شناسایی چندشکلی ژن PPP2CA مرتبط با ذخیره چربی در گوسفندان نژاد رومانوف , قزل و ماکویی

دانیال نیکزاد*[۱]، هادی علیپور [۲]، حمیدرضا خلیل‌محبوب[۳]

۱- دانشجوی دکتری ژنتیک و اصلاح‌نژاد دام دانشگاه بوعلی‌سینا همدان danielnikzad8@gmail.com

۲- کارشناسی ارشد ژنتیک و اصلاح‌نژاد دام دانشگاه ارومیه hadialipurfard@gmal.com

۳- دانشجوی دکتری ژنتیک و اصلاح‌نژاد دام دانشگاه زنجان edmahboob@gmail.com

خلاصه

در مطالعه حاضر که برای شناسایی چندشکلی در نواحی اگزون ۱ ژن PPP2CA در جمعیت گوسفندان نژاد ماکویی، قزل و رومانوف انجام گرفت از تعداد ۵۰ رأس گوسفندنژاد ماکویی، ۵۰ رأس گوسفندان نژاد قزل و ۵۰ رأس گوسفندان نژاد رومانوف خونگیری از ورید وداجی انجام شد. استخراج DNA به روش بهینه یافته نمکی صورت گرفته و کیفیت آن برروی ژل آگارز یک درصد و کمیّت آن توسط دستگاه نانودرآپ مورد ارزیابی قرار گرفت. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز برای تکثیر قطعه ۲۴۳جفت بازی ژن PP2CA انجام گرفت. و کیفیّت و درستی تکثیر ناحیه مورد نظر برروی ژل آگارز یک و نیم درصد به همراه نشانگرمولکولی (لدر) مشاهده شد. سپس جهت شناسایی پلی‌مورفیسم (چندشکلی) در نمونه‌ها روش SSCP (تفاوت در فرم فضایی رشته های منفرد) به کار گرفته شد. الکتروفورز عمودی نمونه‌ها بر روی ژل آکریل آمید ۱۲ درصد به مدّت ۸ ساعت با ولتاژ ۳۰۰ ولت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت. جهت رنگ آمیزی ژل آکریل آمید از نیترات نقره استفاده شد. بررسی الگوهای ژنی مشاهده شده بر روی آکریل آمید نشان داد که الگوهای ایجاد شده برای هر سه نژاد ماکویی ، قزل و رومانوف تک شکل بوده و چندشکلی را نشان نداد. عدم مشاهده چند شکلی را می‌توان به نامناسب بودن ژن یا جایگاه تکثیر شده برای مطالعه پلی مورفیسم ارتباط داد.

کلمات کلیدی: پلی مورفیسم، ژن PPP2CA ، PCR-SSCP ، چربی دنبه ، رومانوف، قزل، ماکویی

Identification of PPP2CA gene polymorphism associated with fat storage in Romanov, Qezel and Makoi sheep breeds

Daniyal nikzad[1,*] , Hadi alipur fard[2] , Hamidreza Khalilmahboub[3]

1 . Phd studend in genetics and animal breeding, Bu-Ali sina university
Danielnikzad8@gmail.com
2 . Msc of genetics and animal breeding, Urmia university
3 . Phd student in genetics and animal breeding, Zanjan university

Abstract

In the present study, which was conducted to identify polymorphisms in the exon 1 regions of the PPP2CA gene in the population of Makoi, Qezel and Romanov sheep, 50 Makoi sheep, 50 Qezel sheep and 50 Romanov sheep were sampled from the Vedaji vein. DNA extraction was done using the optimized salt method and its quality was evaluated on 1% agarose gel and its quantity was evaluated by Nanodrop device. Polymerase chain reaction was performed to amplify the 243 bp fragment of the gene. And the quality and correctness of the reproduction of the desired area was observed on the one and a half percent agarose gel along with the molecular marker (ladder). Then, to identify polymorphism (polymorphism) in the samples, the SSCP method (difference in the spatial form of single strands) was used. Vertical electrophoresis of the samples was performed on a 12% acrylamide gel for 8 hours with a voltage of 300 V at a temperature of 4 degrees Celsius. Silver nitrate was used to color the acrylamide gel. Examining the gene patterns observed on acrylamide showed that the patterns created for all three breeds of Makoi, Qezel and Romanov were monomorphic and did not show polymorphism.

