Sari Agriculture Sceinces and Natural Resources University

Research on Animal Production, Vol. 14, No. 40, Summer 2023 p: 94-101

"Research Paper"

Study of Polymorphism in Exon 4 of GH Gene and Exon 10 of GHR Gene and their Associati on with Carcass Traits in Zel Breed Sheep Using PCR-SSCP

Hossein Moradi Shahr Babak[1], Rasoul Khodabakhshzadeh[2] and shhab behzadi[3]

1- Assistant Professor, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran, (Corresponding author: hmoradis@ut.ac.ir)
2- M.Sc. Student, College of Agriculture andNatural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran.
3- Graduated M.Sc. Student, College of Agriculture andNatural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
4- Graduated M.Sc. Student, Faculty of Agriculture, Department of Animal Science, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

Received: 1 October, 2015 Accepted: 12 July, 2016

Extended Abstract

Introduction and Objective: One of the goals of identifying loci related to quantitative traits is to find the genes that affecting economic traits related to growth, which can be of particular importance in the progress of breeding programs. The aim of the present study was to identify the polymorphisms of GH and GHR genes and their association with carcass traits in Zel sheep using PCR-SSCP.

Material and Methods: After collecting blood samples from157 Zel sheep, DNA was extracted using modified salting-out procedure. PCR was done to amplify fragments with length of 214 and 218 bp from exon 4 of GH and exon 10 of GHR genes, respectively. For detection of polymorphisms in each marker site the SSCP and sequencing methods were used.

Results: The results showed the presence of polymorphism in GH gen site; however, no difference was observed among banding patterns for GHR gene. Genotypes 1 and 2 of GH gene were obtained with frequencies of 43.71 and 56.29, respectively.

Conclusion: The sequencing results showed 5 mutations for GH gene in the studied population. No significant associations of the available genotypes in the exon 4 of GH Gene were observed for any trait. In relation to the third structure of mutated protein for both patterns, the results indicated the predicted protein contains only two chains and consequently lacks of performance, compared with the reference protein. Therefore, the studied marker in the GH gene can not be considered as an effective marker on carcass traits in Zel sheep breed..

Keywords: GH Gene, GHR Gene, Growth traits, PCR-SSCP, Zel sheep breed

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-11-10]

[DOR: 20.1001.1.22518622.1402.14.40.10.3]

[DOI: 10.61186/rap.14.40.94]

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

"مقاله پژو هشی"

مطالعه چند ریختی اگزون ٤ ژن هورمون رشد و اگزون ۱۰ گیرنده هورمون رشد و ارتباط آن‌ها با صفات لاشه در گوسفند نژاد زل به روش PCR-SSCP و توالی‌یابی

حسین مرادی شهر بابک[۱]، رسول خدابخش‌زاده[۲] و شهاب بهزادی[۳]

۱- استادیار، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج ایران، (نویسنده مسوول: hmoradis@ut.ac.ir)
۲- دانش آموخته کارشناسی ارشد، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج ایران
۳- دانش آموخته، دانشکده کشاورزی، گروه علوم دامی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۷/۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۴/۲۲
صفحه: ۹۴ تا ۱۰۱

چکیده مبسوط

مقدمه وهدف: یکی از اهداف شناسایی جایگاه‌های مرتبط با صفات کمی، یافتن ژن‌های مؤثر بر صفات اقتصادی مرتبط با رشد است که می تواند اهمیت خاصی در پیشرفت برنامه‌های اصلاح نژادی داشته باشد. پژوهش حاضر با هدف مطالعه ارتباط چند ریختی ژن‌های هورمون رشد (GH) و گیرنده آن (GHR) با صفات لاشه در گوسفند نژاد زل انجام شد.

مواد و روش‌ها: پس از خونگیری از ۱۵۲ رأس گوسفند نژاد زل، استخراج DNA با روش استخراج نمکی بهینه انجام و واکنش زنجیره‌ای پلی مراز (PCR) جهت تکثیر قطعه‌های ۲۱۴ جفت بازی از جایگاه اگزون ۴ ژن GH و ۲۱۸ جفت بازی از جایگاه اگزون ۱۰ ژن GHR انجام گرفت. برای شناسایی چند ریختی در هر یک از جایگاه های نشانگری از روش SSCP و توالی یابی استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج بیانگر دو چندریختی در جایگاه ژن GH بود اما برای ژن GHR، هیچگونه تفاوتی بین باندها مشاهده نشد. ژنوتیپ‌های ۱ و ۲ ژن GH به‌ترتیب با فراوانی‌های ۵۶/۲۹ و۴۳/۷۱ درصد در جمعیت مورد بررسی مشاهده شدند.

نتیجه‌گیری: نتایج توالی‌یابی منجر به شناسایی ۵ جهش در جمعیت مورد مطالعه شد. هیچ یک از ژنوتیپ‌های ژن GH در نژاد زل با صفات مورد مطالعه ارتباط معنی‌داری نشان ندادند. در رابطه با ساختار سوم برای پروتئین جهش یافته برای هر دو الگوی ژن GH نتایج نشان داد که ساختار پروتئین پیش بینی شده در مقایسه با پروتئین مرجع فاقد جهش، فقط حاوی دو زنجیره است که می تواند فاقد عملکرد باشد، لذا نشانگر مورد مطالعه در ژن GH را نمی توان به عنوان نشانگر مؤثر بر صفات لاشه در گوسفند نژاد زل در نظر گرفت.

