دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشهای تولیدات دامی

# بررسی چندشکلی نواحی پروموتور و اگزون ژن *HSP70* و ارتباط آن با صفات تولیدمثلی بوقلمون‌های بومی ایران

**نیلوفر راستی دوست[۱]، سعید نیک بین[۲]، بهمن نوید شاد[۳] و قربان الیاسی[۴]**

۱ و ۳- دانشجوی کارشناسی ارشد و دانشیار، گروه علوم دامی، دانشگاه محقق اردبیلی
۲- استادیار گروه علوم دامی، دانشگاه محقق اردبیلی (نویسنده مسوول: snikbin@uma.ac.ir)
۴- مربی گروه علوم دامی، مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی، استان آذربایجان شرقی
تاریخ دریافت: ۹۶/۱۱/۷ تاریخ پذیرش: ۹۷/۶/۳۱

**چکیده**

**پروتئین‌های شوک حرارتی ۷۰ کیلودالتونی (HSP70) یک محافظ طبیعی سلول در زمان‌های تنش حرارتی هستند که باعث حفظ هموستازی سلول شده، مانع از تغییر ساختار پروتئین‌ها به‌خصوص در شرایط استرس می‌شوند و همچنین دارای عملکرد وسیع و مؤثر در رشد و تولیدمثل می‌باشند. هدف از این مطالعه شناسایی و بررسی جهش‌ها در نواحی پروموتور و بخشی از اگزون ۱ ژن *HSP70* و ارتباط آن‌ها با صفات تولیدمثلی در بوقلمون‌های بومی شمال غرب ایران بود. برای انجام این پژوهش از ۱۹۳ قطعه بوقلمون که قبلا برای صفات تولیدمثلی رکوردگیری شده بودند، خون‌گیری شده و پس از استخراج DNA، بخشی از پروموتور و اگزون ۱ تکثیر گردید. هاپلوتایپ‌های مختلف از محصولات تکثیر شده با روش SSCP مشخص گردید و ارتباط آن‌ها با صفات موردنظر در بوقلمون‌های بومی شمال غرب ایران مورد بررسی و تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نتایج این مطالعه ۳ الگوی متفاوت را در ناحیه مورد بررسی ژن *HSP70* مشخص ساخت. توالی‌یابی الگوهای مختلف یک SNP در نوکلئوتید ۲۱۱ نشان داد. بررسی اثر ژنوتیپ‌های مشخص شده بر صفات تولیدمثلی نشان داد که این ژنوتیپ GG ژن *HSP70* ارتباط معنی‌داری با افزایش صفات تعداد تخم و وزن توده تخم در بوقلمون دارد. با توجه به تاثیر ژن *HSP70* روی صفات تولیدمثلی بوقلمون‌های بومی، این ژن می‌تواند در برنامه‌های اصلاحی برای بهبود صفات تولیدمثلی مورد استفاده قرار گیرد.**