Keywords: Polymorphism,PPP2CA gene, PCR-SSCP, tail fat, Romanov, Qezel, Makoi

۱. مقدمه

بررسی ابعاد مختلف صفت چربی دنبه در گوسفند یکی از چالش برانگیزترین زمینه‌های تحقیقاتی در اکثر کشورهایی است که با نژادهای دنبه دار مواجه هستند. همبستگی وزن دنبه با وزن زنده دام و خرید براساس وزن زنده دام و همچنین شرایط اقلیمی و محیطی در سال‌های متمادی دامداران را به تولید چربی بیشتر با دنبه بزرگ‌تر سوق داده بود، اما امروزه تولید گوشت بیشتر به جای دنبه و همچنین تغییر ذائقه مصرف کنندگان از دغدغه های تولید کنندگان گوشت به شمار می رود. از سوی دیگر در سال‌های اخیر به دلیل افزایش خشکسالی و به دنبال آن کاهش کیفیت مراتع نیاز به پرورش گوسفند به صورت بسته در آغل کاملاً حس می‌شود و از آن‌جایی که اکثر نژادهای بومی کشور ما نیز دارای دنبه بزرگ و متوسط هستند و دنبه نیز محل ذخیره چربی است، لذا باتوجه به اینکه ضریب تبدیل خوراک به چربی تقریباً دو برابر بیشتر از گوشت است، اصلاح این دام‌ها برای کاهش تولید چربی و افزایش تولید گوشت در کنار حفظ ذخایر ژنتیکی این نژادها یکی از ضروریات به شمار می رود . توجه به نیازهای متغیر و همچنین تغییر شرایط ، داشتن شناخت کافی از اطلاعات ژنتیکی جهت اصلاح دام ، امری ضروری می باشد . شناسایی نواحی ژنومی و ویژگیهای آنها که هدف انتخاب صفات فنوتیپی بوده اند، یکی از مهمترین حوزه های تحقیق در ژنتیک جانوری است و از آنجایی که حفظ تنوع و ذخایر ژنتیکی به عنوان ذخایر استراتژیک هر کشور از اهداف اصلاح نژاد دام‌ها محسوب می‌شود از اهمیت ویژه ای برخوردار است. بهبود ژنتیکی صفات کمی با انتخاب مستقیم سخت و زمان‌بر است، در حالی که گاهی اوقات می‌توان از طریق تلاقی با استفاده از ژرم پلاسم محلی یا خارجی یا استفاده از درون‌رفتگی ژنومی ژن‌ها با اثرات عمده، به دستاوردهای ژنتیکی قابل توجهی دست یافت[۶]. از عوامل موثر بر صفات کمی صفت رشد و درصد چربی دنبه میتوان به دو عامل مهم محیط و ژنتیک اشاره کرد که ژنها بطور مستقیم و غیرمستقیم با اندازه تاثیر کم و زیاد بر روی این صفت اثر گذار میباشند که از جلمه این ژن‌ها (PPP2CA، SP3، HOXA11، SP9، BMP2) و ... را می‌توان نام برد. درک نحوه تأثیرگذاری ژن‌ها به‌صورت وحشی و جهش یافته با تأثیرات عمده یا جزئی بر روی صفات لاشه، اطلاعات مفیدی را برای برنامه‌های پرورش گوسفند، به ویژه تشکیل یک روند اصلاحی مدرن به کمک نشانگرهای مولکولی و فناوری های ویرایش ژنوم را فراهم می‌کند[۱۰]. آن‌ها همچنین می‌توانند بینش های جدید قابل توجهی را در مورد ژنتیک، تنظیم بیان ژن و زیست شناسی پیشنهاد کنند شناسایی مناطق ژنومی مرتبط با چربی دنبه و بررسی ویژگی‌های آن‌ها در گوسفند، اطلاعات مفید بسیار زیادی به پژوهشگران برای اصلاح نژاد بر پایه اطلاعات ژنومی می دهد[۱۱].

