



چندشکلی ژن های OPN و UTMP در گاوهای نر هلشتاین ایران

خدیجه نصیری^۱، عبدالرضا صالحی^۲، احد یوسفی^۳ و مهدی امین افشار^۴

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، پردیس ابوریحان دانشگاه تهران، (نویسنده مسوول: khadijeh_nasiri@yahoo.com)

۲ و ۳- دانشیار و دانش آموخته کارشناسی ارشد، پردیس ابوریحان دانشگاه تهران

۴- استادیار، دانشگاه تهران

تاریخ دریافت: ۹۱/۸/۹ تاریخ پذیرش: ۹۲/۲/۲۸

چکیده

ژن OPN در میانه کروموزوم شماره ۶ گاو قرار دارد و مطالعات گزارش کردند که این ژن برای رشد غدد پستانی و نیز شیردهی ضروری است. ژن UTMP روی کروموزوم شماره ۲۱ قرار دارد و نقش در نرخ زندهمانی جنین و نرخ باروری دارد. همچنین مطالعات نشان داده‌اند که این دو ژن دارای ارتباط معنی‌داری با صفات تولید شیر و سلامت دارند. هدف از این تحقیق بررسی چندشکلی ژن های OPN و UTMP در گاوهای نر نژاد هلشتاین ایرانی بود. DNA ژنومی از ۱۰۰ نمونه اسپرم گاوهای نر هلشتاین استخراج شد. آغازگرها توسط نرم‌افزار Oligo طراحی و برای تکثیر قطعات ۸۲۶ جفت بازی از ژن OPN و قطعه ۵۶۸ جفت بازی از ژن UTMP استفاده گردیدند. محصولات واکنش زنجیره‌ای پلیمرز با استفاده از آنزیم برشی BsrI هضم گردیدند. نتایج نشان دادند که فراوانی ژنوتیپ‌های CT, CC و TT ژن OPN به ترتیب ۱۶/۶۹، ۴۸/۶۲ و ۳۴/۶۹ و فراوانی آلل‌های C و T آن به ترتیب برابر با ۰/۴۱ و ۰/۵۹ بوده است. فراوانی‌های ژنوتیپی مشاهده برای ژنوتیپ‌های AB, BB, BC و CC ژن UTMP به ترتیب برابر با ۰/۲۷، ۰/۴۹، ۰/۱۳ و ۰/۱۱ بوده است و دو ژنوتیپ AA و AC در جمعیت مورد مطالعه مشاهده نشد و نتایج بیانگر سه آلل A, B و C به ترتیب با فراوانی‌های ۰/۱۳۵، ۰/۶۹ و ۰/۱۷۵ بودند. با استفاده از آزمون کای مربع، حالت تعادل برای جمعیت بررسی شد و ژنوتیپ‌های این جایگاه‌ها از تعادل هاردی واینبرگ انحراف نشان دادند. با توجه به اثر مطلوب این دو ژن بر صفات تولید شیر می‌توان فراوانی آللی این دو ژن را در جهت اهداف اصلاح نژاد تغییر داد.

واژه‌های کلیدی: چند شکلی، ژن OPN، ژن UTMP، گاوهای نر هلشتاین ایران

مقدمه

که بر صفات تولید شیر مؤثر است (۱۳، ۹، ۴). یکی از مهم‌ترین این ژن‌ها، OPN می‌باشد که استئوپنتین^۱ را کد می‌کند. طول این ژن ۱۲۰۰۰ جفت باز و دارای ۷ اگزون و ۶ اینترون می‌باشد. طول پروتئین این ژن ۲۷۸

در پژوهش‌های پیشین، مطالعاتی روی مکان صفت کمی QTL به فاصله ۴ سانتی مورگان روی کروموزوم ۶ گاو شیری انجام شده است که نتیجه آن شناسایی ژن‌هایی بود