واژه‌های کلیدی: ژن GH، ژن GHR، صفات رشد، گوسفند زل، PCR-SSCP

مقدمه

در حیوانات مزرعه‌ای، صفت رشد حیوان همیشه به‌دلیل ارزش اقتصادی موثر آن مورد توجه متخصصین اصلاح نژاد و دامداران بوده است. ژن هورمون رشد یک ژن کاندیدا برای رشد گوسفند می‌باشد که نقش مهمی در افزایش رشد دارد (۷). هورمون رشد در فرآیندهایی مانند رشد (۸)، شیردهی (۴) و تولید مثل (۲۲) مؤثر است. هورمون رشد (GH)[۱] فراوان‌ترین هورمون هیپوفیز پیشین است و از سلول‌های سوماتوتروپ ترشح می‌شود (۳). این ژن بخشی از خانواده ژن‌های چند گانه شامل پرولاکتین و لاکتوژن جنینی است و روی کروموزوم شماره ۱۹ قرار دارد که شامل ۲۸۵۶ جفت باز، ۵ اگزون و ۴ اینترون است (۱). هورمون رشد به‌صورت یک هورمون پلی‌پپتیدی تک زنجیره‌ای می‌باشد که وزنی در حدود ۲۲ کیلو دالتون دارد و دارای ۱۹۱ اسید آمینه است (۱۱، ۲۵). هورمون رشد در فرآیندهای متابولیکی و فیزیولوژیکی متعددی نقش دارد و برای اینکه بتواند در فرایند رشد و متابولیسم چربی شرکت کند نیازمند به اتصال به گیرنده‌های آن(GHR)[۲] در سطح سلول‌های هدف می باشد (۱۰، ۱) . ژن مربوط به گیرنده هورمون رشد دارای ۱۰ اگزون و۹ اینترون می‌باشد و توالی DNA آن ۳۶۵۱۸۶ جفت باز است. ژن GHR روی کروموزوم ۱۶ گوسفند قرار دارد (۲۱). وجود چندریختی در ژن مربوط به گیرنده هورمون رشد می‌تواند یک عامل مؤثر برای بیان ژن هورمون رشد باشد (۱۹). محققین در پژوهشی نشان دادند که نسخه‌های همانندسازی شده ژن هورمون رشد گوسفندی دارای چند شکلی جایگاه آنزیم PvuII در اینترون شماره ۲ خود هستند (۱۳).

گوسفند نژاد زل تنها نژاد گوسفند ایرانی است که بجای دنبه دارای دمی بصورت دنبالچه متشکل از ۷ مهره با طول ۱۲-۱۰ سانتی‌متر می‌باشد. زیستگاه این گونه، مراتع بالا و پایین دست استان‌های مازندران و گلستان است. نژادی با جثه کوچک است که وزن بلوغ برای قوچها بطور متوسط ۳۵ کیلوگرم و برای میش‌ها ۳۲ کیلوگرم می‌باشد. استفاده از روش‌های ژنتیک مولکولی همچون نشانگرهای DNA برای انجام سریع‌تر و صحیح‌تر برنامه‌های اصلاح نژادی از بهترین گزینه‌ها به حساب می‌آید و می‌تواند مکمل سایر داده‌های موجود از جمله مؤلفه‌های جمعیتی حاصل از روش‌های آماری و نیز اطلاعات فنوتیپی باشد. لذا، هدف از این مطالعه، شناسایی چندریختی اگزون ۴ ژن هورمون رشد و اگزون ۱۰ گیرنده هورمون رشد و ارتباط آن‌ها با صفات لاشه در نژاد زل به روش[۴] SSCP- [۳] PCR و توالی‌یابی محصولات PCR بود.

مواد و روش‌ها

این مطالعه با استفاده از رکوردهای اندازه گیری شده روی ۱۵۲ رأس گوسفند زل (از هر دو جنس نر و ماده) که برای کشتار به کشتارگاه صنعتی دام شرق مازندران واقع در کیلومتر ۵ جاده ساری به جویبار آورده شده بودند، انجام گرفت. در کشتارگاه ونوجکت‌های حاوی خون سانتریفیوژ (۱۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰g) شدند تا پلاسما و سرم بطور کامل جدا شود.

1- Growth hormone 2- Growth hormone receptor 3- Polymerase Chain Reaction
4- Single-Strand Conformational Polymorphism

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1402.14.40.10.3]
[DOI: 10.61186/rap.14.40.94]

سرم و پلاسمای جدا شده، داخل میکروتیوپ ۱/۵ میلی‌لیتری ریخته می‌شد و بعد از شماره‌گذاری در فریزر در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد. کلیه عملیات آزمایشگاهی این پژوهش در آزمایشگاه تحقیقاتی گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران (کرج) صورت گرفت. استخراج DNA به‌طریق بهینه یافته نمکی (۱۸) انجام گرفت. کمیت و کیفیت DNA استخراج شده با روش اسپکتوفوتومتری و الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۰/۸٪ تعیین شد.

تکثیر اگزون ٤ ژن هورمون رشد و اگزون ۱۰ گیرنده هورمون رشد

واکنش PCR با استفاده از دو جفت پرایمر اختصاصی به توالی‌های زیر، جهت تکثیر قطعه ۲۱۴ جفت بازی از جایگاه اگزون ۴ ژن هورمون رشد (۶) و قطعه ۲۱۸ جفت بازی از جایگاه اگزون ۱۰ ژن گیرنده هورمون رشد (۲۴) گوسفندی انجام شد.

توالی پرایمرها برای تکثیر اگزون ۴ ژن هورمون رشد:
F: 5′- CCACCAACC ACC CAT CTG CC-3′
R: 5′- GAAGGG ACC CAAGAACGC C-3′

توالی پرایمرها برای تکثیر اگزون ۱۰ گیرنده هورمون رشد:
F:5′GCCAAAACAATAAGACTGGGAACC-3′
R:5′GGCTGTAGTGGTAAGGCTTTCTGTG-3′

تکثیر قطعات مورد نظر از ژن‌های GH وGHR با استفاده از دستگاه ترموسایکلر مدل FTGRAD2D شرکت TECHNE انجام شد. برنامه دمایی عبارت بود از: ۱) ۵ دقیقه دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به منظور واسرشت سازی اولیه DNA، ۲) انجام ۳۰ چرخه دمایی زیر: الف- ۳۰ ثانیه دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به منظور تک رشته‌ای شدن DNA، ب- ۳۰ ثانیه در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به منظور همجوشی آغازگر به DNAی تک رشته‌ای برای ژن GH و ۴۰ ثانیه در دمای ۶۲ درجه سانتی‌گراد به منظور همجوشی آغازگر به DNAی تک رشته‌ای برای ژن GHR، پ- ۳۰ ثانیه دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به منظور بسط آغازگر، ۳) ۵ دقیقه دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای بسط نهایی.غلظت نهایی واکنش PCR۲۵ میکرولیتر بود که به شرح جدول ۱ می‌باشد.