۲. مواد و روش‌ها

۲.۱ خونگیری

در این مطالعه، از ۱۵۰ رأس گوسفندان نژاد قزل، رومانوف و ماکویی نمونه گیری انجام شد. به عبارتی ۵۰ رأس قزل، ۵۰ رأس رومانوف و ۵۰ رأس ماکویی بودند. با استفاده از لوله‌های ونوجکت حاوی EDTA[1] که از شرکت پیشگام تهیه شده بود

[1] Ethylenediaminetetraacetic acid

میزان خون استحصالی از هر گوسفند در ونوجکت ۴ میلی‌لیتر قرارگرفت. نمونه‌های خون در محیط سرد بلافاصله پس از استحصال به آزمایشگاه دانشگاه ارومیه منتقل و در فریزر(۲۰-) درجه سانتیگراد تا زمان استخراج DNA نگهداری گردید.

۲.۲ استخراج DNA

جهت استخراج DNA از بافرشماره یک، بافر شماره دو، SDS [1]، پروتئیناز K، نمک اشباع شده، الکل خالص سرد شده و الکل ۷۰ درصد (شرکت DNA Biotech) استفاده شد. استخراج DNA کل ژنوم با روش بهینه یافته نمکی انجام‌گرفت. برای بررسی چندشکلی ژن PPP2CA [2] قطعه ۲۴۳ جفت بازی اگزون ۱ تکثیر گردید[۱]. این توالی‌ها با استفاده از نرم افزار primer3 طراحی شده و توسط شرکت پیشگام سنتز گردیدند. توالی این آغازگرها در جدول شماره (۱) نشان داده شده است.

جدول شماره ۱- توالی پرایمرهای به کار برده شده جهت تکثیر قطعه ۲۴۳ جفت بازی اگزون ۱ ژن PPP2CA

پرایمر رفت	CTGCCGGAATACCTGGACTA
پرایمر برگشت	TCCAGTCCTTGGTGATGGTT

۲.۳ انجام واکنش زنجیره‌ایی پلیمراز (PCR)

PCR [3] یک تکنیک متداول و اغلب ضروری در آزمایشگاه‌های بالینی و آزمایشگاه‌های پژوهشی است و در موارد گوناگونی کاربرد دارد. این کاربردها شامل: کلون کردن DNA برای توالی یابی، فیلوژنی بر پایهDNA ، تحلیل کارکرد ژن‌ها، تشخیص بیماری‌های ارثی، شناسایی اثر انگشت ژنتیکی (مورد استفاده در علم پزشکی قانونی) و تشخیص عوامل بیماری‌زا در آزمایش‌های نوکلئیک اسید برای تشخیص بیماری‌های عفونی است. در سال ۱۹۹۳ مولیس همراه با مایکل اسمیت جایزه نوبل شیمی را برای کار روی PCR دریافت کردند. اساس فن PCR (واکنش زنجیره‌ایی پلیمراز) چرخه‌های حرارتی است. این چرخه‌ها شامل چرخه‌های گرمایی و سرمایی تکراری، ذوب DNA و تکثیر آنزیمی DNA است. پرایمرها (قطعات کوتاه DNA) که دارای توالی مکمل ناحیه هدف‌اند به همراه یک DNA پلیمراز، اجزای اصلی واکنش PCR برای انتخاب و تکثیر قطعه مورد نظر را تشکیل می‌دهند. در فرایند PCR الگوی DNA به صورت لگاریتمی تکثیر می‌شود و DNA تکثیرشده خود به‌عنوان الگویی برای همانندسازی استفاده می‌شود . PCR می‌تواند به شکل گسترده‌ای برای انجام مراحل مختلف در دستکاری‌های ژنتیکی استفاده شود. با استفاده از این روش DNA کافی برای آنالیز جزئیات یا دستکاری ژن تکثیر شده به‌دست می‌آید[۱۲]. PCR (واکنش زنجیره ایی پلیمراز) یک ناحیه خاص از رشته DNA هدف را تکثیر می‌کند. به‌طور معمول بیشتر روش‌های PCR این قابلیت را دارند تا قطعات DNA بین ۰/۱ و ۱۰ کیلوجفت باز (kbp) را تکثیر کنند. هرچند فنون دیگر می‌توانند قطعاتی با اندازه‌های بالاتر از ۴۰ کیلوجفت باز را نیز تکثیر کنند[۵]. این واکنش برای هر دو جایگاه در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتری با استفاده از مواد اشاره شده در جدول شماره (۲) انجام‌گرفت.