1- Osteopontin

اسیدآمینه می‌باشد. تاکنون نه جهش در این ژن شناسایی شده است. یکی از این جهش‌ها در باز شماره ۱۰۰۴۳ این ژن اتفاق می‌افتد که تیمین به سیتوزین تبدیل می‌شود (۶). نقش پروتئین OPN به نوع سلولی که در آن بیان شده بستگی دارد. از جمله نقش‌های ژن OPN فعال‌سازی سلول‌های T، تکثیر و تولید سیگنال‌های داخل سلولی، تنظیم تشکیل و شکل‌یابی مجدد بافت‌های غنی از مواد معدنی، محرک ماکروفاژها در پاسخ به عفونت و اثرات متقابل با یون‌های Ca^{++} می‌باشد (۵). منبع تولید پروتئین OPN سلول‌های اپیتلیال غده پستانی، مونوسایت‌ها و ماکروفاژهای شیر می‌باشند (۲). غلظت پروتئین OPN در شیر گاو $\mu\text{mg/L}$ می‌باشد (۱). OPN یک ژن کاندیدای موثر منطقه QTL از BTA6 است که این منطقه جایگاه تعداد زیادی از QTLs مرتبط با شیر است (۱۲). ارتباط معنی‌داری بین نشانگرهای ریزماهواره^۱ در منطقه ژن OPN با درصد پروتئین شیر، درصد چربی، مقدار شیر، پروتئین و چربی وجود دارد (۶). چندشکلی ژن OPN در دو جمعیت گاوهای هلشتاین امریکا مورد بررسی قرار گرفت و مشاهده شد آلل C ژن OPN با افزایش درصد پروتئین شیر و درصد چربی شیر ارتباط دارد (۱۰).

ژن UTMP^۲ با ۸۶۳۹ جفت باز دارای ۴ اگزون، ۳ اینترون و دو ناحیه غیرکننده در قسمت ابتدایی و انتهایی ژن می‌باشد. این ژن روی کروموزم شماره ۲۱ و بین ژن‌های SERPINA12 و SERPINA11 واقع شده

است (۷). خطیب و همکاران (۷) ارتباط بین جهش (A/G) در جایگاه ۱۲۹۶ از mRNA ژن UTMP را با صفات تولید شیر و تولیدمثلی در دو جمعیت گله دانشگاه ویسکانسین و گله‌های تعاونی آمریکا مورد بررسی قرار دادند و گزارش کردند آلل G باز ۱۲۹۶ از mRNA این ژن با صفت درصد چربی شیر ارتباط معنی‌داری دارد. پروتئین UTMP در بافت‌های مختلفی از جمله اندومتریوم، تخمدان و کارانکول‌ها و همچنین در اووسیت، شش‌ها، کبد و طحال گاوهای آبستن وجود دارد و نشانگر اهمیت این پروتئین در فعالیت‌های تولیدمثلی نیز می‌باشد (۷). اینترفرون- τ (IFNT) در گاوهای آبستن از اوایل روز نه آبستنی توسط رویان ترشح می‌شود، که به عنوان یک نشانگر مناسب برای تشخیص آبستنی به کار می‌رود. اینترفرون- τ با گیرنده‌هایش (IFNTR) در سلول‌های اندومتریوم، باند می‌شود. این امر باعث فعال‌سازی فرآیند فسفریلاسیون پروتئین‌ها و در ادامه فعال کردن مبدل سیگنال و فعال‌کننده نسخه‌برداری STAT1 و STAT2 می‌شود و در نهایت باعث ترشح و فعال‌سازی پروتئین‌های UTMP و OPN می‌شود. نشان داده شد که ژن‌های OPN، UTMP و STAT1 دارای ارتباط معنی‌داری با صفات تولید شیر و سلامت می‌باشند (۳، ۶، ۱۰). ژن UTMP جزء ژن‌های کاندید مسیر POU1F1 می‌باشد، که ژن‌های این مسیر روی صفات تولید شیر دارای تأثیر می‌باشند. این ژن‌ها شامل STAT5A، POU1F1، OPN و UTMP می‌باشند (۸).