جدول ۱- غلظت‌های مواد مورد استفاده برای انجام واکنش PCR

Table 1. Concentrations of materials used to perform the PCR reaction

نام ماده (name material)	غلظت ذخیره اصلی (Main stock concentration)	مقدار مورد استفاده (amount used)	غلظت نهایی (Final concentration)
MgCl2	25 Mm/µL	3 µL	3 Mm/µL
PCR buffer	10X	2.5 µL	1 X
dNTPs	10 Mm/µL	2 µL	0.8 Mm/µL
Primer (Forward)	10 pm/µL	0.8 µL	0.32 pm/µL
Primer (Reverse)	10 pm/µL	0.8 µL	0.32 pm/µL
Taq DNA Polymerase	5 unit/µL	0.3 µL	0.06 unit/µL
DNA	stock	2 µL	-
dH_2O	-	13.6 µL	-

بعد از اتمام PCR برای اطمینان از تکثیر قطعه مورد نظر از روش الکتروفورز روی ژل ۱/۵ درصد با ولتاژ ۱۲۰ ولت و مدت ۲۰ دقیقه استفاده شد.

بارگذاری و الکتروفورز محصولات SSCP

جهت الکتروفورز محصولات SSCP از سیستم الکتروفورز عمودی دارای سیستم خنک‌کننده با آب استفاده شد. جهت انجام SSCP، از محلول اکریل‌آمید ۳۸/۵ درصد استفاده شد که در آن نسبت اکریل‌آمید به بیس اکریل‌آمید ۳۷/۵ به ۱ بود. مقدار ۱۲ میکرولیتر بافر بارگذاری را با ۵ میکرولیتر محصول PCR مخلوط و بعد از کمی ورتکس مقدار ۱۰ میکرولیتر از هر نمونه با استفاده از الکتروفورز عمودی روی ژل اکریل-آمید۱۲ درصد بارگذاری و با جریان برق (۳۰۰V،۶۰ mA) و بمدت ۱۶ ساعت الکتروفورز شد. برای بررسی SSCP و مشاهده قطعات بدست آمده از رنگ آمیزی به روش نیترات نقره استفاده گردید (۵).

در این مطالعه بر اساس الگوهای باندی متفاوت، از هر الگو یک نمونه از محصولات PCR انتخاب و برای توالی‌یابی به‌صورت مستقیم به شرکت Bioneer کره جنوبی ارسال شد. پس از دریافت نتایج توالی‌یابی، توالی‌ها با استفاده از نرم‌افزار BioEdit 7.0 (http://www.mbio.ncsu.edu/bioedit/bioedit.html) جهت تعیین جهش‌های تک نوکلئوتیدی به همراه توالی‌های گزارش شده در NCBI با شماره دست‌یابیX12546 هم‌تراز و مقایسه شدند.

ساختار پروتئین

در مرحله اول با استفاده از توالی اسید آمینه X12546.1 در وب سایت PHyre2 ساختار سوم پروتئین هورمون رشد در گونه گوسفند پیش‌بینی شد. برای اعمال جهش‌های شناسایی شده، در ابتدا با استفاده از نرم‌افزار BIOEDIT 7.0 و به روش CLAWAL، توالی اگزون ۴ (بخش کدکننده توالی مورد نظر) با توالی نوکلئوتیدی موجود در پایگاه داده‌های NCBI مربوط به ژن هورمون رشد همردیف شدند. سپس با استفاده از نرم افزار VectorNTI 9.0 توالی مورد نظر در ۶ قالب خواندن باز به توالی پروتئینی ترجمه و چهارچوب صحیح در مقایسه با پروتئین موجود در NCBI شناسایی شد. در مرحله بعد جهت رسم ساختار پروتئین براساس توالی جهش یافته، ساختار سوم پروتئین با استفاده وب سایت PHyre2 پیش بینی شده و مورد بررسی قرار گرفت.

روش آماری

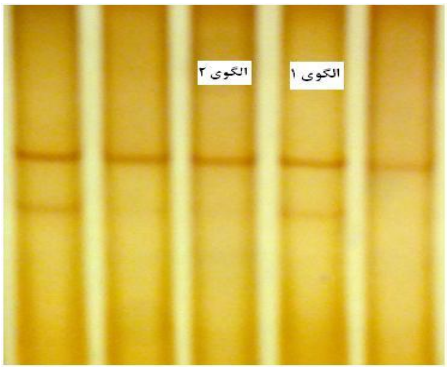
در این تحقیق پس از تعیین ژنوتیپ دام‌ها برای جایگاه‌های مورد بررسی این اطلاعات به همراه داده‌های مربوط به وزن زنده، وزن لاشه گرم، ضخامت چربی پشت بین دنده دوازده و سیزده، تری گلیسرید خون، کلسترول خون، سن دام و جنس پس از ویرایش در برنامه اکسل وارد برنامه SAS 9.1 شده و توسط رویه GLM آنالیز شدند. اثر سن و جنس حیوان به‌عنوان عامل ثابت و اثر وزن مربوط به قبل از کشتار دام مورد نظر به‌عنوان کوواریت در مدل قرار داده شد:

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1402.14.40.10.3]
[DOI: 10.61186/rap.14.40.94]

$y_{ijlko} = \mu + A_i + G_l + D_k + B(W_{ijlko}) \overline{W} - +(AG)_{il} + e_{ilko}$

y_{ijklo} : هر یک از مشاهدات مربوط به صفات وزن لاشه، ضخامت چربی پشت، سطح تری گلیسرید و کلسترول خون از تمام دامهای خونگیری شده، μ: میانگین جمعیت، A_i : اثر iامین سن حیوان در هنگام خون‌گیری (سن حیوان با بررسی دندان آنها تعیین و ثبت می شود)، G_l: اثر l امین ژنوتیپ ژن مورد نظر (GH و GHR)، D_k: اثر k مین روز نمونه‌گیری، B: ضریب رگرسیون y روی W (وزن دامها در هنگام خون گیری)، W_{ilo} : وزن دامها در هنگام خونگیری، $\overline{W}$: میانگین وزن دامها در هنگام خون‌گیری، $(AG)_{il}$:اثر متقابل بین سن و ژنوتیپ، e_{ilo} : اثر سایر عوامل تصادفی.

پس از آنالیز واریانس و مشخص نمودن اثر هر یک از عوامل بر صفات مورد بررسی، مقایسه میانگین حداقل مربعات سطوح مختلف ژن‌های GH و GHR با آزمون توکی انجام گرفت.