[1] Schwachman-Diamond syndrome
[2] protein phosphatase 2 catalytic subunit alpha
[3] Polymerase chain reaction

جدول شماره ۲- مواد استفاده شده در واکنش زنجیره‌ایی پلیمراز (PCR)

نام ماده	غلظت به کار برده شده	مقدار استفاده(میکرولیتر)
مستر میکس	-	**۱۲**
پرایمر رفت	**۱۰ پیکومول در میکرولیتر**	**۱**
پرایمر برگشت	**۱۰ پیکومول در میکرولیتر**	**۱**
نمونه DNA	**۱۰۰-۵۰ نانوگرم**	**۲**
آب مقطر	-	**۹**
جمع	-	**۲۵**

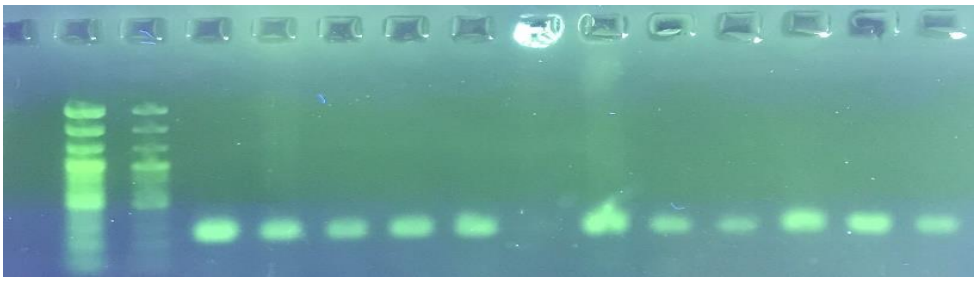
۲.۴ انجام روش چندشکلی فضایی رشته های منفرد (SSCP[1])

متد غربالگری پرکاربردی است که امکان شناسایی واریانت‌های ژنومی مختلف را در تعداد فراوانی از نمونه‌ها و انواع زیادی از ارگانیسم‌ها، میکروارگانیسم‌ها گرفته تا انسان‌ها، فراهم می‌کند، به طوریکه می‌تواند بیش از ۹۰ درصد تغییرات تک جفت بازی را تشخیص دهد. Orita و همکارانش در سال ۱۹۸۹ تکنیک SSCP را توسعه دادند[۹]. برای انجام روش SSCP روی جایگاه مورد مطالعه ۶ میکرولیتر از محصول PCR با ۱۴ میکرولیتر از Dy sscp (بافر بارگذاری) مخلوط شدند و به منظور تک رشته ای شدن به مدت ۱۰ دقیقه و در دمای ۹۶ درجه سانتیگراد در داخل دستگاه ترموسایکلر قرار گرفتند. به جهت جلوگیری از دو رشته ای شدن دوباره نمونه‌ها، پس از خروج از دستگاه ترموسایکلر خیلی سریع در داخل فریزر گذاشته شدند تا از اتصال دوباره ان ها جلوگیری شود. پس از ده دقیقه از فریزر خارج شده و با استفاده از دستگاه الکتروفورز عمودی و ژل آکریل آمید ۱۲ درصد در دمای ۴ درجه الکتروفورز شدند. رنگ آمیزی ژل آکریل آمید با استفاده از نیترات نقره انجام گرفت.

۳. نتیجه‌گیری و بحث

DNA ژنومی حاصل از استخراج دارای کیفیت خوبی بود. الکتروفورز محصولات (PCR) برروی ژل آگارز، صحت قطعه ۲۴۳ جفت بازی تکثیر شده از ژن PPP2CA در گوسفندان رومانوف، قزل و ماکویی را توسط نشانگرمولکولی ۱۰۰ جفت بازی (bp) مورد تایید قرار داد.