**واژه‌های کلیدی: ژن کاندیدا، چندشکلی ژنی، پروتئین شوک حرارتی، تولید تخم، تفاوت‌های تک نوکلئوتیدی**

## مقدمه

پروتئین شوک حرارتی فراوان‌ترین مولکول‌های داخل سلولی هستند که اولین بار در سال ۱۹۶۲ توسط ریتوزا و همکاران معرفی شد. آن‌ها نشان دادند که در اثر حرارت، پروتئین‌هایی سبب ایجاد بازآرایی در کرماتین مگس میوه درزوفیلا بوسچی می‌شود و نتیجه‌گیری کردند که ژن‌های سنتزکننده‌ی این ماده در اثر حرارت فعال می‌شود، از این جهت آن را پروتئین شوک حرارتی نامیدند (۲۹). این ژن حتی در شرایط غیر تنش مانند رشد طبیعی سلول، تاخوردگی پروتئین‌ها، جابه‌جایی و پروتئولیز هم بیان می‌شوند (۲۶). پروتئین‌های شوک حرارتی ۷۰ که توسط ژن *HSP70* کد می‌شود، از خانواده‌ی چاپرون‌ها است که اندازه‌ی بازشده‌ی آن بین ۷۳-۶۸ کیلو دالتون است و فقط توسط یک اگزون رمز می‌شود، تنها اگزون این ژن دارای ۱۹۲۶ جفت باز است که ۶۴۱ اسیدآمینه را کد می‌کند (۱۱). ازآنجایی که میزان بیان این ژن در شرایط استرس‌زا افزایش می‌یابد، می‌توان *HSP70* را به‌عنوان یک شناساگر مهم در پاسخ به شرایط استرس حرارتی نام برد. القای این پروتئین‌ها در دو مرحله نسخه‌برداری و ترجمه انجام می‌شود، به این ترتیب که عوامل استرس‌زا باعث القای فاکتورهای نسخه‌برداری شوک حرارتی می‌گردد. این فاکتورها به پروموتور ژن پروتئین شوک حرارتی متصل شده و موجب افزایش نسخه‌برداری و متعاقبا در سطح سیتوپلاسم به پروتئین ترجمه می‌شود (۲۱). در عین حال حضور *HSP7* در رشد و تکامل اولیه‌ی جنین نیز دخیل است، به‌طوری که مهار این پروتئین سبب توقف تکامل بلاستوسیت می‌گردد (۱۹). آسیب‌های سلولی ناشی از شوک حرارتی می‌تواند باعث آپپتوز یا مرگ سلولی شود. اسپیناسی و همکاران (۳۵) نیز گزارش کردند که آنتی‌بادی‌های ضد *HSP70* کنش اسپرم-زنوپلاسیدا در گاو و گراز را مهار می‌کنند. در تحقیقات دیگری به نقش *HSP70* در جلوگیری از سقط‌جنین (۱۳) و کاهش باروری و بارداری (۳۷) در انسان اشاره شده است. از سوی دیگر مطالعات متعدد پیشنهاد می‌کنند که *HSP70* از هسته و غشاهای سلولی در برابر استرس‌های اکسیداتیو محافظت نموده و مهارکننده‌ی آپپتوز می‌باشد (۶،۱۴) ریورا و همکاران (۳۰) نشان دادند که افزایش بیان ژن *HSP70* بعد از اعمال شوک حرارتی توانست تاثیر کمبود سلنیوم را در بوقلمون‌هایی که سلنیوم مصرف نکرده بودند خنثی کند. امروزه مطالعات بسیاری در زمینه ارتباط چندشکلی‌های ژنی با صفات اقتصادی صورت گرفته است. پژوهش‌ها نشان می‌دهد که تغییرات ساختاری و SNPها در DNA بر روی صفات تولیدی و تولیدمثلی حیوانات مزرعه مؤثر بوده است (۳۳،۲۷). از جمله دب و همکاران (۱۰) با بررسی پلی‌مورفیسم موجود در ناحیه‌ی پروموتور *HSP70* ارتباط معنی‌داری با افزایش تولید شیر و تحمل بهتر گرما در گاوهای فریزوال پیدا کردند. از طرفی باسیریکو و همکاران (۴) با بررسی همین ناحیه گزارش کردند که چندشکلی منطقه 5-UTR با پاسخ محیطی سلول‌های سفید تک‌هسته‌ای خون در گاوهای شیرده به شوک‌های حرارتی ارتباط معنی‌داری دارد و می‌تواند به‌عنوان یک مارکر اصلاح نژاد مورد استفاده قرار گیرد. در بحث صفات تولیدمثلی نیز ارتباط معنی‌داری بین چندشکلی‌های *HSP70* با صفات کیفیت اسپرم در خوک (۳۵) و بز (۲۳) گزارش شده است. طبق بررسی‌های انجام

[ Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-01-07 ]
[ DOI: 10.29252/rap.9.21.113 ]

شده، علی‌رغم وجود مطالعاتی بر روی نواحی مختلف این ژن و صفات اقتصادی در دام‌های مزرعه، مطالعه‌ای برای بررسی جهش‌ها در منطقه پروموتور و اگزون ژن *HSP70* در بوقلمون گزارش نشده است. به همین دلیل و با توجه به اهمیت و تأثیر *HSP70* بر صفات اقتصادی و باروری، هدف تحقیق حاضر شناسایی چند شکلی‌های این ژن در نواحی پروموتور و اگزون۱ و بررسی ارتباط آن‌ها با صفات تولیدمثلی در بوقلمون انجام پذیرفت. نتایج این تحقیق می‌تواند در طرح‌های اصلاح‌نژادی بوقلمون بومی ایران مورد استفاده قرار گیرد.

## مواد و روش‌ها

در این تحقیق خون‌گیری از ۱۹۳ قطعه بوقلمون از جمعیت اصلاح نژادی ایستگاه تحقیقات بوقلمون آذربایجان شرقی که با توجه به شرایط استاندارد و نیازهای بین‌المللی پرورش یافته‌اند به عمل آمد. حیوانات مزبور برای صفات تولیدمثلی از جمله وزن و تعداد تخم، و طول دوره تخم‌گذاری در اولین دوره تخم‌گذاری خود رکوردگیری شدند. خون‌گیری در بوقلمون از ورید زیر بالی صورت گرفته، در لوله‌های حاوی EDTA ذخیره شده و روی یخ به آزمایشگاه منتقل و تا زمان استخراج DNA در دمای ۲۰- نگهداری شد. برای استخراج DNA از روش بیلز و همکاران (۱) با اعمال تغییراتی استفاده گردید.

با توجه به عدم در دسترس بودن ناحیه مورد نظر از ژن *HSP70* بوقلمون در بانک ژن، آغازگرهای اختصاصی بر اساس توالی ژن*HSP70* مرغ از بانک ژن NCBI (کد دسترسی: AY143692.1) و با استفاده از نرم‌افزار Primer3 version 0.4.0 (۳۱) طراحی و توسط شرکت تکاپوزیست سنتز گردید. توالی آغازگرها به ترتیب F:CGATCTGGCTGCAATCTAGC و R:GCCCTTTGCCAGACATGATG بود. برای بررسی پلی‌مورفیسم ژن *HSP70* در بوقلمون قطعه‌ای از پروموتور و اگزون این ژن به‌اندازه‌ی ۳۲۷ جفت باز با استفاده از پرایمر توصیف شده در بالا تکثیر گردید. مواد و برنامه دمایی PCR به‌ترتیب در جداول ۱ و ۲ ارئه شده است.