مواد و روش‌ها

استخراج DNA و طراحی پرایمرها

تعداد ۱۰۰ نمونه اسپرم منجمد مربوط به گاوهای نر هلشتاین تأیید شده مرکز اصلاح نژاد دام کشور برای استخراج DNA با کیت High Pure PCR Template شرکت ROCHE همراه با بافر لیزکننده DTT و هم‌چنین از روش استخراج نمکی تعمیم یافته استفاده شد. ارزیابی کمیت DNA با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر انجام شد. میانگین غلظت DNA استخراج شده در کل نمونه‌ها

۱۱۰ ng/μl بود. برای ارزیابی کیفیت DNA، ۵ میکرولیتر DNA استخراج شده روی ژل آگارز یک درصد الکتروفورز شد. آغازگرها توسط نرم‌افزار Oligo نسخه ۵ و نرم‌افزار طراحی و صحت آن‌ها در بانک جهانی ژن (NCBI) بررسی شد. طول قطعه تکثیر شده برای ژن OPN، ۸۲۶ جفت باز بود که شامل ۵، اینترون ۵ و بخشی از اگزون ۶ ژن OPN بود. توالی آغازگرهای طراحی شده ژن OPN در ذیل آمده است.

Forward: 5'-CTGAGGAACTGATGACAAC-3'

Reverse: 5'-GCTTTCATTGGACTTACTTGG-3'

پایین دستی ژن بوده است که توالی توالی آغازگرهای طراحی شده در ذیل آمده است.

طول قطعه تکثیر شده برای ژن UTMP، ۵۶۸ جفت باز بود که شامل تکثیر قسمت‌های انتهایی اینترون ۳، اگزون ۴ و قسمت‌های

Forward: 5'-TTGGTCTGGGGCTAACTC-3'

Reverse: 5'-TTGCTTCTCTGCCTATGTCA-3'

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز

به‌منظور انجام PCR از کیت Hot Start Taq Plus PCR Master Mix شرکت کیاژن استفاده شد. این کیت شامل Coral load PCR Buffer 10x که اجزای آن KCl، Tris.Cl، $(NH_4)_2SO_4$ ، ۱۵ mM $MgCl_2$ ، ۱۵ mM $(NH_4)_2SO_4$ ، ۲۰ mM Tris-Hcl، Orange dye و red dye و بافر reagent ۱۰x که اجزای آن $(NH_4)_2SO_4$ و ۱۵ mM $MgCl_2$ بود. حجم نهایی مواد در ۲۰ میکرولیتر برای تکثیر قطعه ۸۲۶ جفت بازی ژن OPN و تکثیر قطعه ۵۶۸ جفت بازی ژن UTMP عبارت بودند از: ۱۰ میکرولیتر بافر با غلظت ۱۰X، ۲ میکرولیتر

Cora Load با غلظت ۱۰X، ۱ میکرولیتر از هر یک از آغازگرها با غلظت ۱۰ پیکومول و ۵ میکرولیتر DNA با غلظت ۵۰ نانوگرم بود. به منظور بهینه‌سازی PCR و تعیین مناسب‌ترین دمای اتصال آغازگرها از شیب حرارتی استفاده و مناسب‌ترین دمای اتصال برای آغازگرها مشخص شد و در پایان مناسب‌ترین زمان لازم برای واسرشته‌سازی، اتصال و گسترش تعیین شد. برنامه حرارتی برای تکثیر قطعه موردنظر ژن OPN شامل یک سیکل مرحله واسرشته‌سازی اولیه به مدت ۵ دقیقه در ۹۵ درجه سلسیوس، ۳۵ سیکل مرحله واسرشته‌سازی به مدت ۶۰ ثانیه در دمای ۹۵

مستند ساز ژل مورد بررسی قرار گرفت.

هضم آنزیمی

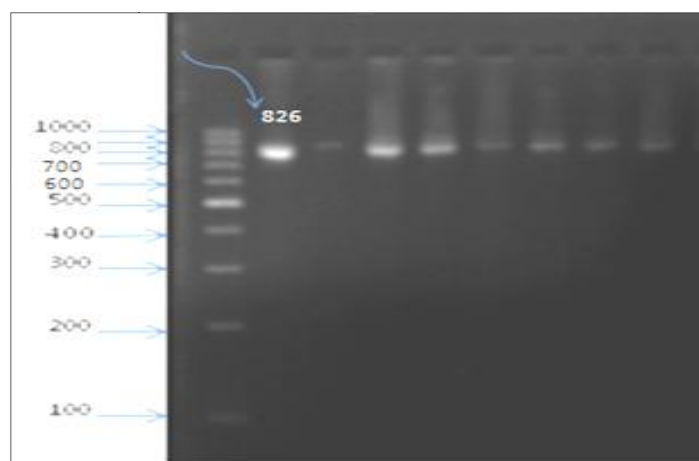
در این تحقیق، برای هضم قطعه ۸۲۶ جفت بازی OPN و ۵۶۸ جفت بازی ژن UTMP از آنزیم برشی *BsrI* که از شرکت Fermentas تهیه شد، استفاده شد.