شکل۱- الگوهای موجود در ژل SSCP از یک قطعه 214 جفت بازی از ژن GH

Figure 1. Patterns in the SSCP gel of a fragment with 214 bp of GH gene

محققین در پژوهشی اگزون ۴ و ۵ ژن هورمون رشد را در یک نژاد گوسفند بومی پرتغالی به نام Churra da Terra Quente مطالعه کردند و برای اگزون ۴ دو الگو باندی به‌ترتیب با فراوانی ۷۲/۵ و ۲۲/۵ و برای اگزون ۵ تعداد پنج الگوی متفاوت را مشاهده کردند که با نتایج این پژوهش مطابقت

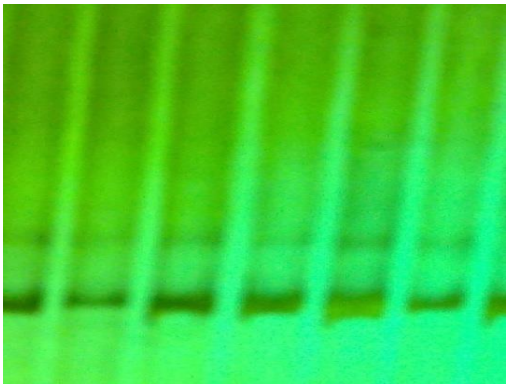
می‌کند (۶). در پژوهشی بر روی چندریختی اگزون ۱۰ ژن مربوط به گیرنده هورمون رشد گوسفندان نژاد کرمانی با روشPCR-SSCP، ۶ الگوی باندی مشاهده شد که با نتایج ما مطابقت ندارد (۲۱). همچنین نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر با نتایج محققینی که برای ژن GH گوسفندان نژاد زل به روش PCR-SSCP، سه الگوی باندی به‌ترتیب با فراوانی‌های ۱۹، ۵۱ و ۳۰ درصد مشاهده کردند (۱۶) و همچنین با نتایج محققینی که در بررسی چندریختی ژن GH

نتایج و بحث

الکتروفورز محصولات تکثیر شده روی ژل آگارز ۱/۵ درصد، از جایگاه ژن GDF9 نشان داد که قطعه ۲۱۴ جفت بازی از جایگاه اگزون ۴ ژن هورمون رشد و قطعه ۲۱۸ جفت بازی از جایگاه اگزون ۱۰ ژن گیرنده هورمون رشد در نظر گرفته شده به خوبی و بدون هیچ باند غیر اختصاصی تکثیرشدند.

شناسایی الگوی‌های ژنوتیپی بر اساس نتایج توالی‌یابی

با تجزیه محصولات الکتروفورز عمودی از روش PCR-SSCP، ۲ فرم مختلف از الگوهای باندی در جمعیت مورد مطالعه برای قطعه ۲۱۴ bp جایگاه اگزون ۴ ژن GH مشاهده شد اما برای گیرنده هورمون رشد، هیچگونه تفاوتی بین باندها مشاهده نشد (شکل ۱ و ۲). ژنوتیپ‌های ۱ و ۲ ژن GH به‌ترتیب با فراوانی‌های ۵۶/۲۹ و۴۳/۷۱ درصد در جمعیت مورد بررسی مشاهده شدند. ملاحظه می‌شود که ژنوتیپ ۱ در جمعیت مورد بررسی دارای بیشترین فراوانی بود.



شکل۲- الگوهای موجود در ژل SSCP از یک قطعه ۲۱۸ جفت بازی از ژن GHR

Figure 2. Patterns in the SSCP gel of a fragment with 218 bp of GHR gene

گوسفندان نژاد دلاق سه ژنوتیپG1، G2 وG3 به‌ترتیب با فراوانی ۰/۸۴، ۰/۱۳ و ۰/۰۳ مشاهده کردند (۲)، مطابقت دارد. محققین در بررسی چندریختی اگزون ۴ ژن GH در گوسفندان کردی سه الگوی باندی مشاهده کردند که با نتایج ما مطابقت دارد (۲۳). در پژوهشی روی اگزون ۴ ژن GH (قسمتی از اینترون ۳، اگزون ۴ و قسمتی از اینترون ۴) گوسفندان نژاد ماکویی ۵ الگوی باندی مشاهده شد که گزارش این چندریختی در ژن GH گوسفندی با نتایج ما مطابقت دارد (۲۰).

پس از بدست آمدن نتایج SSCP قطعه ۲۱۴ حفت بازی جایگاه اگزون ۴ ژن GH، بر اساس الگوهای باندی متفاوت، از هر الگو، نمونه‌ایی برای توالی‌یابی فرستاده شد که نتایج توالی‌یابی به شرح زیر بود:

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1402.14.40.10.3]
[DOI: 10.61186/rap.14.40.94]

جدول ۲ – جهش‌های شناسایی شده در توالی‌های مربوط به ژن GH (exon 4)

Table 2. Detected mutation in the sequences related to the GH gene (exon 4)

G	A	C	G	Del.	بازهای accession no. X12546
		شماره نوکلئوتید (Nucleotide number)			الگو (Pattern)
1489	1486	1358	1357	1343	
C	G	-	-	C	۱
C	G	G	T	C	۲

در بررسی نتایج توالی‌یابی با GenBank accession no. X12546 معرفی شده در NCBI، در الگوی ۱ و ۲، در نوکلئوتیدهای ۱۴۸۶ و ۱۴۸۹ تغییرات باز را بصورت Aبه G و G به C در هر دو الگو مشاهده می‌کنیم و در الگوی ۱ و ۲، در نوکلئوتید ۱۳۴۳ اضافه شدن C مشاهده شد. در الگوی ۱، در نوکلئوتیدهای ۱۳۵۷ و ۱۳۵۸، حذف باز را داریم. در ژن گیرنده هورمون رشد، هیچگونه تفاوتی بین باندها مشاهده نگردید.

نتایج پیش بینی ساختارسوم پروتئینی جایگاه 214bp ژن GH:

نتایج همردیفی ساختار دوم پروتئین نشان داد که ساختار پروتئینی (در ۱۹۴ اسیدامینه به عبارتی ۸۹٪ از توالی مورد نظر) ژن هورمون رشد با ضریب اطمینان ۱۰۰٪ مشابه خانواده ۴-هلیکس سیتوکین (4-helical cytokines) می‌باشد (شکل ۳).