جدول ۱- مواد مورد استفاده برای PCR هر نمونه

Table 1. Used materials for PCR of each sample

| مواد | مقدار (µL) |
|---|---|
| آب دیونیزه | ۸/۱ |
| مسترمیکس (Super PCR MasterMix 2X YT1553) | ۱۲/ ۵ |
| DNA الگو | ۲ |
| پرایمرها | ۱/۲ |
| حجم نهایی | ۲۵ |

جدول ۲- برنامه دمایی PCR برای ژن HSP70

Table 2. PCR program for *HSP70* gene

| نام مرحله | دما (C°) | زمان |
|---|---|---|
| گرمای شروع | ۹۴ | ۵ دقیقه |
| واسرشت | ۹۴ | ۴۵ ثانیه |
| اتصال آغازگرها | ۵۲ | ۳۰ ثانیه |
| بسط | ۷۲ | ۶۰ثانیه |
| بسط نهایی | ۷۲ | ۱۰ دقیقه |

نمونه‌های تکثیر شده در واکنش زنجیره‌ی پلی‌مراز به همراه یک مارکر DNA استاندارد بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد بارگذاری و الکتروفورز شدند. برای شناسایی چندشکلی‌ها ابتدا از روش SSCP بر روی ژل پلی‌آکریل‌آمید ۱۰٪ استفاده گردید. برای تهیه‌ی ۴۵ میلی‌لیتر ژل آکریل‌آمید ۱۰؛ ۱۱.۲۵ میلی‌لیتر محلول پلی‌آکریل آمید که نسبت ۹.۵ آکریل آمید و ۰/۵ بیس آکریل آمید و ۱۰ میلی‌لیتر آب بود اضافه شد. با ۴/۵ میلی‌لیتر محلول TBE 10X و ۲۹.۲۵/ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر را با هم مخلوط کرده در نهایت با اضافه کردن ۴۵۰ میکرولیتر محلول آمونیوم پرسولفات (APS) ۱۰٪ و ۴۵ میکرولیتر محلول TEMED ژل پلیمریزه شد. سپس محصولات PCR با گرم کردن در دمای ۹۵ درجه و سرد کردن سریع برروی یخ تک‌رشته‌ای شد. به مقدار ۱۰ میکرولیتر محصول PCR مزبور همراه با ۸ میکرولیتر رنگ بارگذاری در داخل چاهک‌های ژل ریخت و برای مدت ۱۸ ساعت با ولتاژ ۲۸۰ ولت الکتروفورز گردید تفاوت‌های شناسایی شده در الگوهای باندی برای در چهار تکرار توالی‌یابی گردید. نتایج توالی‌های باندی برای یافتن تفاوت‌های نوکلئوتیدی در نرم‌افزار BioEdit هم‌ردیف شد. برای بررسی ارتباط بین چندشکلی‌ها و صفات موردنظر، ژنوتیپ یا ژنوتیپ‌های پیدا شده با رکوردهای تعداد تخم تولیدی، میانگین وزن تخم و همین‌طور وزن کل تخم‌ها، با استفاده از رویه GLM نرم‌افزار SAS 9.2 تجزیه و تحلیل گردید. مقایسه میانگین‌ها با روش توکی در سطح ۵ درصد انجام گرفت.

## نتایج و بحث

میانگین، اشتباه معیار کمینه و بیشینه صفات تخم‌گذاری در پرندگان مورد بررسی در جدول ۳ ارائه شده است. محصول PCR مربوط به هر نمونه از ژن HSP70 با طول ۳۲۷ bp، پس از تست کیفیت بر روی ژل آگارز با روش SSCP آزمایش شده و سه الگوی متفاوت مشاهده شد.

[ Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-01-07 ]

[ DOI: 10.29252/rap.9.21.113 ]

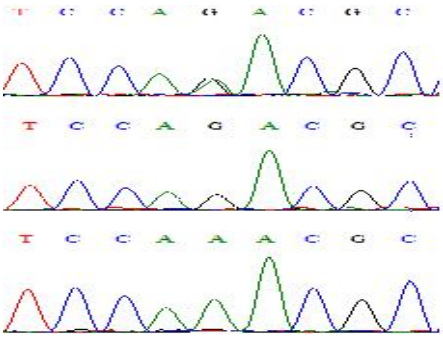
جدول ۳- آماره‌های توصیفی صفات تولید تخم

Table 3. Descriptive statistics of egg production treats

| | تعداد تخم | میانگین وزن تخم (گرم) | وزن اولین تخم (گرم) | وزن توده‌ی تخم (گرم) |
|---|---|---|---|---|
| میانگین | ۵۱/۲ | ۷۶/۷ | ۷۲/۹ | ۳۹۲۹/۸ |
| SE | ۱/۸ | ۰/۴ | ۰/۶ | ۱۴۱/۰ |
| کمینه | ۱۳ | ۶۶/۸ | ۶۷/۷ | ۱۰۰۰/۱ |
| بیشینه | ۹۷ | ۸۶/۵ | ۸۰/۵ | ۷۴۴۲/۷ |

نتایج توالی‌یابی و هم‌ردیف سازی توالی‌های سه الگوی متفاوت یک جایگاه SNP به‌صورت جایگزینی G به‌جای A در نوکلوتید ۲۱۱ (G211A) نشان داد (شکل ۱). SNP مشاهده شده در ناحیه پروموتور ژن HSP70 قرار داشت که با توجه به بررسی منابع انجام شده و این جایگاه در بوقلمون تا به حال در هیچ مطالعه‌ی دیگری گزارش نشده و برای اولین بار در این پژوهش گزارش گردیده است.