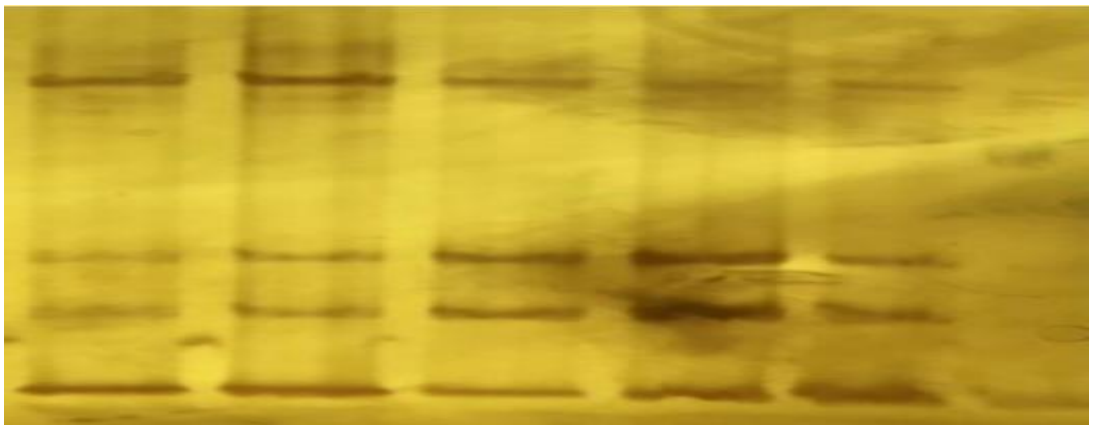
[1] Single strand conformation polymorphism



تصویر شماره ۱- کیفیت DNA استخراج شده

3.1 بررسی الگوهای ایجاد شده در ژل آکریل آمید

بررسی نتایج و آنالیز الگو های ایجاد شده مطابق تصویر (شماره۲) برای اگزون ۱ ژن PPP2CA مشخص شد که هیچ‌گونه چند شکلی در این ناحیه در تمامی دام های مورد بررسی(رومانوف ، قزل ، ماکویی) وجود نداشت.



تصویر شماره ۲- الگوهای مشاهده شده در سه نژاد قزل، ماکویی و رومانوف

نتایج حاصل از الکتروفورز محصولات (PCR) برروی ژل آکریل آمید مبتنی بر تک شکل بودن فرم فضایی رشته های منفرد (SSCP) برای گوسفندان رومانوف ، قزل و ماکویی بود. در این مطالعه و آزمایش بعد از انجام الکتروفورز تمامی محصولات PCR ژن PPP2CA گوسفندان رومانوف ، قزل و ماکویی به روش SSCP مشاهده گردید که ژن PPP2CA در تمامی گوسفندان بررسی شده مونومورفیک بوده و چند شکلی در این ژن در گوسفندان رومانوف ،قزل و ماکویی مشاهده نگردیده است. تاکنون پلی‌مورفیسم این ژن در نژادهای ایرانی، فقط در نژادهای لری‌بختیاری و زل توسط بزازپریخانی وهمکاران (۱۳۹۷) بررسی شده است که با نتایج به‌دست آمده ما در مورد نژاد های ماکویی ، قزل و رومانوف مطابقت نمی‌کند[۲]. نتایج به دست آمده از این آزمایش برای ژن PPP2CA در نژاد ماکویی با نتایج به دست آمده از مطالعات مسعود نگهداری و همکاران (۲۰۱۴) همخوانی دارد[۸]. ولی این نتایج در نژادهای رومانف و قزل نیز همانند نتایج مسعود نگهداری و همکاران است که برروی گوسفندان نژاد ماکویی انجام داده اند. نتایج حاصل از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز و بررسی باندهای ایجاد شده در ژل آکریل آمید نشان داد که جایگاه اگزون ۱ ژن PPP2CA در نژاد قزل ، رومانوف و ماکویی فقط یک نوع باند سه‌خطی را نشان می‌دهد، بنابراین در تفسیر نتایج مورد استفاده قرار نمی گیرد. هرچند که مرور منابع از وجود اثرات این ژن بر صفت چربی در گوسفند گزارش دارد[۷].

