



ارتباط چندشکلی ژن *STAT5A* با تولید شیر در گاو شیری هلشتاین اصفهان

فرزاد عطریان افیانی^{۱*}، سعید انصاری مهیاری^۲، سعید خلج زاده^۱

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ساوه، گروه علوم دامی، ساوه، ایران

۲- دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

farzad.atrian@yahoo.com

چکیده

ژن کاندید *STAT5A* یک واسطه گر کلیدی درون سلولی می باشد که عمل رونویسی از پروتئین های شیر را در پاسخ به پرولاکتین فعال می کند. در این تحقیق ارتباط چندشکلی ژن *STAT5A* با صفت تولید شیر مورد بررسی قرار گرفت. تعداد ۳۵۵ حیوان از پنج گله مختلف در سطح استان اصفهان که دارای اطلاعات مورد نظر بطور بودند بطور تصادفی انتخاب و پس از خونگیری *DNA* ژنومیکی به روش نمکی میلر استخراج شد. برای جایگاه ژنی مورد مطالعه سه ژنوتیپ شامل *TT*، *TC* و *CC* با فراوانی های ۰/۲۳، ۰/۴۸ و ۰/۲۹ مشاهده شد. تجزیه آماری اطلاعات نشان داد ژنوتیپ روی تولید شیر اثر معنی داری داشته است ($P < 0.05$). مقایسه میانگین ژنوتیپ ها نشان داد ژنوتیپ *TT* بیشترین مقدار تولید شیر و برابر ۹۹۹۹/۸۶۴ کیلوگرم و در مقابل حیوانات دارای ژنوتیپ *TC* و *CC* دارای میانگین ۹۳۱۱/۹۵ و ۹۲۶۰/۷۱۱ کیلوگرم بودند این تفاوت از نظر آماری قابل توجه و معنی داری در سطح ($P < 0.05$) بدست آمد. بطور کلی نتایج این آزمایش مؤید ارتباط خوب این جایگاه با صفت تولید شیر بوده و امکان استفاده از این جایگاه ژنی در بهبود صفات اقتصادی در گاو شیری هلشتاین موثر می باشد.

واژه های کلیدی: *STAT5A*، شیر، تولید، چندشکلی

مقدمه

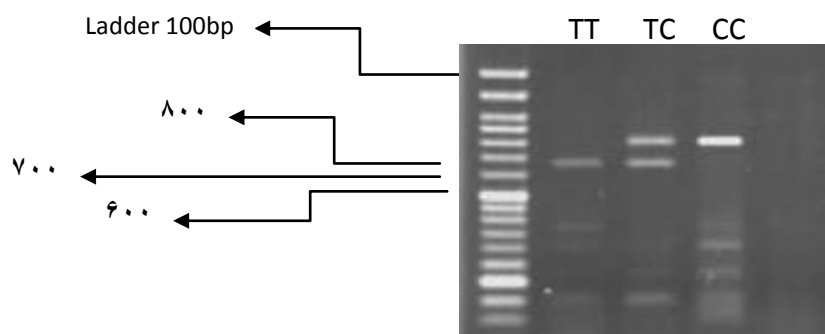
با افزایش روز افزون جمعیت و با توجه به کمبود جهانی غذا و نیاز به تولیدات دامی به خصوص در کشور ما سبب شده تا محققین این صنعت به دنبال راهکارهایی برای افزایش بازدهی این محصولات گردند. یکی از مهم ترین راهکارهایی که باعث افزایش بازدهی تولیدات دامی می شود استفاده از برنامه های اصلاح نژاد برای افزایش پتانسیل ژنتیکی می باشد. همچنین در دهه ی گذشته استفاده از اطلاعات ژنومیک به عنوان یک ابزار اضافه در برنامه های اصلاح نژاد استفاده شد (سونستگارد و همکاران، ۲۰۰۱؛ ویرکامپ و بیردا، ۲۰۰۷). یکی از راه کارهایی که برای افزایش پتانسیل ژنتیکی بکار گرفته می شود بررسی اثر چند شکلی ژن های کاندید و تعیین ژنوتیپ در جمعیت می باشد. چندشکلی یک ژن نشان دهنده آلل های مختلف بوده که هر یک عملکرد متفاوتی را به دنبال دارد. ژن های *STAT¹* یک خانواده دارای ۷ عضو شامل: *STAT1*، *STAT2*، *STAT3*، *STAT4*، *STAT5A*، *STAT5B* و *STAT6* می باشند (دارنل، ۱۹۹۷). پروتئین *STAT5A* عمل پیام رسانی را در غده شیری انجام می دهد و واسطه ی اصلی فعالیت رشد بر روی ژن های هدف است (آرتجسینگر و کارتر، ۱۹۹۶؛ دارنل و همکاران، ۱۹۹۴). چندشکلی ژن *STAT5A* با صفات تولیدی گاو در ارتباط هستند به ویژه SNP12195 در آگزون ۸ که بر میزان تولید و ترکیبات شیر تاثیر گذار است (خطیب و همکاران، ۲۰۰۸). بر این اساس این آزمایش با هدف ارتباط جایگاه مذکور بر صفات کمی شیر به اجرا درآمد.