الف




ب

شکل ۱- الف: تصویر ژل اکریل آمید و الگوهای باندی مختلف ناحیه‌ی تکثیر شده‌ی ژن HSP70 ب: الکتروفوروگرام های سکوئنس برای یک جهش تک نوکلئوتیدی در موقعیت ۲۱۱ ژن HSP70 (G211A)

Figure 1. a: Polyacrylamide gel image and different band patterns of the amplified of *HSP70* region. b: Sequence electropherograms for one SNP at the amplified *HSP70* region, (G211A)

آلل A (فراوانی ۹۱/۴ ٪) نسبت به آلل G فراوانی بیشتری در جمعیت مورد مطالعه نشان داد. بیشترین فراوانی ژنوتیپی مربوط به ژنوتیپ AA (۸۷/۰ ٪) بود و ژنوتیپ GG (۴/۱ ٪) کمترین فراوانی را نشان داد (جدول ۴). تجزیه و تحلیل آماری اثر هاپلوتایپ‌های ژن HSP70 بر صفات تولید تخم بوقلمون نشان داد که ارتباط معنی‌داری بین این هاپلوتایپ ها و تعداد تخم تولیدی و وزن کل تخم وجود دارد ($p< ۰/۰۵$). بوقلمون‌های با ژنوتیپ GG به‌طور معنی‌داری در مقایسه با سایر بوقلمون‌ها تعداد تخم و وزن توده تخم بیشتری داشتند (جدول ۴). اگرچه ژنوتیپ‌های GG و AG تفاوت معنی‌داری در تاثیر بر صفات مزبور نداشتند. به‌علاوه ارتباط معنی‌داری بین HSP70 و صفت وزن اولین تخم و میانگین وزن تخم تولیدی در مطالعه حاضر مشاهده نشد ($p< ۰/۰۵$). به این ترتیب مشاهده شد که آلل G آلل مطلوب برای توسعه صفات وزن اولین تخم و میانگین وزن تخم در بوقلمون‌های بومی می‌باشد.

تحقیقات نشان می‌دهد جهش در عناصر تنظیم کننده منطقه پروموتوری یک ژن می‌تواند بیان آن ژن را تغییر دهد و منجر به تغییر فنوتیپ در حیوانات (۳،۳۸) یا انسان (۳۹) شود. بنا براین انتظار می‌رود که جهش گزارش شده در این مطالعه بر بیان HSP70 تاثیر گذاشته و متعاقبا صفات فنوتیپی مرتبط با آن را تغییر دهد. ریو و همکاران (۲۸) نشان دادند که میزان بیان ژن HSP70 در ناحیه اویداکت مرغ با قابلیت نگهداری اسپرم در لوله تناسلی حیوان ماده ارتباط معنی‌داری دارد.

[ Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-01-07 ]

[ DOI: 10.29252/rap.9.21.113 ]

جدول ۴- مقایسه میانگین حداقل مربعات (± اشتباه معیار) صفات تولیدمثلی برای ژنوتیپ‌های ژن HSP70

Table 4. Comparison of LS-Mean of (± se) reproductive Traits for HSP70 genotypes

| ژنوتایپ | فراوانی | صفات | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | تعداد تخم | میانگین وزن تخم (گرم) | وزن اولین تخم (گرم) | وزن توده‌ی تخم (گرم) |
| AA | ۱۶۸ | ۵۰/۱۱$^{b}$ (±۱/۳۸) | ۷۶/۷۴ (±۰/۲۹) | ۷۲/۸۹ (±۰/۴۳) | ۳۸۴۲/۷۱$^{b}$ (±۱۰۶/۷۵) |
| GG | ۸ | ۶۶/۰۰$^{a}$ (±۶/۲۰) | ۷۶/۲۱ (±۱/۳۴) | ۷۵/۳۳ (±۱/۹۷) | ۵۰۴۶/۲۶$^{a}$(±۴۸۰/۳۹) |
| AG | ۱۷ | ۵۵/۶۱$^{ab}$(±۴/۱۳) | ۷۶/۴۸ (±۰/۸۹) | ۷۲/۳۲ (±۱/۳۱) | ۴۲۶۴/۸۷$^{ab}$(±۳۲۰/۲۶) |
| P value | | ۰/۰۲۶ | ۰/۸۹۷ | ۰/۴۲۹ | ۰/۰۲۹ |

حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار است (p<۰/۰۵).