اولین بار زارع و همکاران به روش PCR-SSCP وجود پلی مورفیسم در ژن PPP2CA را برروی ۱۴۰ راس گوسفند زل لری بختیاری بررسی کردند[۳]. تکثیر قطعه ۲۴۳ جفت بازی از اگزون یک ژن PPP2CA در ناحیه ۵ کروموزوم گوسفند را بررسی کرده و نتایج SSCP آنها دو الگوی باندی متفاوت از هم را نشان داد که برای هردو نژاد گوسفند یکسان بود . توالی یابی آن‌ها نشان داد که توالی نوکلئوتیدی الگوها با یکدیگر متفاوت است و هر یک از الگوها بیانگر یک ژنوتیپ می باشد .از آنجایی که این ژن هنوز به صورت رسمی در گوسفند ثبت و گزارش نشده است لذا توالی های موردنظر با توالی موجود از ژنوم گاو در بانک اطلاعاتی NCBI توسط نرم افزار Vector NTI و BioEdit مورد مقایسه قرار گرفته و نتایج حاصل از همترازی آن با ژنوم گاو نشان دهنده یک جهش با تغییر T/C و یک جهش حذفی یک نوکلئوتیدی T در الگوی شماره (۲) بود. جهش شماره یک دربین نمونه های کسب شده از توالی گوسفند تفاوتی را نشان نداده است اما نشان داد که در مقایسه با توالی گاو در نوکلئوتید ۱۹۸ با شماره دسترسی (AC-000164.1) یک جهش با جایگزینی نوکلئوتید T در گاو با نوکلئوتید C گوسفند وجود دارد که این امر سبب تغییر در نوکلئوتید سوم کدون سرین از TCT به TCC (کدون ۲۴ از بانک اطلاعاتی NCBI-NP851374.1) می‌شود یا به عبارت ساده تر تغییر اسید آمینه ای در دوتا از توالی ها مشاهده نشد ودر هر دو اسیدامینه بطور یکسان سرین بودند. اما جهش حذفی رخ داده در نوکلئوتید ۲۱۰ بخاطر آنکه موجب تغییر چارچوبی شده است که با اولین کدون پایان مواجه می شود ، توالی را تغییر داده و پلی پپتید در حال تولید بطور غیر طبیعی کوتاه و یا بطور غیرطبیعی طولانی شده و احتمالا بدین دلیل نمی‌تواند عملکردی داشته باشد.از آنجایی‌که این جهش در اگزون یک ژن PPP2CA در گوسفند رخ داده که دارای ۳۴ کدون اسیدآمینه است که پروتئین تولید شده بطور غیرطبیعی کوتاه و احتمالا توان عملکردی ندارد. تاکنون هیچ جهشی از ژن PPP2CA در گوسفند ، گاو و حیوانات مزرعه ای گزارش نشده بود و این بررسی اولین مطالعه چندشکلی در این ژن بود . تجزیه تحلیل و بررسی اثر ژنوتیپ های جایگاه اگزون یک ژن PPP2CA برای صفات مختلف در نژاد زل کشتاری نشان داد که برای میزن چربی لاشه و درصد تری گلیسیرید خون بین ژنوتیپ ها تفاوت معنا داری وجود دارد به طوریکه ژنوتیپ T/T درصد چربی لاشه بیشتر و ژنوتیپ Del/Del درصد تری گلیسیرید خون بالاتری را نشان داد . همچنین نتایج ارتباط ژنوتیپ ها با صفت وزن دنبه در نژاد لری بختیاری اثر معنی داری را از جایگاه اگزون یک این ژن بر وزن دنبه نشان داد .به طوریکه ژنوتیپ Del/Del میزان وزن دنبه بیشتری در مقابل ژنوتیپ T/T داشت[۳]. زمانی افشار و همکاران (۱۳۹۷) با مطالعه برروی اگزون سوم و قسمتی از اینترون دوم ژن Wnt10a و اگزون سوم ژن Wnt10b، برروی ۹۶ رأس از گوسفندان نژاد آمیخته افشاری‌برولامرینو یک چندشکلی و سه تک شکلی در جایگاه ژن Wnt10a مشاهده کردند، امّا تفاوتی بین نمونه‌ها برای ژن Wnt10b مشاهده نکردند که نتیجه آن‌ها از مطالعه و آزمایش، تأثیرگذار بودن جایگاه مورد مطالعه در ژن Wnt10a برروی صفات مربوط به چربی لاشه در این نژاد بود[۴]. امّا در آزمایشات ما تنوعی برای نژاد های رومانوف ، قزل و ماکویی مشاهده نشد. با آمدن تکنیک های آنالیز (DNA) ژنومی،جهش های تأثیر گذار برروی بیان ژن را می‌توان علاوه بر نواحی کد کننده چربی و دنبه، در نواحی غیر کد کننده که در آن تنوع های فردی بصورت الکتروفورزی قابل شناسایی هستند را نیز مشخص نمود. این تکنیک ها شناسای افراد حامل آلل های مطلوب را آسان و سریع نموده و بهبود ژنتیکی گله های دامی را سرعت می بخشد[۱۳].