تعداد ۳۵۵ راس گاو نژاد هلستاین در گاوداری های صنعتی استان اصفهان به طور تصادفی انتخاب و خونگیری از سیاهرگ دمی انجام گرفت. جهت استخراج DNA مقدار ۵ تا ۱۰ میلی لیتر خون جمع آوری و برای جلوگیری از انعقاد خون از محلول EDTA به نسبت ۱۰٪ استفاده شد. نمونه ها بلافاصله با حفظ شرایط زنجیره ی سرد به آزمایشگاه منتقل و تا زمان استخراج DNA در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری گردید. جهت استخراج DNA از پروتکل استخراج DNA به روش نمکی میلر استفاده شد و سپس برای تعیین کیفیت، نمونه ها بر روی ژل آگارز ۰/۷٪ و با رنگ آمیزی اتیدیوم بروماید عکس برداری شد. جهت تکثیر قطعه ی ۸۲۰ جفت بازی ژن STAT5A از آغازگرهای طراحی شده ی رفت و برگشت توسط خطیب و همکاران استفاده گردید که به صورت زیر بوده اند (۵).

5'-GAGA پریمرفت: 3'-GAGATTATC

5'-CC پریمر برگشت: 3'-CATCACCTG

به منظور انجام واکنش PCR دو میکرولیتر از نمونه DNA ژنومیک با کیفیت مناسب به عنوان الگو در ۲۰ میکرولیتر از محلول R ش ۱ میکرولیتر از هر آغازگر، ۰/۴ میکرولیتر آنزیم تک پلیمرز، ۰/۷ میکرولیتر $MgCl_2$ ، ۰/۵ میکرولیتر dNTPs، ۲ میکرولیتر بافر PCR و تا حجم ۲۰ میکرولیتر آب استریل اضافه شد. برای تعیین چندشکلی ژن های مورد نظر در این آزمایش از روش PCR-RFLP و برای جداسازی آل های مختلف ژن، از آنزیم BstEII استفاده شد. این آنزیم در آل وحشی دارای جایگاه برش نمی باشد ولی در آل جهش یافته قادر به شناسایی و برش می باشد که در صورت برش در یک جایگاه ژنوتیپ TT و برش در هر دو جایگاه ژنوتیپ TC شناسایی می شود. آل C و G به ترتیب با قطعات ۸۲۰ و ۶۷۶ جفت بازی قابل شناسایی می باشند (شکل ۱). اثر ژنوتیپ هادر ارتباط با تولید شیر با استفاده از نرم افزار SAS, V 9.1 مورد تجزیه آماری قرار گرفت.



شکل ۱: هضم آنزیمی محصولات

نتایج و بحث

نتایج حاصل از هضم محصولات PCR سه ژنوتیپ TT، TC و CC را در جمعیت مورد مطالعه نشان داد. فراوانی ژنوتیپی CC، TC و TT به ترتیب ۰/۲۳، ۰/۴۸ و ۰/۲۹ برآورد گردید. میزان کای اسکور محاسبه شده نشان دهنده وجود تعادل در مجموع گله ها می باشد. تجزیه آماری داده ها نشان داد ژنوتیپ، روزهای باز و اثر ترکیبی سال فصل و گله اثر معنی داری بر روی صفت تولید شیر تصحیح شده در سطح ($P < 0/05$) نشان داد.