ماریانی و همکاران (۱۸) گزارش کردند که میزان بیان HSP70 در زمان فحلی در سلول‌های اپیتلیال لوله تناسلی موش صحرایی ماده در دوران آبستنی و سیکل فحلی تغییرات معنی‌داری را نشان می‌دهد. تحقیقات نشان می‌دهد که میزان بیان این ژن تحت استرس حرارتی در سلول‌های اووسیت خوک به‌طور قابل‌توجهی افزایش یافت، که در این حالت درصد باروری حیوان را بیشتر شد (۲۴). تاثیر HSP70 بر تکامل سیستم ادراری-تناسلی[1] جنین (۳۴) نیز می‌تواند اثر آن بر عملکرد گنادها و سیستم تولیدمثلی را توضیح دهد. بررسی اثر چندشکلی HSP70 به کیفیت مایع منی و صفات تولیدی در طول تنش گرمایی در جوجه‌ها نشان داد که ژنوتیپ CG در موقعیت ۲۷۶ بهترین مورفولوژی و غلظت اسپرم را داشتند. در دام‌های دیگر مانند گاو ارتباط معنی‌داری بین جهش‌های مشاهده شده در ناحیه پروموتوری این ژن با باروری و نرخ آبستنی وجود دارد (۳۳). همچنین به نظر می‌رسد که HSP70 در سطح اسپرم عمل شناسایی سولفوگلیکولیپیدی را در اتصال با سلول اووسیت میانجیگری می‌کند (۱۹). به این ترتیب به مشخص گردیده است که HSP70 می‌تواند نقش مهمی را در میانکنش گامتی ایفا کند (۳۵). ثابت شده است که تغییرات در ناحیه‌ی پروموتور ژن HSP70 می‌تواند نقش مهمی در سیر تکاملی جنین داشته باشد (۷). ارتباط و اثر بیان پروتئین‌های شوک حرارتی بر هورمون رشد مخصوصا در دوران جنینی مؤثر بوده که این به‌طور غیرمستقیم در تخم‌گذاری دخالت نموده و موجب افزایش تخم‌گذاری می‌شود (۲۵). بررسی‌ها نشان داد پژوهش مشابهی بر روی بوقلمون تاکنون صورت نگرفته و به این ترتیب امکان مقایسه مستقیم این نتایج فراهم نگردید. اما تحقیقات بر روی چندشکلی‌های مشاهده شده در نواحی پروموتور HSP70 در سایر گونه‌ها تاثیر معنی‌دار این چندشکلی‌ها را بر صفات تولیدمثلی از قبیل وزن و سن بلوغ در مرغ (۱۹)، کیفیت اسپرم در بز (۲۳)، و نرخ آبستنی در گاو (۲) مشخص ساخت. در پژوهش غفاری و همکاران (۱۶) هاپلوتیپ‌های به دست آمده از بررسی ژن HSP70 در ناحیه‌ی پروموتور از چندشکلی بالایی برخوردار بود و با صفت نرخ باروری در گاوهای سرابی و هلشتاین ارتباط معنی‌داری داشت. همچنین هواهنگ و همکاران (۱۵) گزارش کردند که چندشکلی ناحیه‌ی 5-UTR ژن HSP70 با درصد آبستنی و کیفیت اسپرم در خوک ارتباط دارند. در یک مطالعه دیگر چندشکلی یافت شده در ناحیه‌ی پروموتور این ژن بر صفات باروری در گاو مؤثر گزارش شد (۳۲). ناسیمنتو و همکاران (۲۲) ارتباط بین یک جهش حذفی در ناحیه‌ی پروموتور ژن HSP70 با اسپرم و صفات مربوط به اسپرم در گاوهای نر را به دلیل تاثیر HSP70 در محافظت از پروتئین‌های مربوط به فعالیت تنفسی و سطح انرژی اسپرماتوزوئید دانستند. از جمله پژوهش‌هایی که بر روی بخش کد کننده ژن HSP70 در طیور انجام گرفته، بررسی پلی‌مورفیسم HSP70 در جوجه‌های گوشتی نژادهای مختلف است که نشان داد دو جهش مختلف، A258G و C276G، در منطقه‌ی کدکننده ژن HSP70 وجود دارد (۲۰) که ممکن است روی باند شدن پپتید سوبسترا با HSP70 یا فعال کردن آن تاثیر بگذارند (۱۲). ژانگ و همکاران (۴۰) نشان دادند بین بیان ژن HSP70 و سطح سرمی کورتیکوسترون در غازها ارتباط معنی‌داری وجود دارد. در یک مطالعه دیگر نیز مشخص شده که پایین بودن سطح کورتیکوسترون در خون احتمالا مانع بیان HSP70 شده است (۹). با توجه به اینکه سطح کورتیکوسترون با میزان استرس ارتباط مثبتی دارد این می‌تواند یکی از عواملی باشد که تغییر بیان و تاثیر HSP70 را در شرایط استرس توضیح دهد. در واقع در شرایط تخم‌گذاری، پرندگان به‌طور مداوم طیف وسیعی از وقایع استرس‌زا را با شدت و مدت زمان مختلف تجربه می‌کنند و البته این حوادث استرس‌زا احتمالا در گله‌های بزرگ و سیستم‌های متراکم افزایش نیز می‌یابد (۳۶،۵). تاثیر HSP70 در حفاظت از پروتئین‌ها به دلیل نقش چاپرونی آن‌ها در شرایط استرس تخم‌گذاری (۲۶) می‌تواند بر حمایت آن از فعالیت‌های آنزیمی و نیز حفظ پروتئین‌های ذخیره‌ای (آلبومین) تخم در خلال ساخت تخم‌مرغ می‌تواند توضیح دیگری برای تاثیر SNPهای این ژن بر تعداد و وزن توده تخم تولیدی باشد.