از دلایل عدم تطابق نتیجه مطالعه ما با برخی از آزمایشات که جایگاه این ژن را در بعضی از نژاد ها بخصوص در نژاد های لری بختیاری و زل پلی مورف گزارش کرده اند می‌توان به تفاوت در ناحیه ژنومی مورد مطالعه اشاره کرد. آزمایشاتی که توسط (بزاز پریخانی و همکاران) در گوسفندان نژاد لری بختیاری و زل صورت گرفت جایگاه مورد مطالعه اینترون شماره ۳ ژن PPP2CA بود و چند شکلی (پلی مورف) گزارش شد در صورتی که جایگاه مورد مطالعه و آزمایش ما اگزون شماره ۱ ژن PPP2CA بوده که نتیجه آن مشاهده تک شکلی (مونومورفیسم) بود[۲]. از دیگر دلایل تک شکل گزارش شدن مطالعه و آزمایش ما می‌توان خصوصاً در مورد نژاد ماکویی به این مهّم که این نژاد بدلیل بومی بودن معمولاً از منطقه زیستی خود

به مکان های دیگر برده نمی‌شود در نتیجه خلوص بالایی دارد و با توجه آن‌که در گله هایی که نمونه‌های خونی این نژاد جمع آوری شده از چندین قوچ استفاده نمی‌شود لذا استفاده مکرر از این قوچ باعث بروز همخونی شدید در گله و افزایش هموزیگوتی و کاهش هتروزیگوتی در بین نسل های متوالی گردیده است و به نظر می رسد خالص بودن این نژاد در مونومورفیک بودن جایگاه این ژن بی تأثیر نباشد.

۴. نتیجه گیری

این مطالعه با استفاده از نشانگر های ژنتیکی SSCP و PCR انجام شد جایگاه آللی ژن PPP2CA در گوسفندان نژاد ماکویی، قزل و رومانوف آشکار ساخت که روش های مولکولی بخصوص نشانگر های DNA روش بسیار ایده آلی است که می‌تواند در زمینه های مختلف اصلاح نژاد دام مورد استفاده قرار گیرد و عمل انتخاب دام را برای صفات مورد نظر در حداقل زمان میسر سازد. در این مطالعه چند شکلی ژن PPP2CA در سه نژاد قزل ، رومانوف و ماکویی و تأثیر آن در دنبه و چربی مورد بررسی قرار گرفته شد. مارکر های مورد استفاده برای مطالعه (PCR-SSCP)، مارکرهای مناسبی جهت بررسی اگزون 1 ژن PPP2CA بودند. تک شکل بودن جایگاه اگزون 1 ژن PPP2CA در نژادهای ماکویی،قزل و رومانوف با نتایج مطالعات انجام شده در این جایگاه مطابقت داشت. با آمدن تکنیک های آنالیز (DNA) ژنومی، جهش های تأثیر گذار برروی بیان ژن را می توان علاوه بر نواحی کد کننده چربی و دنبه، در نواحی غیر کد کننده که در آن تنوع های فردی بصورت الکتروفورزی قابل شناسایی هستند را نیز مشخص نمود. این تکنیک ها شناسای افراد حامل آلل های مطلوب را آسان و سریع نموده و بهبود ژنتیکی گله های دامی را سرعت می‌بخشد. این مطالعه با استفاده از نشانگر های ژنتیکی SSCP و PCR انجام شد جایگاه آللی ژن PPP2CA در گوسفندان نژاد ماکویی، قزل و رومانوف آشکار ساخت که روش های مولکولی بخصوص نشانگر های DNA روش بسیار ایده آلی است که می‌تواند در زمینه های مختلف اصلاح نژاد دام مورد استفاده قرار گیرد و عمل انتخاب دام را برای صفات مورد نظر در حداقل زمان میسر سازد. در این مطالعه چند شکلی ژن PPP2CA در سه نژاد قزل ، رومانوف و ماکویی و تأثیر آن در دنبه و چربی مورد بررسی قرار گرفته شد. مارکر های مورد استفاده برای مطالعه (PCR-SSCP)، مارکرهای مناسبی جهت بررسی اگزون 1 ژن PPP2CA بودند. تک شکل بودن جایگاه اگزون 1 ژن PPP2CA در نژادهای ماکویی،قزل و رومانوف با نتایج مطالعات انجام شده در این جایگاه مطابقت داشت. با آمدن تکنیک های آنالیز (DNA) ژنومی، جهش های تأثیر گذار برروی بیان ژن را می توان علاوه بر نواحی کد کننده چربی و دنبه، در نواحی غیر کد کننده که در آن تنوع های فردی بصورت الکتروفورزی قابل شناسایی هستند را نیز مشخص نمود. این تکنیک ها شناسای افراد حامل آلل های مطلوب را آسان و سریع نموده و بهبود ژنتیکی گله های دامی را سرعت می‌بخشد.