شکل ۳- همردیفی ساختار دوم پروتئین پیش بینی شده با پروتئین مرجع

Figure 3. Alignment of the second structure of the predicted protein with the reference protein

نمایش ساختار پروتئین تولید شده با وجود جهش‌ها:

با درج جهش‌های الگوی یک در توالی نوکلئوتیدی و دیدن تغییرات اسید آمینه‌ای، مشاهده شد که جهش موجود در نوکلئوتید ۱۴۸۹ و ۱۴۸۶ در اینترون ۵ قرار دارند و تاثیری بر ساختار و عملکرد پروتئین ندارند و از طرفی در هر دو الگو اتفاق افتاده بود و در نتیجه تفاوتی بین افراد جمعیت در این جهش‌ها مشاهده نمی‌شود. از طرفی در الگوی یک جهش در نوکلئوتید ۱۳۴۳ یک جهش حذفی است و همانطور که در همردیفی اسیدهای آمینه این پروتئین مشاهده می شود (شکل ۵) این جهش باعث ایجاد کدون خاتمه در ترجمه می شود و می‌تواند تاثیر زیادی بر ساختار و عملکرد داشته باشد. از آنجایی که تعداد نوکلئوتیدهای حذف شده سه یا مضربی از سه نیست چارچوب خوانش تغییر می‌کند و اغلب باعث ایجاد کدون خاتمه جدید می‌شوند و در نتیجه جهش ایجاد شده یک جهش بی‌معنی است. این جهش‌ها باعث به هم ریختن رمزهای سه حرفی mRNA می‌شوند، در نتیجه کدون‌ها اشتباه خوانده می‌شوند و از جایگاه تغییر به بعد، کلیه‌ی کدون‌ها و در نتیجه آمینواسیدهای پروتئین دچار تغییر می شوند، بنابراین چارچوب الگوی حوانش mRNA در یک یا چند موضع جابجا می‌شود. چارچوب خوانش هر mRNA توسط کدون آغاز تعیین می شود و باید بتواند به وسیله‌ی کدون‌های سه حرفی، رمز آغاز را به پایان وصل کند. چارچوب ترجمه با کدون آغاز شروع، با کدون‌های سه حرفی پیش می‌رود و به کدون پایان خاتمه می‌یابد. چارچوب خوانش برای ترجمه توسط ریبوزوم و tRNAها، از نوکلئوتیدها سه تا سه خوانده می‌شوند تا کدون پایان (UGA) در جایگاه A ریبوزوم قرار گیرد و خواندن پایان پذیرد. همانطور که در شکل ۴ دیده می‌شود بعد از ایجاد جهش حذفی در توالی نوکلئوتیدی، توالی اسید آمینه‌ای و چارچوب خوانش تغییر کرده و به کدون خاتمه دهنده میرسد.

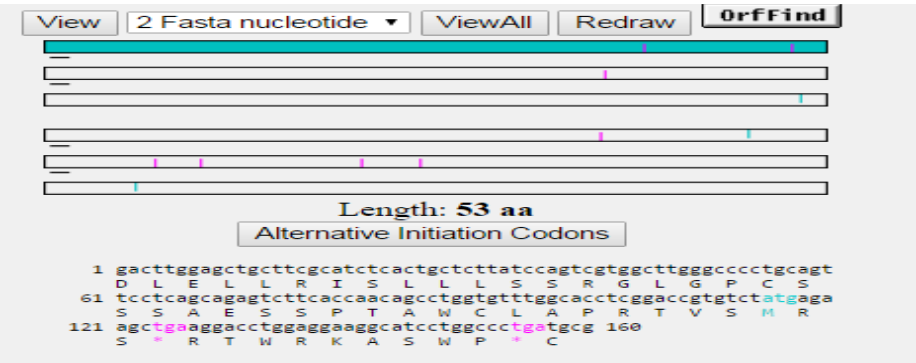
با توجه به اینکه جهش حذفی در هر دو الگوهای اول و دوم اتفاق افتاده است، بنابراین پروتئین تولید شده در هر دو

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-11-10]

[DOR: 20.1001.1.22518622.1402.14.40.10.3]

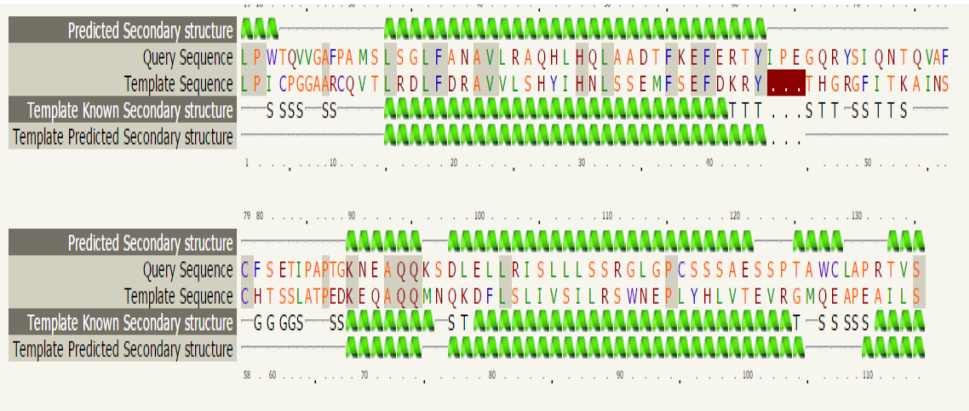
[DOI: 10.61186/rap.14.40.94]

الگو مشابه است و بصورت غیر طبیعی کوتاه بوده و فاقد عملکرد است. لذا ساختار دوم و سوم الگوی یک و دو بخاطر وجود جهش حذفی مشابه بود.



شکل ۴- نمایش ساختار پروتئین پیش‌بینی شده با وجود جهش‌های الگوی یک و دو از یک قطعه 214 جفت بازی از ژن GH
Figure 4. Representation of the structure of the predicted protein with the presence of mutation in pattern 1 and 2 of a fragment with 214bp of GH gene

در رابطه با ساختار سوم برای پروتئین جهش یافته برای هر دو الگو همانطور که مورد انتظار بود نتایج نشان داد که پروتئین تولید شده در مقایسه با پروتئین اصلی فاقد جهش فقط حاوی دو زنجیره است، و لذا می‌تواند فاقد عملکرد باشد. ساختار دوم با وجود جهش‌ها و همردیفی با پروتئین‌های مشابه:



شکل ۵- ساختار دوم پروتئین پیش بینی شده با وجود جهش‌ها و همردیفی با پروتئین‌های مرجع
Figure 5. The second structure of predicted protein with the presence of mutations and alignment with reference

تأثیر عوامل ثابت بر صفات مورد بررسی

تأثیر برخی از عوامل ثابت و شناخته شده مؤثر وزن کشتار، وزن لاشه گرم، ضخامت چربی، بازده لاشه، ضخامت چربی پشت و پارامترهای خونی در جمعیت مورد مطالعه در جداول ۳ ارائه شده است.