برای مشاهده ژنوتیپ‌های مختلف از ژل آگارز ۲ درصد استفاده شد. فراوانی آلل‌ها توسط نرم‌افزار ژنتیک جمعیت (Pop Gene) نسخه ۳۲ محاسبه شد.

نتایج و بحث

در شکل ۱ و ۲ تکثیر قطعه ۸۲۶ جفت بازی ژن OPN و ۵۶۸ جفت بازی ژن UTMP مشاهده می‌شوند. نشانگر اندازه استفاده شده در کنار محصولات PCR (۱۰۰ bp) صحت تکثیر قطعات مورد نظر را تأیید کرد.

درجه سیلیسوس، ۳۵ سیکل مرحله اتصال آغازگرها به مدت ۶۰ ثانیه در دمای ۵۱/۳ درجه سیلیسوس، ۳۵ سیکل مرحله گسترش به مدت ۶۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سیلیسوس و یک سیکل مرحله گسترش نهایی به مدت ۶۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سیلیسوس بود. برنامه حرارتی برای تکثیر قطعه مورد نظر ژن UTMP شامل یک سیکل مرحله واسرشته‌سازی اولیه به مدت ۵ دقیقه در ۹۵ درجه سیلیسوس، ۳۵ سیکل مرحله واسرشته‌سازی به مدت ۶۰ ثانیه در دمای ۹۵ درجه سیلیسوس، ۳۵ سیکل مرحله اتصال آغازگرها به مدت ۶۰ ثانیه در دمای ۵۱ درجه سیلیسوس، ۳۵ سیکل مرحله گسترش به مدت ۶۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سیلیسوس و یک سیکل مرحله گسترش نهایی به مدت ۶۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سیلیسوس بود. محصول PCR روی ژل آگارز ۲ درصد الکتروفورز شدند و نتیجه در دستگاه



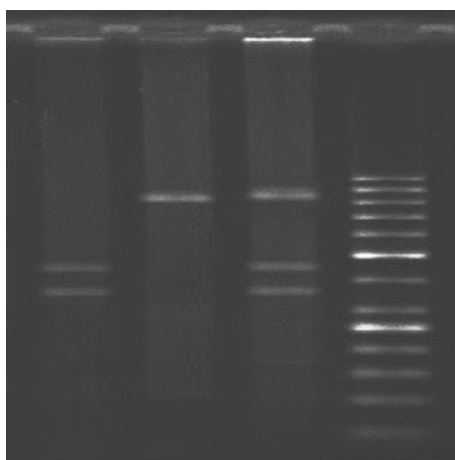
شکل ۱- الکتروفورز محصولات PCR (ژن OPN)



شکل ۲- الکتروفورز محصولات PCR (ژن UTMP)

ایجاد دو قطعه ۳۶۸ و ۴۵۸ جفت بازی شد و مسبب ژنوتیپ CC شد. قطعه برش نخورده ۸۲۶ جفت بازی بیانگر ژنوتیپ TT و سه قطعه ۸۲۶، ۳۶۸ و ۴۵۸ جفت بازی، نشان‌دهنده ژنوتیپ CT می‌باشد (شکل ۳).

نتایج تعیین ژنوتیپ‌های ژن OPN حاصل از برش آنزیمی توسط آنزیم *BsrI* سه نوع ژنوتیپ CC، CT و TT مشخص شد. آنزیم *BsrI* در توالی که جهش اتفاق افتاده باشد سایت برشی را شناسایی و سبب



شکل ۳- الکتروفورز محصولات حاصل از هضم برای ژن OPN توسط آنزیم *BsrI*

چهار ژنوتیپ آن در جمعیت مورد مطالعه مشاهده شد. فراوانی آللی و فراوانی ژنوتیپی ژن‌های OPN و UTMP در جدول ۱ نشان داده شد.