مطالعه حاضر منجر به شناخت ۳ سه ژنوتیپ ناشی از یک SNP در ناحیه پروموتور ژن HSP70 در بوقلمون‌های شمال غربی ایران شد. نتایج حاصل از این پژوهش ارتباط معنی‌داری بین هاپلوتایپ‌های این ژن و صفات تعداد و وزن کل تخم نشان داد که بوقلمون‌های با هاپلوتایپ B برای هر دو صفت مزبور به‌طور قابل‌توجهی بهتر از سایر بوقلمون‌ها بودند. نظربه ارتباط این ژن با صفت تعداد و وزن تخم و با توجه به تنوع ژنتیکی بالای مشاهده شده در جمعیت بوقلمون مورد بررسی، می‌توان از آن به‌عنوان یک ژن مؤثر بر صفات تولید تخم در برنامه‌های اصلاح نژادی بوقلمون‌های ایرانی بهره جست.

1- Urogenital system

[ Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-01-07 ]

[ DOI: 10.29252/rap.9.21.113 ]

## منابع


1. Bailes, S.M., J.J. Devers, J.D. Kirby and D.D. Rhoads. 2007. An inexpensive simple protocol for DNA isolation from blood for high-throughput genotyping by polymerase chain reaction or restriction endonuclease digestion. Poultry Science, 86(1): 102-106.
2. Banks, A., M.L. Looper, S. Reiter and C.F. Rosenkrans. 2007. Identification of single nucleotide polymorphisms within the promoter region of the bovine heat shock protein 70 gene and associations with pregnancy. Journal of Animal Science, 85: 12-13.
3. Bai, Y.J.B., Y. Zhang, Y.L. Xue, G. Peng and M.Y. Chen. 2015. Differential expression of CYB5A in Chinese and European pig breeds due to genetic variations in the promoter region. Animal Genetic, 46(1): 16-22.
4. Basiricò, L., P. Morera, V. Primi, N. Lacetera, A. Nardone and U. Bernabucci. 2011. Cellular thermotolerance is associated with heat shock protein 70.1 genetic polymorphisms in Holstein lactating cows Cell Stress and Chaperones, 16(4): 441-448.
5. Blokhuis, H.J., T. Fiks-Van Niekerk, W. Bessei, A. Elson, D. Guemene, J.B. Kjaer, G.A. Levrino, C.J. Nicol, R. Tauson, C.A. Weeks and H.A. Van De Weerd. 2007. The LayWel project: welfare implications of changes in production systems for laying hens. World's Poultry Science Journal, 63: 101-114.
6. Burkat, V., H. Liu, K. Bellmann, D. Wissing, M. Jäättela and M.G. Cavallo. 2000. Natural resistance of human beta cells toward nitric oxide is mediated by heat shock protein 70. Journal of Biological Chemistry, 275(26): 19521-19528.
7. Chen, B., T. Jia, R. Ma and B. Zhang. 2011. Evolution of hsp70 gene expression: a role 10.for changes in AT-richness within promoters. Public Library of Science, 6: e20308.
8. Dang, X.Y., W.W. Chu, H.C. Shi, S.G. Yu, H.Y. Han and S.H. Gu. 2015. Genetic variants in ABCA1 promoter affect transcription activity and plasma HDL level in pigs. Gene, 555(2):414-420.
9. Davis, K.A., J.B. Schmidt, R.M. Doescher and D.G. Satterlee. 2008. Fear responses of offspring from divergent quail stress response line hens treated with corticosterone during egg formation. Poultry Science, 87: 1303-1313.
10. Deb, R., B.U. Sajjanar, S. Mesh-Singh, R. Singh and G. Sengar. 2013. Promoter variants at AP2 box region of Hsp70.1 affect thermal stress response and milk production traits in Frieswal cross bred cattle. GENE, 532(2): 230-235.