جدول ۳- مقایسه میانگین حداقل مربعات (±S.E) اثر سن و جنس بر صفات لاشه در گوسفند نژاد زل
Table 3. Comparison of the mean of least squares (S.E ±) of the effect of age and sex on carcass traits in Zel breed sheep

صفت اثر Adjective (effect	وزن کشتار (کیلوگرم) Slaughter (weight (kg)	وزن لاشه گرم (کیلوگرم) Carcass weight (in grams (kg)	ضخامت چربی پشت (میلی‌متر) Back fat thickness ((mm)	تری‌گلیسرید (میلی‌گرم در دسی‌لیتر) Triglyceride ((mg/dL)	کلسترول (میلی گرم در دسی لیتر) Cholesterol (mg/dL)	بازده لاشه (Carcass yield)
سن(Age)						
≤۱	۱۹/۱±۹۶/۰۳^{a}	۸/۰±۶۳/۵۰^{a}	۲/۰±۳۷/۲۳^{a}	۱۴/۰±۸۹/۹۳^{a}	۷۲/۲±۷۴/۰۴^{a}	۴۳/۰±۳۵/۵۱^{a}
۲	۲۲/۲±۸۳/۵۴^{ab}	۱۰/۱±۲۴/۲۴^{ab}	۳/۰±۷۹/۵۸^{bc}	۲۳/۲±۹۲/۳۰^{bcd}	۷۹/۵±۳۶/۰۲^{a}	۴۵/۱±۰۰/۲۶^{a}
۳	۲۶/۱±۹۵/۹۹^{b}	۱۲/۰±۳۰/۹۷^{b}	۴/۰±۷۲/۴۵^{cd}	۲۰/۱±۹۴/۸۰^{c}	۹۵/۳±۶۶/۹۳^{b}	۴۵/۰±۶۴/۹۹^{ab}
≥۴	۳۳/۱±۱۴/۴۸^{c}	۱۵/۰±۹۶/۷۲^{c}	۵/۰±۴۳/۳۴^{d}	۲۸/۱±۸۳/۳۴^{d}	۱۰۵/۲±۰۵/۹۲^{c}	۴۸/۰±۲۶/۷۲^{b}
جنس(sex)						
نر(male)	۲۵/۱±۶۶/۰۲	۱۱/۰±۵۰/۵۰	۴/۰±۵۳/۲۳	۲۱/۰±۸۵/۹۳	۸۶/۲±۷۶/۰۲	۴۴/۰±۶۷/۵۱
ماده(female)	۲۵/۱±۷۷/۵۰	۱۱/۰±۰۷/۷۳	۳/۰±۶۳/۳۴	۲۲/۱±۴۴/۳۶	۸۹/۲±۶۵/۹۷	۴۶/۰±۴۵/۷۵

* حروف لاتین غیر مشابه بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد.
*Non-identical latin letters indicate a significant difference at the five percent probability level.

همانطور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود مقایسه میانگین حداقل مربعات (±S.E) اثر سن بر صفات لاشه در گوسفندان زل بین میانگین‌های هر صفت در هر گروه سنی، تفاوت معنی‌داری مشاهده شد و تمام صفات مورد بررسی با افزایش سن، روند صعودی نشان دادند. سن اثر معنی‌داری بر مقدار تری گلیسرید و کلسترول خون داشت بطوریکه که با بالاتر

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1402.14.40.10.3]
[DOI: 10.61186/rap.14.40.94]

رفتن سن مقدار آن‌ها افزایش پیدا کرد. با افزایش سن توده چربی بدن افزایش می‌یابد، در این حالت اثر منفی هورمون رشد از کلسترول برداشته می‌شود و سبب افزایش کلسترول سرم
می‌گردد (۹). هورمون رشد نقش کاهنده‌ای روی میزان کلسترول سرم دارد. با افزایش سن میزان هورمون رشد کاهش می‌یابد، در نتیجه کلسترل سرم افزایش می‌یابد (۹).

جنس گوسفندان نیز بر روی همه صفات مورد بررسی اثر معنی‌داری داشت. میزان کلسترول و تری‌گلیسرید در گوسفندان ماده بیشتر از گوسفندان نر بود. به‌دلیل فعالیت کم لیپوپروتئین لیپاز کبدی در جنس ماده نسبت به جنس نر، میزان کلسترول در جنس ماده بیشتر از جنس نر است (۹،۱۵). با توجه به نقش کلسترول در تولید هورمون استروژن و وجود ترشحات استروژنیک در جنس ماده، میزان کلسترل در جنس ماده بیشتر است (۱۵). بازده لاشه گرم برای گوسفندان نر کمتر از گوسفندان ماده بود. اثر جنس بر صفت ضخامت چربی پشت در بره‌ها کاملاً معنی‌دار بود و بره‌های نر نسبت به بره‌های ماده ضخامت چربی بیشتری داشتند. در رابطه با اثر جنس بر عمق ضخامت چربی پشت نتایج متفاوتی گزارش شده است. محققین بین بره‌های نر و ماده لری بختیاری برای ضخامت چربی پشت اندازه‌گیری شده بوسیله اولتراسوند و سر سوزن و ضخامت چربی پشت حقیقی تفاوت معنی‌داری مشاهده نکردند، علی‌رغم اینکه بره‌های نر عمق بافت نرم بیشتری نسبت به بره‌های ماده داشتند (۱۶). نتایج نشان می‌دهد که اثرات ثابت که شامل اثرات غیر ژنتیکی و محیطی می‌باشند روی ضخامت چربی پشت در حیوان زنده و لاشه که به‌عنوان معیاری از ترکیب لاشه است، مؤثر می‌باشند و تصحیح صفات برای این عوامل ضروری به نظر می‌رسد.

بررسی ارتباط بین ژنوتیپ‌های ژن GH با صفات مورد بررسی در جمعیت مورد مطالعه

نتایج آنالیز واریانس تأثیر چند شکلی ژن GH بر وزن و بازده لاشه، عمق بافت چربی پشت، مقدار تری گلیسرید و کلسترول خون در جدول ۴ نشان داده شده است.