الگوهای ژنوتیپی مشاهده شده حاصل از هضم آنزیمی در ژن UTMP سه نوع آلل A، B و C را نشان دادند (شکل ۴). این آلل‌ها در شش کلاس ژنوتیپی دسته‌بندی شدند که تنها



شکل ۴- الکتروفورز محصولات حاصل از هضم برای ژن UTMP توسط آنزیم BsrI

جدول ۱- فراوانی‌های آلی و ژنوتیپی ژن‌های OPN و UTMP به همراه خطای معیار آنها

ژن OPN								
فراوانی آللی								
فراوانی ژنوتیپی								
TT		CT		CC	T		C	
۳۴/۶۹		۴۸/۶۲		۱۶/ ۶۹	۰/۵۹±۰/۰۲۷		۰/۴۱±۰/۰۲۷	
ژن UTMP								
فراوانی آللی								
فراوانی ژنوتیپی								
CC		BC	BB	AB	A		B	C
۰/۱۱	۰/۱۳	۰/۴۹	۰/۲۷	۰/۱۳۵ ±۰/۰۳۴		۰/۶۹ ±	۰/۰۳۴	۰/۱۷۵ ±۰/۰۳۴

نتایج آزمون کای مربع و فراوانی ژنوتیپی
برای ژن‌های OPN و UTMP در جدول ۲
نشان داده شد. نتایج نشان دادند جمعیت مورد مطالعه برای ژن‌های OPN و UTMP در تعادل هاردی وینبرگ نمی‌باشد ($p < 0.05$).

جدول ۲- نتایج فراوانی ژنوتیپی مشاهده شده، مورد انتظار و آزمون کای مربع برای ژن‌های OPN و UTMP

OPN						
ژنوتیپ	TT	CT	CC	کای مربع	ارزش P	ژنوتیپ
تعداد مشاهده شده	۴۰	۳۸	۲۲	۴/۸۲	۰/۰۲۸	تعداد مشاهده شده
تعداد مورد انتظار	۳۴/۶۹	۴۸/۶۲	۱۶/۶۹			تعداد مورد انتظار
UTMP						
ژنوتیپ	AA	AB	BB	AC	BC	CC
تعداد مشاهده شده	۰	۲۷	۴۹	۰	۱۳	۱۱
تعداد مورد انتظار	۱/۷۶۴	۱۸/۷۲۳	۴۷/۵۰۲	۴/۷۵۰	۲۴/۲۷۱	۲/۹۹

عدم تعادل در جمعیت مورد مطالعه می‌تواند ناشی از انتخاب و همچنین تعداد کم گاوهای نر هلشتاین تحت آزمون نتاج باشد. در مطالعه‌ای که به منظور بررسی تأثیر آلل‌های OPN بر صفات تولید شیر در جمعیت گله گاوهای هلشتاین تعاونی امریکا و جمعیت گاوهای هلشتاین دانشگاه ویسکانسین انجام شد، فراوانی آلل C و T به ترتیب ۰/۵۲ و ۰/۴۸ در گله‌های تعاونی و ۰/۴۹ و ۰/۵۱ به ترتیب در گله دانشگاه ویسکانسین گزارش شدند. این محققین گزارش کردند آلل C ژن OPN با افزایش درصد پروتئین و درصد چربی شیر ارتباط معنی‌داری دارد (۱۰).

در یک تحقیق که هدف تعیین ژنوتیپ و فراوانی آللی ژن‌های OPN، PRL و PIT-1 در گاوهای قرمز جنوب و شرق ترکیه بود، از مجموع ۴۰ گاو منطقه جنوب ترکیه، ۲۲ گاو ژنوتیپ TT، ۱۵ گاو ژنوتیپ CT و ۳ گاو ژنوتیپ CC را نشان دادند و فراوانی آلل‌های C و T به ترتیب ۰/۲۶ و ۰/۷۴ برآورد شدند. همچنین از مجموع ۴۰ گاو منطقه شرق ترکیه، ۲۷ گاو ژنوتیپ TT، ۱۳ گاو ژنوتیپ CT را نشان دادند و ژنوتیپ CC در جمعیت مورد مطالعه گزارش نشد و فراوانی آلل‌های C و T ۰/۱۶ و ۰/۸۴ به ترتیب گزارش شد و دو جمعیت برای این جایگاه ژنی در تعادل بودند (۱۱). این محققین گزارش کردند در نژادهای جنوب و شرق ترکیه فراوانی آلل C ژن OPN که مرتبط با صفات تولید شیر می‌باشد کمتر از نژاد گاوهای اروپایی با تولید شیر بالا می‌باشد (۱۱).