11. Gade, N., P.K. Mahapatra, A. Sonawane, V.K .Singh, R. Doreswamy and M. Saini. 2010. Molecular characterization of heat shock protein 70-1 geneof goat (Capra hircus). Journal of Molecular Biology, 108429, 7 pp.
12. Gan, J.K., L.Y. Jiang, L.N. Kong, X.Q. Zhang and Q.B. Luo. 2015. Analysis of genetic diversity of the heat shock protein 70 gene on the basis of abundant sequence polymorphisms in chicken breeds. Genetics and Molecular Research, 14(1): 1538-1545.
13. Güvenc, M., H. Güven, F. Karate, D.A. Aygun and S. Bekta. 2002. Low levels of selenium in miscarriage. Journal of Trace Elements in Experimental Medicine, 15: 97-101.
14. Hooper, P.L. and J.J. Hooper. 2005. Loss of defense against stress: Diabetes and heat shock proteins. Diabetes Technology and Therapeutic, 7: 204-208.
15. Huang, S.Y., M.Y. Chen, E.C. Lin, H.L. Tsou, Y.H. Kuo, C.C. Ju and W.C. Lee. 2002. Effects of single nucleotide polymorphisms in the 5-flanking region of heat shock protein 70.2 gene on semen quality in boars. Animal Reproduction Science, 70: 99-109.
16. Ghaffari, M., M. Sadeghi, A. Nejati-Javaremi, M. Moradi-Shahrebabak and R. Faraji. 2012. Study of polymorphism in the bovine HSP70 gene promote and its association with conception rate in Holstein and Sarabi breeds. Journal of Agricultural Biotechnology, 5(4): 83-95 (In Persian).
17. Liang, H.M., D.Y. Lin, Y.D. Hsuuw, T. Huang, H.L. Chang, C.Y. Lin, H.H. Wu and K.H. Hung. 2016. Association of heat shock protein 70 gene polymorphisms with acute thermal tolerance, growth, and egg production traits of native chickens in Taiwan. Archives Animal Breeding, 59(2): 173-181.
18. Mariani, M.L., M. Souto, M.A. Fanelli and D.R. Ciocca. 2000. Constitutive expression of heat shock proteins hsp25 and hsp70 in the rat oviduct during neonatal development, the oestrous cycle and early pregnancy. Journal of Reproduction and Fertility, 120: 217-223.
19. Matwee, C., M. Kamaruddin, D.H. Betts, P.K. Basrur and W.A. King. 2001. The effects of antibodies to heat shock protein 70 in fertilization and embryo development. Molecular Human Reproduction, 7: 829-37.
20. Mazzi, C., O. Aparecido, J. Ferro, F. Tiraboschi, M. Ferro, V. Savino, A. Coelho and M. Macari. 2003. Polymorphism analysis of the hsp70 stress gene in Broiler chickens (Gallus gallus) of different breeds. Genetics and Molecular Biology, 26(3): 275-281.
21. Morimoto, R., I. Kline, M.P. Bimston and D.N. Cotto. 1997. The heat-shock response regulation and function of heat-shock proteins and molecular chaperones. Essays in biochemistry, 32: 17-29.
22. Nascimento, J.M., L.Z. Shi, J. Tam, C. Chandsawangbhuwana, B. Durrant, E.L. Botvinick and M.W. Berns. 2008. Comparison of glycolysis and oxidative phosphorylation as energy sources for mammalian sperm motility, using the combination of fluorescence imaging, laser tweezers and real-time automated tracking and trapping. Journal of Cellular Physiology, 217: 745-751.
23. Nikbin, S., J.M. Panandam, H. Yaakub, M. Murugaiyah and A.Q. Sazili. 2014. Novel SNPs in heat shock protein 70 gene and their association with sperm quality traits of Boer goats and Boer crosses. Animal Reproduction Science, 146(3-4): 176-181.


[ Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-01-07 ]

[ DOI: 10.29252/rap.9.21.113 ]

24. Pennarossa, G., S. Maffei, M.M. Rahman, G. Berruti, T.A. Brevini and F. Gandolfi. 2012. Characterization of the constitutive pig ovary heat shock chaperone machinery and its response to acute thermal stress or to seasonal variations. Biology of Reproduction, 16, 87(5):1-19.
25. Pitts, G.R., O. Youngren, M. Phillips and R.E. El Halawani. 1996. Photoperiod mediates the ability of serotonin to release prolactin in the turkey. General and comparative endocrinology, 104(3): 265-272.
26. Radons J. 2016. The human HSP70 family of chaperones: where do we stand? Cell Stress and Chaperones, 21: 379-404.
27. Raufian, P., J. Shodja Ghyas, R. Jafari, G. Moghaddam and A. Javanmard. 2018. Identification of Genetic Variation in two Candidate Genes of TLR2 and TNFα and its Association with Mastitis in Holstain Cattle. rap Journal of Research on Animal Production, 8(18):147-154.
28. Riou, C., M. Saint-Dizier and N. Gerard. 2015. 146 Sperm Storage: Expression OF Progesterone Receptor, Structural Protein, AND Heat Shock Protein In the avian oviduct. Reproduction Fertility and Development, 28(2): 203-230.
29. Ritossa, F.A. 1962. New puffing pattern induced by temperature shock and DNP in drosophila. Cellular and Molecular Life Sciences, 18(12): 571-573.
30. Rivera, R.E., V.L. Christensen, F.W. Edens and M.J. Wineland. 2005. Influence of selenium on heat shock protein 70 expression in heat stressed turkey embryos (Meleagrisgallopavo). Comparative biochemistry and physiology Part A, Molecular and integrative physiology, 142(4): 427-432.
31. Rozen, S. and H.J. Skaletsky. 2000. Krawetz S, Misener S (eds) Bioinformatics Methods and Protocols: Methods in Molecular Biology. Humana Press, Totowa, NJ, pp: 365-386.
32. Rosenkrans, C.H., J.R.A. Banks, S. Reiter and M. Looper. 2010. Calving traits of crossbred Brahman cows are associated with Heat Shock Protein 70 genetic polymorphisms. Animal Reproduction Science, 119: 178-182.
33. Sadeghi, M., M. Moradi Shahr Babak, G. Rahimi Mianji and A. Nejati Javaremi. 2010. Effect of STAT5A Gene Polymorphism on Milk Production Traits in Iranian Holstein Bulls Journal of Research on Animal Production, 1(2): 37-44.
34. Shi, W., G. Xu, C. Wang, S.M. Sperber, Y. Chen, Q. Zhou, Y. Deng and H. Zhao. 2015. Heat Shock 70-kDa Protein 5 (Hspa5) Is Essential for Pronephros Formation by Mediating Retinoic Acid Signaling. Journal of Biological Chemistry, 290: 577-589.
35. Spinaci, M., S. Volpe, C. Bernardini, M. De. Ambrogi, C. Tamanini and E. Seren. 2005. Immunolocalization of heat shock protein 70 (Hsp70) in boar spermatozoa and its role during fertilization. Molecular Reproduction and Development, 72: 534-41.
36. Solomon, S.E. 2002. The oviduct in chaos World's Poultry Science Journal, 58: 41-48.
37. Tan, H., Y. Xu, J. Xu, F. Wang, S. Nie, M. Yang, J. Yuan, R.M. Tanguay and T. Wu. 2007. Association of increased heat shock protein 70 levels in the lymphocyte with high risk of adverse pregnancy outcomes in early pregnancy: a nested case-control study. Cell Stress Chaperones, 12: 230-236.
38. Yu, S., J. Liao, M. Tang, Y. Wang, X. Wei, L. Mao and C. Zeng. 2017. A functional single nucleotide polymorphism in the tyrosinase gene promoter affects skin color and transcription activity in the black-boned chicken. Poultry Science Journal, 96(11): 4061-4067.
39. Yin, J., J. Xie, S. Liu, H. Zhang, L. Han, W. Lu, Q. Shen, G. Xu, H. Dong, J. Shen, J. Zhang, J. Han, L. Wang, Y. Liu, F. Wang, J. Zhao, Q. Zhang, W. Ni, H. Wang and G. Cao. 2011. Association between the various mutations in viral core promoter region to different stages of hepatitis B, ranging of asymptomatic carrier state to hepatocellular carcinoma. The American journal of gastroenterology, 106(1): 81-92.
40. Zhang, W., X. Xiao, J.K. Gan, X.Q. Zhang, L.N. Kong and Q.B. Luo. 2015. Characterization of HSP70 and its expression in tissue: correlation with physiological and immune indices in goose (Anser cygnoides) serum Genetics and Molecular Research, 14(4): 12288-12298.

[ Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-01-07 ]

[ DOI: 10.29252/rap.9.21.113 ]

# Investigation of Polymorphisms in Promoter and Exon Regions of *HSP70* Gene and Their Associations with Reproduction Traits of Indigenous Turkeys of Iran

**Niloofar Rastidoust[1], Saeid Nikbin[2], Bahman Navidshad[3] and Ghorban Elyasi[4]**

1 and 3- M.Sc. Student and Associate Professor, Department of Animal Science, University of Mohaghegh Ardabili
2- Assistant Professor, Department of Animal Science, Mohaghegh Ardabili University
(Corresponding author: snikbin@uma.ac.ir)
4- Trainer of Animal Science Department Agricultural Jahad Research Center, East Azarbaijan
Received: January 27, 2018 Accepted: September 22, 2018

## Abstract

Heat shock proteins of 70 kDa (HSP70) are a natural protector of the cell during heat stress through maintaining cell homeostasis and preventing proteins from denaturation, especially in stressed conditions. In addition, HSP70 widely influence growth and reproduction traits. The present study objected to identify polymorphisms in regions of promoter and part of exon 1 of *HSP70* gene and their association with reproductive traits in indigenous turkeys of north-western Iran. The blood samples of 193 turkeys recorded for reproduction traits, were taken and after DNA extraction, promoter and exon 1 regions were amplified. Various haplotypes were identified by SSCP method and their association with the traits in the turkeys analyzed. The results of this study identified 3 different pattern in the investigated regions of the *HSP70* gene. Sequencing the different haplotype pattern revealed a single nucleotide polymorphism (SNP) in 211bp. The Statistical analysis of the effect of the genotypes of *HSP70* on the reproduction traits showed that the GG genotype of this gene had a significant association with higher egg number and total egg mass of turkeys. Regarding the effect of the *HSP70* gene as an effective gene on the reproductive traits of the indigenous turkeys, it can be used in breeding programs to improve reproductive traits and egg production in the indigenous turkey population.

**Keywords**: Candidate gene, Polymorphism, Heat shock proteins, Egg production, Single nucleotide polymor

[ Downloaded from rap.sanru.ac.ir on 2026-01-07 ]

[ DOI: 10.29252/rap.9.21.113 ]