جدول ۴- میانگین حداقل مربعات (±SE) اثر ژنوتیپ‌های مختلف ژن GH بر صفات لاشه در گوسفند نژاد زل
Table 4. Least square mean (± SE) effect of different genotypes of GH gene on carcass traits in Zel breed sheep

ژنوتیپ (Genotype)	۱	۲
وزن کشتار (کیلوگرم) (Slaughter weight (kg))	۲۵/۱±۲۶/۲۱	۲۶/۱±۱۸/۱۴
وزن لاشه گرم (کیلوگرم) (Carcass weight in grams (kg))	۱۱/۰±۵۷/۵۹	۱۲/۰±۰۰/۵۵
ضخامت چربی پشت (میلی‌متر) Back fat thickness (mm))	۴/۰±۰۶/۲۷	۴/۰±۱۰/۲۶
تری‌گلیسرید (میلی‌گرم در دسی‌لیتر) (Triglyceride (mg/dL))	۲۱/۱±۳۹/۰۹	۲۲/۱±۹۱/۰۴
کلسترول (میلی گرم در دسی لیتر) Cholesterol (mg/dL))	۸۶/۲±۹۸/۳۹	۸۹/۲±۴۳/۲۶
بازده لاشه (Carcass yield)	۴۵/۰±۴۸/۶۰	۴۵/۰±۶۵/۵۷

نتایج آنالیز واریانس تأثیر چند شکلی ژن GH بر وزن، بازده لاشه، عمق بافت چربی، مقدار تری گلیسرید و کلسترول خون در جدول ۴ نشان می‌دهد که اثرات ژنوتیپ‌های ژن GH بر صفات مورد بررسی معنی‌دار نبودند. اگر چه به لحاظ آماری ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های ژن GH با صفات مورد بررسی وجود نداشت ولی حیوانات دارای ژنوتیپ ۲ نسبت به ژنوتیپ ۱ مقادیر بیشتری از وزن کشتار، وزن لاشه، بازده لاشه، ضخامت چربی پشت، تری‌گلیسرید و کلسترول را داشتند. بنابراین به نظر می‌رسد بر اساس نتایج این مطالعه ژنوتیپ ۲ جایگاه ژن GH، ژنوتیپ مطلوبی برای صفات مورد بررسی در جمعیت گوسفندان بومی ایران باشد بطوریکه در انتخاب ژنومیک برای صفات رشد می‌توان این ژنوتیپ را به ژنوتیپ ۱ ترجیح داد.

محققین در بررسی چندریختی اگزون ۱۰ ژن مربوط به گیرنده هورمون رشد گوسفندان نژاد کرمانی گزارش کردند که ارتباط الگوهای متفاوت ژنتیکی با صفات رشد (وزن تولد، وزن سه ماهگی، وزن شش ماهگی، وزن نه ماهگی و وزن ۱۲ ماهگی) معنی‌دار نیست (۲۱). محققین در پژوهشی بر روی ژن GH گوسفندان نژاد زل به روشPCR-SSCP، ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های شناسایی شده با وزن از شیرگیری مشاهده نکردند (۲۶). در پژوهشی بر روی اگزون ۴ ژن GH (قسمتی از اینترون ۳، اگزون ۴ و قسمتی از اینترون ۴) گوسفندان نژاد ماکویی گزارش شد که ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های مشاهده شده با وزن شش ماهگی وجود داشت (۲۰). محققین در بررسی ارتباط ژن GH (اگزون ۴) و ارتباط آن با صفات بیومتریک در گوسفندان ماکویی، ۵ الگوی باندی مشاهده و ارتباط معنی‌داری بین محیط قفسه سینه و بیضه و صفات مرتبط با پشم گزارش کردند (۱۴). محققین به وسیله تکنیک RFLP، پلی مورفیسم ژن GH را تعیین کردند که نتیجه آن شامل دو آلل برای جایگاه ژن GH در گوسفند و بز بود (۲۵). محققین در پژوهشی با استفاده از روش PCR-SSCP ارتباط جهش‌های موجود در اگزون ۱۰ ژن GHR گوسفندان بلوچی با صفات رشد (نظیر وزن تولد، افزایش وزن روزانه از تولد تا وزن از شیرگیری و وزن شش ماهگی) مطالعه شد. همبستگی صفت افزایش وزن روزانه از تولد تا شیرگیری با ژنوتیپ GHR معنی دار بود .در مطالعه موردنظر، افزایش وزن روزانه افراد دارای ژنوتیپ GG نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها بیشتر بود (۲۴). محققین در پژوهشی پنج اگزون از ژن هورمون رشد گوسفندی را بوسیله PCR-SSCP در ۲۰۰ میش نژاد بومی پرتقالی (Serra da Estrela) آنالیز کردند و نشان دادند که همه اگزون‌ها به جز اگزون ۱ چندریختی دارند و افزایش در تولید شیر با چندریختی در اگزون ۴ ارتباط دارد (۱۷).

طبق مطالعات فنوتیپی انجام شده در گله‌های نژاد زل و مقایسه این نژاد با گوسفندان سنگین وزن ایرانی و خارجی، نرخ رشد این نژاد نسبت به نژادهای سنگین وزن پایین است که احتمالاً به‌دلیل شرایط نامساعد محیطی و منطقه مورد پرورش این نژاد می‌باشد. الگوهای ژنوتیپی با هیچ یک از

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1402.14.40.10.3]
[DOI: 10.61186/rap.14.40.94]

صفات مورد مطالعه اثر معنی‌داری نشان ندادند. از آنجایی که ژن هورمون رشد نقش کلیدی در محور سوماتوتروپیک دارد، همچنین به‌عنوان یک نشانگر مولکولی مهم در بررسی صفات لاشه در دام‌های اهلی می‌توان استفاده کرد و با توجه به اینکه داده‌های این پژوهش کشتاری است، بهتر است که برای صفات مربوط به کمیت و کیفیت لاشه داه‌های لازم را از دام‌های شجره‌دار جمع آوری و ثبت نمود و با کمک آنها پیوستگی آلل‌های مربوط را با خصوصیات لاشه مورد تحقیق قرار داد تا اثرات این ژن کاملا شناخته شود.