در تحقیقی فراوانی ژنوتیپ‌های CT، CC و TT در جمعیت گاوهای هلشتاین دانشگاه ویسکانسین ۰/۲۳، ۰/۵۱ و ۰/۲۶ به ترتیب گزارش شد و جمعیت موردنظر در تعادل هاردی-وینبرگ بود (۶). اشنابل و همکاران (۱۲) در مطالعه خود ژن OPN را به عنوان ژن کاندیدای موثر بر افزایش درصد پروتئین شیر گزارش کردند.

در مطالعه‌ای که به منظور بررسی چندشکلی ژن UTMP و ارتباط آن با صفات تولید شیر در جمعیت گله گاوهای هلشتاین تعاونی امریکا و جمعیت گاوهای هلشتاین دانشگاه ویسکانسین انجام شد، دو جهش مشابه (A/G) در بازهای شماره ۱۱۷۹ و ۱۲۹۶ در mRNA ژن UTMP شناسایی گردید و فراوانی آلل G در باز شماره ۱۲۹۶ در جمعیت گله گاوهای هلشتاین تعاونی امریکا و جمعیت گاوهای هلشتاین دانشگاه ویسکانسین ۰/۷۲ و ۰/۶۴ به ترتیب گزارش گردید (۷).

نتایج مطالعه حاضر مطالعه با نتایج لئونارد و همکاران (۱۰) و خطیب و همکاران (۶) برای فراوانی‌های آللی ژن OPN در جمعیت مورد مطالعه مطابقت دارد و با نتایج خطیب و همکاران (۷) برای فراوانی‌های آللی ژن UTMP مغایرت دارد.

با توجه به چند شکلی‌های آللی مشاهده شده امکان انتخاب آلل‌های مرتبط با صفات تولید شیر برای انتخاب به کمک نشانگر^۱ میسر است. انتخاب به کمک نشانگر توانایی افزایش فراوانی آلل مطلوب در جمعیت را دارد. با توجه به اثر این ژن‌ها بر تغییرات صفات تولید

شیر می‌توان فراوانی آلی این ژن را در جهت اهداف اصلاح نژاد تغییر داد (۸،۷،۶).
پیشنهاد می‌شود با توجه به نقش مهم و کروموزومی ژن‌های OPN و UTMP بر صفات تولید شیر و صفات تولیدمثلی در موجودات مختلف، مطالعات بیشتر چندشکلی این ژن‌ها و ارتباط آن با صفات مورد نظر در نژادهای دیگر گاو شیری با تعداد نمونه بیشتر توصیه می‌شود.

منابع

1. Bayless, K.J., G.E. Davis and G.A. Meininger. 1997. Isolation and biological properties of osteopontin from bovine milk. *Protein Expression & Purification*, 9: 309-314.
2. Brown, L.F., B. Berse, L. Van DeWater, A. Papadopoulos-Sergiose, C.A. Peruzzi, E. J. Manseau, H. Dvorak and D.R. Senger. 1992. Expression and distribution of osteopontin in human tissues: widespread association with luminal epithelial surfaces. *Molecular Biology of the Cell*, 3: 1169-1180.
3. Cobanoglu, O., I. Zaitoun, Y.M. Chang, G.E. Shook and H. Khatib. 2006. Effects of the signal transducer and activator of transcription 1 (STAT1) gene on milk production traits in Holstein dairy cattle. *Journal Dairy Science*, 89: 4433-4437.
4. Cohen-Zinder, M., E. Seroussi, D.M. Larkin, J.J. Loo, A.E. Wind, J.H. Lee, J.K. Drackley, M.R. Band, A.G. Hernandez, M. Shani, H.A. Lewin, J.I. Weller and M. Ron. 2005. Identification of a missense mutation in the bovine ABCG2 gene with a major effect on the QTL on chromosome 6 affecting milk yield and composition in Holstein cattle. *Genome Research*, 15: 936-944.
5. Dirk-Jan de Koning. 2006. Conflicting candidates for cattle QTLs. *Trends in Genetics*, 301-305.
6. Khatib, H., I. Zaitoun, J. Wiebelhaus-Finger, Y.M. Chang and G.J.M. Rosa. 2007 a. The Association of Bovine PPARGC1A and OPN Genes with Milk Composition in Two Independent Holstein Cattle Populations. *Journal Dairy Science*, 90: 2966-2970.
7. Khatib, H., V. Schutzkus, Y.M. Chang and G.J.M. Rosa. 2007 b. Pattern of expression of the uterine milk protein gene and its association with productive life In dairy cattle. *Journal Dairy Science*, 90: 2427-2433.
8. Khatib, H., W. Hang, A.H. Train, A.B. Bindrim, V. Schutzkus, R.L. Monson and B. S. Yandell. 2009. Single gene and gene interaction effects on fertilization and embryonic survival rates in cattle. *Journal of Dairy science*, 92: 2238-2247.
9. Khatkar, M.S., P.C. Thomson, I. Tammen and H.W. Raadsma. 2004. Quantitative trait loci mapping in dairy cattle: Review and meta-analysis. *Genetics Selection Evolution*, 36: 163-190.
10. Leonard, S., H. Khatib, V. Schutzkus, Y.M. Chang and C. Maltecca. 2005. Effect of the Osteopontin Gene Variants on Milk Production Traits in Dairy Cattle. *Journal of Dairy Science*, 88: 4083-4086.

