xu, Q.L., Y.L. Chen, R.X. Ma and P. Xue. 2008. Polymorphism of DGAT1 associated with intramuscular fat-mediated tenderness in sheep. Inter Science, 89: 232-237.

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2025-07-02]

Polymorphisms in Exon 17 of DGAT1 Gene and Its Association with Milk Production Traits in Mahabadi Goat Breed Using PCR-SSCP

Zahra Azizi[1], Hossein Moradi Shahrebabak[2], Mohammad Moradi Shahrebabak[3] and Aboalfazl Zali[4]

1- Former M.Sc. Student, University of Tehran
(Corresponding author: zahra_azizi@yahoo.com)
2, 3 and 4- Assistant Professor, Professor and Associate Professor, University of Tehran
Received: November 1, 2012 Accepted: March 9, 2013

Abstract

Diacylglycerol transferase is a microsome enzyme that plays an important role in glycerol lipid metabolism. The acyl CoA-diacylglycerol- acyltransferase 1 (DGAT1) is considered to be the key enzyme in controlling the synthesis of triglycerides in adipocytes. This enzyme catalyzes the final step of triglyceride synthesis (transform triacylglycerol (DAG) into triacylglycerol (TAG). The present study has been designed to determine polymorphism in exon 17 of DGAT1 gene and their association with milk production traits in Mahabadi goat breed using PCR-SSCP. Blood sample were collected from 79 Mahabadi from research station of Animal Science Department at University of Tehran. DNA was extracted according to optimized salting out method. DNA quality and quantitative was determined with spectrophotometer and 1% agarose gel. A Fragment from exon 17 of DGAT1 gene was amplified using the polymerase chain reaction and SSCP technique was used to analyze polymorphism in this segment of DNA. PCR products were run in 12% polyacrylamide gel electrophoresis and were stained with silver nitrate. In overall, four SSCP patterns were observed with frequency of 0.25(1), 0.24(2), 0.06(3) and 0.45(4), respectively. The findings showed that DGAT1 gene had significant effect on milk production ($P<0.01$) and fat percent ($P<0.05$). Comparison of LS means showed that pattern 3 had the most effect on milk production ($P<0/01$) whereas pattern 1 was more effective on fat percentage ($P<0/05$). Polymorphism of DGAT1 gene and its relationship with milk trait indicated that it probably can be useful in marker assisted selection and breeding programs.

Keywords: DGAT1, Polymorphism, PCR-SSCP, Mahabadi goat, Milk trait

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2025-07-02]