۵. منابع

۱. بیابانی و همکاران(۱۳۹۱).بررسی تنوع آللی ژن PPP2CA در گوسفند نژاد ماکویی. پنجمین کنگره علوم دامی – شهریور (۱۳۹۱).

۲. بزازپریخانی، صادقی، مرادی شهربابک. (۲۰۱۸). ارتباط چندشکلی های اگزون ۲ ژن فاکتور رونویسی ۷ با صفات چربی خون و دنبه در گوسفندان لری بختیاری و زل. پژوهشهای تولیدات دامی, ۸(۱۷), ۸۸-۹۲.

۳. زارع, صادقی, مرادی شهر بابک and محمد, ۲۰۱۷. شناسایی چندشکلی‌های تک‌نوکلئوتیدی ژنPPP CA ۲و اثر آن بر صفات لاشه، رشد و ذخیره چربی در گوسفندان لری‌بختیاری و زل. تحقیقات تولیدات دامی, ۵)۴.pp ,(۷۸-۷۰.

۴. زمانی افشار, هرکی نژاد, طاهر, بهاری and شهیر, ۲۰۱۸. بررسی چندشکلی ژن‌هایWnt ۱۰ aوWnt ۱۰ bدر گوسفند آمیخته افشاری برولامرینو. تولیدات دامی, ۲۰)۲.pp ,(۲۲۴-۲۱۳.

5. Cheng, S., Fockler, C., Barnes, W.M. and Higuchi, R., 1994. Effective amplification of long targets from cloned inserts and human genomic DNA. Proceedings of the National Academy of Sciences, 91(12), pp.5695-5699.

6. Kadarmideen HN, von Rohr P, Janss LL. From genetical genomics to systems genetics: potential applications in quantitative genomics and animal breeding. Mammalian Genome. 2006 Jun;17:548-64.

7. Moradi, M.H., Nejati-Javaremi, A., Moradi-Shahrbabak, M., Dodds, K.G., Brauning, R. and McEwan, J.C., 2021. Fine mapping of candidate regions associated with fat deposition in thin and fat tail sheep breeds suggests new insights into molecular aspects of fat tail selection.

8. Negahdary, M., Majdi, S., Biabani, P. and Hajihosseinlo, A., 2014. Relationship of TNF-α Gene Polymorphism with fat-tail measurements (fat-tail dimensions) and wool weights in fat-tail Makooei breed of Iranian sheep. Journal of Biology and Today's World, 3(4), pp.77-82.

9. Orita, M., Iwahana, H., Kanazawa, H., Hayashi, K. and Sekiya, T., 1989. Detection of polymorphisms of human DNA by gel electrophoresis as single-strand conformation polymorphisms. Proceedings of the National Academy of Sciences, 86(8), pp.2766-2770.

10. Peterson RE, Edwards AC, Bacanu SA, Dick DM, Kendler KS, Webb BT. The utility of empirically assigning ancestry groups in cross-population genetic studies of addiction. The American journal on addictions. 2017 Aug;26(5):494-501.

11. Tellam, R.L., Cockett, N.E., Vuocolo, T. & Bidwell, C.A. (2012) Genes contributing to genetic variation of muscling in sheep. Frontiers in Genetics, 3, 1–14

12. Williams, T.L., Monday, S.R., Feng, P.C. and Musser, S.M., 2005. Identifying new PCR targets for pathogenic bacteria using top-down LC/MS protein discovery. Journal of Biomolecular Techniques: JBT, 16(2), p.134.

13. Zhao, F., Deng, T., Shi, L., Wang, W., Zhang, Q., Du, L. and Wang, L., 2020. Genomic scan for selection signature reveals fat deposition in Chinese indigenous sheep with extreme tail types. Animals, 10(5), p.773.