11. Oztak, K., D. Tesfaye, I. Akis and A. Mengi. 2008. Genetic polymorphism of osteopontin (OPN), Prolactin (PRL) and Pituitary specific transcript factor1 (PIT1) in south Anatolian and east Anatolian red cattle. *Animal Science*, 109-112.
12. Schnabel, R.D., J.J. Kim, M.S. Ashwell, T.S. Sonstegard, C.P. Van Tassell, E.E. Connor and J.F. Taylor. 2005. Fine-mapping milk production quantitative trait loci on BTA6: Analysis of the bovine osteopontin gene. *Proceeding of the National. Academy. Science*, 102: 6896-6901.
13. Spelman, R.J., W. Coppieters, L. Karim, J.A.M. Van-Arendonk and H. Bovenhuis. 1996. Quantitative trait loci analysis for five milk production traits on chromosome six in the Dutch Holstein-Friesian population. *Genetics*, 144(4): 1799-1808.

Polymorphism of OPN and UTMP Genes in the Iranian Holstein Bulls

Khadije Nasiri¹, Abdolreza Salehi², Ahad Yusefi³ and Mahdi Aminafshar⁴

1- Graduated M.Sc., Pardis Aburaihan, University of Tehran

(Corresponding author: khadijeh_nasiri@yahoo.com)

2 and 3- Associate Professor and Graduated M.Sc., Pardis Aburaihan, University of Tehran

4- Assistant Professor, University of Tehran

Received: October 30, 2012

Accepted: May 18, 2013

Abstract

OPN gene is located in the middle of chromosome 6 and it is reported that this gene is essential for the growth of mammary glands and lactation. UTMP gene is located on chromosome 21 and it plays a role in embryo survival rates and fertility rates. Studies have also shown that these two genes have a significant association with milk production traits and health traits. The aim of this study was to investigate the polymorphism of OPN and UTMP genes in Iranian Holstein Bulls. Genomic DNA of 100 bulls was extracted from semen samples. Primers were designed with Oligo software and utilized for amplification of 826 bp of OPN gene and 568 bp fragments of UTMP gene. PCR products were digested with BsrI enzyme. Results had shown that genotype frequencies CC, CT and TT of OPN gene were 16.69, 48.62, and 34.69, respectively and the allelic frequencies of C and T were 0.41 and 0.51, respectively. Genotype frequencies² observed for genotypes AB, BB, BC and CC of UTMP were 0.27, 0.49, 0.13 and 0.11 respectively and genotypes AA and AC were not observed in studied population. Results showed that A, B and C allele frequencies were 0.135, 0.69 and 0.175, respectively. The χ^2 test has shown deviation from Hardy-Weinberg equilibrium for OPN and UTMP genes in the studied population. With respect to the favorable effect of both genes on milk production traits, the allelic frequency of these genes could be changed in order to breeding purposes.

Keywords: Polymorphism, OPN gene, UTMP gene, Iranian Holstein bulls