منابع

1. Agellon, E., J.A. Sise, J.M. Penty and G.W. Montgomery. 1993. The duplicated gene copy of ovine growth hormone gene contains a Pvull polymorphism in the second intron. Animal genetics, 24:319-321.
2. Ahani Azari, M., S. Yousefi and E. Dehnavi. 2011. Evaluation of κ-casein and growth hormone genes polymorphism in native Dalagh sheep. Slovak Journal of Animal Science, 44: 129-133.
3. Ayuk, J. and M.C. Sheppard. 2006. Growth hormone and its disorders. Postgraduate Medical Journal, 82: 24-30.
4. Baldi, A. 1999. Manipulation of milk production and quality by use of somatotropin in dairy ruminants other than cow. Dom. Animal Endocrinol, 17: 131-137.
5. Bassam, B.J., G.C. Anolles and P.M. Gresshoff. 1991. Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. Analytical Biochemistry, 196: 80-83.
6. Bastos, E., A. Cravador, J. Azevedo and H. Guedes-Pinto. 2001. Single strand conformation polymorphism (SSCP) detection in six genes in portuguese indigenous sheep breed “Churra da Terra Quente”. Biotechnology, 5: 7-15.
7. Boyd, R.D. and D.E. Bauman. 1989. Mechanisms of action for somatotropin in growth. In: Campion DR, Hausman GJ, Martin RJ (eds.) Animal Growth Regulation. Plenum Publishing Corporation, New York, NY, USA, 257-293
8. Breier, B.H. 1999. Regulation of protein and energy metabolism by the somatotropic axis. Dom. Animal Endocrinol, 17: 209-218.
9. Burtis, C.A. and E.R. Ashwood. 1994. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 2nd ed. W.B. Saunders Co. Philadelphia. U.S.A. PP: 1002-1093.
10. Burton, J.L., B.W. McBride, E. Block, D.R. Glimm and J.J. Kenelly. 1994. A review of bovine growth hormone. Can. Journal of Animal Science, 74: 167-201.
11. Eisemann, J.H., H.F. Tyrrell, A.C. Hammond, P.J. Reynolds, D.E. Bauman, G.L. Haaland, J.P. McMurtry. and G.A. Varga. 1986. Effect of Bovine growth hormone administration on metabolism of growing Hereford heifers: dietary digestibility, energy and nitrogen balance. The Journal of Nutrition, 116: 157-163.
12. Etherton, T. 2004. Somatotropic function: the somatomedin hypothesis revisited. Animal Science, 82: E239-E244.
13. Gootwine, E., J.A. Sise, J.M. Penty, G.W. Montgomery. 1993. The duplicated gene copy of the ovine growth hormone gene contains a PvuII polymorphism in the second intron. Animal Genetics, 24: 319–321.
14. Hajihosseinlo, A., A. Semsarnejad, E. Abollow, F. Hashrafi and M. Negahdary. 2013. Effect of GH Gene Polymorphismson biometric traits in MakooeiSheep. Annals of Biological Research, 4 :351-355.
15. Kaneko, j.j. 1989. Clinical Biochemistry of Domestic Animals. 4th ed. Academic press. PP: 106-135.
16. Kianzad, M.R. 1998. Study of application method ultrasonic and body sizes for estimation carcass compositions Iranian sheep in breeding flock. final report of research project, institute researches of animal science of Iran, (pp-122) (In Persian).
17. Marques, M.R., I.C. Santos, C.C. Belo and A. Cravador. 2001. Associations between SSCPs in the GH gene and milk traits in “Serra da Estrela” ewes. In: Proceedings of the IV International Conference on Farm Animal Endocrinology, BASE, Vol. 5. Gembloux, Belgium, 57 pp. (Special Issue).
18. Miller, S.A., D.D. Dykes and H.F. Polesky. 1988. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Oxford Journals. Life Sciences. Nucleic Acids Research, 16: 1215.
19. Moody, D., D. Pomp, W. Barendse and J. Womack. 1995. Assignment of the growth hormone receptor gene to bovine chromosome 20 using linkage analysis and somatic cell mapping. Animal Genetics. 26: 341-343.
20. Moradian, C., N. Mohamadi, S.A.R. Sheshdeh, A. Hajihosseinlo and F. Ashrafi. 2013. Effects of genetic polymorphismat the growth hormone gene on growth traits in Makooei sheep. European Journal of Experimental Biology, 3: 101-105.
21. Moradi Shahrbabak, H., A. Asadi, P. Azizi and S. Elahian. 2012. Polymorphism of exon 10 of GHR gene by PCR- SSCP method and its association with growth traits in Kermani sheep breed. Journal of animals productions, 14: 43-50 (In Persian).
22. Scaramuzzi, R. J., J.F. Murray, J.A. Downing and B.K. Campbell. 1999. The effects of exogenous growth hormone on follicular steroid secretion and ovulation rate in sheep. Dom. Animal Endocrinol, 17: 269-277.
23. Shiri, S.A.K., D.A. Saghi, M.R. Nasiri, H. Emrani, F. Montazer Torbati and M. Mohammadzade. 2006. Survey of genetic diversity growth hormone and growth hormone receptor genes in Iranian indigenous sheep breed (kordian sheep) using a non-radioactive SSCP. 57th Annual Meeting of the European Association for Animal Production, Antalya, Turkey.
24. VafayeValeh, M., M. Tahmoorespour, M. Ansari, M.R. Nassiry, D. Karimi and A. Taheri. 2009. Association of growth traits with SSCP polymorphisms at the growth hormone receptor (GHR) and growth hormone releasing hormone receptor (GHRHR) genes in the Baluchi Sheep. Animal Veterinary Advances, 8: 1063-1069.
25. Valinsky, A., M. Shani and E. Gootwine. 1990. Restriction fragment length polymorphism in sheep at the growth hormone locus is the result of variation in gene number. Animal Biotechnology, 1:135-144.
26. Yousefi, S. and M. Ahani Azari. 2012. Genetic effect of growth hormone gene on yearling weight and wool traits in Zel sheep. Leibniz Institute for Farm Animal Biology, Dummerstorf, Germany, 55 (3) : 303-306
27. Parsons,Y.M., D.W. Cooper and L.R. Piper. 1996. Genetic variation in Australian Merino Sheep. Animal Genetics, 27:223- 228.

[Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-11-10]
[DOR: 20.1001.1.22518622.1402.14.40.10.3]
[DOI: 10.61186/rap.14.40.94]