مقایسه میانگین ژنوتیپ‌ها نشان دهنده بیشترین میزان تولید شیر در ژنوتیپ TT میباشد به طوری که ژنوتیپ TT تفاوت معنی داری را در سطح ($P < 0.05$) در مقایسه با ژنوتیپ CC و TC نشان داد (جدول ۱ و ۲).

جدول ۲: تجزیه واریانس صفت تولید شیر			جدول ۱: مقایسه میانگین صفت تولید شیر	
منبع تغییرات		تولید شیر (کیلوگرم)	ژنوتیپ	
درجه	میانگین مربعات		تولید شیر (کیلوگرم)	
ژنوتیپ	۲	۱۳۴۷۷۰۸۸/۳*	CC	$^{b}9260/711 \pm 174/139$
اثر ترکیبی گله، سال و فصل	۳۲	۴۸۲۹۴۵۸/۲*	TC	$^{b}9311/9568 \pm 132/109$
زایش			TT	$^{a}9999/863 \pm 164/052$
روزهای باز	۱	۶۵۵۹۹۲۸/۱*		
تولید شیر تصحیح شده	-	-		
خطا	۲۷۷	۱۴۴۹۲۱۱/۷		

در سال ۲۰۱۱ ایکونومو و همکاران در بررسی مشابه نشان دادند که جایگزینی آلل G به C در جایگاه SNP12195 باعث افزایش تولید شیر خواهد شد. بررسی اثر این جایگاه در جمعیت مورد مطالعه نشان داد که ژنوتیپ TT (GG) اثر معنی داری بر روی صفت تولید شیر دارد. خطیب و همکاران طی گزارشی بیان کردند که وجود آلل G در SNP12195 در ارتباط است با کاهش میزان چربی و پروتئین شیر و افزایش میزان تولید شیر، همچنین آنها نشان دادند که آلل G باعث کاهش میزان بقاء جنین می شود. نتایج بدست آمده در این تحقیق مشابه نتایج ایکونومو و خطیب و همکاران میباشد (خطیب و همکاران، ۲۰۰۸؛ اویکونومر و همکاران، ۲۰۰۸). بر این اساس استفاده از جایگاه‌های مختلف ژن STAT5A به خصوص جایگاه SNP12195 به منظورافزایش صفت تولید شیر در پیشرفت برنامه‌های اصلاح نژادی پیشنهاد می‌گردد.



- Argetsinger, L.S., Carter-Su, C., 1996. Growth hormone signalling mechanisms: involvement of the tyrosine kinase JAK2. *Hormone Research* 45, 22–24.
- Darnell, J.E., Kerr, I.M., Stark, G.R., 1994. JAK-STAT pathways and transcriptional activation in response to *IFNs* and other extracellular signaling proteins. *Science* 264, 1415–1421.
- Darnell, J. E. 1997. *STATs* and gene regulation. *Science* 277:1630–1635.
- Khatib, H., Monson, R.L., Schutzkus, V., Kohl, D.M., Rosa, G.J., Rutledge, J.J., 2008. Mutations in the *STAT5A* gene are associated with embryonic survival and milk composition in cattle. *Journal of Dairy Science* 91, 784–793.
- Oikonomou, G., Michailidis, G., Kougioumtzis, A., Avdi, M., Banos, G., 2011. Effect of polymorphisms at the *STAT5A* and *FGF2* gene loci on reproduction, milk yield and lameness of Holstein cows. *Research in Veterinary Science*. 91 (2): 235-239.
- Sonstegard, T.S., Tassell, C.P., Ashwell, M.S., 2001. Dairy cattle genomics: tools to accelerate genetic improvement? *Journal Animal Science* 79, 307–315.
- Veerkamp, R.F., Beerda, B., 2007. Genetics and genomics to improve fertility in high producing dairy cows. *Theriogenology* 68, 266–273.