ژنتیک نوین
دوره هفتم، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۱
صفحه ۴۱۹- ۴۱۷

بررسی چندشکلی ژن فاکتور رشد شبه انسولین یک (*IGF1*) در مرغان بومی آذربایجان غربی

Study on the polymorphism of *insulin-like growth factor 1* gene (*IGF1*) in West Azerbaijan native chickens

عبدالباسط پیریونسی[۱]، کریم مردانی[۲]، کاوه خاکپور[۳]، محمد قادرزاده[*۴]، روژان مدرسی[۵]

۱،۲،۳،۴و۵- کارشناس ارشد، دانشیار و کارشناسان ارشد دانشگاه ارومیه

Piryonesi A [1], Mardani K[2], Khakpour K[3], Ghaderzadeh M[4*], Modaresi R[5]

1,2,3,4,5. Graduate student, Associate Professor, Graduate students, Urmia University.

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی:mg.mahabad1365@gmail.com

(تاریخ دریافت: ۹۱/۲/۳۱ – تاریخ پذیرش: ۹۱/۷/۴)

چکیده

در این تحقیق چندشکلی ناحیه پروموتور ژن فاکتور رشد شبه انسولین یک *(IGF1)* مرغان بومی آذربایجان غربی شناسایی شد. برای این منظور از تعداد ۱۰۰ قطعه مرغ بومی ایستگاه اصلاح نژاد مرغ بومی آذربایجان غربی خونگیری شد. پس از استخراج DNA، قطعه‌ای به اندازه bp ۸۱۳ از ناحیه پروموتور این ژن با استفاده از تکنیک PCR تکثیر شد. قطعه تکثیر شده بوسیله آنزیم محدود کننده *Hin*fI مورد برش قرار گرفت و بر روی ژل آگارز دو درصد الکتروفورز شد. نتایج حاصل حاکی از وجود دو آلل *A* و *C* در این جایگاه بود که فراوانی آنها در کل جمعیت بترتیب ۲۴/۵ درصد و ۷۵/۵ درصد محاسبه شد. سه ژنوتیپ AA، AC و CC شناسایی شدند که فراوانی‌های ژنوتیپی محاسبه شده آنها در کل جمعیت بترتیب برابر ۵ درصد، ۳۹ درصد و ۵۶ درصد بود. آزمون مربع کای برای این ناحیه از ژن *IGF1* در جمعیت طیور مورد مطالعه، بیانگر برقراری تعادل هاردی-واینبرگ بود. بر اساس نتایج بدست آمده از این پژوهش می‌توان نتیجه گیری کرد که چند شکلی ناحیه پروموتور ژن *IGF1* مرغ بومی نسبتاً بالا بوده به طوریکه می‌تواند در برنامه‌های اصلاح نژاد طیور بومی کشور، ارتباط این چندشکلی‌ها با صفات اقتصادی مورد ارزیابی قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی

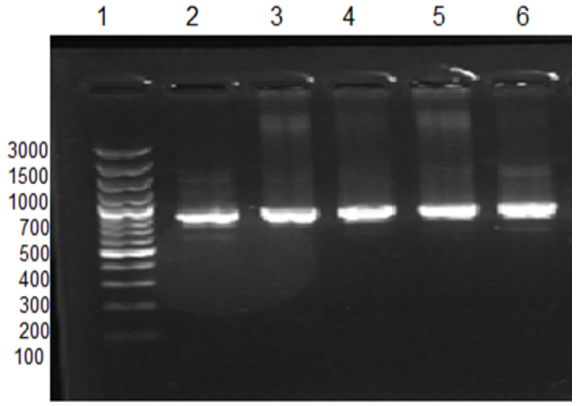
**چندشکلی،
ژن فاکتور رشد شبه انسولین یک،
مرغان بومی آذربایجان غربی،
IGF1،
PCR-RFLP.**

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2024-04-25]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1391.7.4.12.3]

مقدمه

نشانگر RFLP با توجه به تکرارپذیری و دقت بالای آن قادر به تشخیص چندشکلی در هر جایگاهی از ژنوم،می‌باشد (Naqavi et al. 2010). ژن *IGF1* یکی از مهمترین ژنهایی است که در رشد و توسعه بافت‌های بدن حیوانات نقش دارد (Scanes et al. 1984). هیپرتروفی عضله در اثر بیان بیش از حد ژن فاکتور رشد شبه انسولین یک ایجاد می‌شود (Van et al. 2003). این ژن بر روی بازوی کوچک کروموزوم شماره یک مرغ قرار دارد و دارای ۴ اگزون و ۳ اینترون است (Klein et al. 1996). تحقیقات نشان داده که سیستم *IGF1* رشد بدن و عضلات را در طیور تنظیم می‌کند (Duclos et al. 1999). Wang et al. (2004) با بررسی این ژن در شش نژاد مرغ بومی چینی بوسیله روش PCR-RFLP سه ژنوتیپ AA، AB و BB را شناسایی کردند. Zhou et al. (2001) با بررسی این ژن در جوجه ها به وسیله روش PCR-RFLP سه ژنوتیپ مختلف AA، AC و CC را شناسایی کردند. مرغ های بومی ایران ذخایر مهم ژنتیکی محسوب می‌شوند و با توجه به سازگاری آنها با شرایط کشور و تحمل عوامل نامساعد محیطی، می‌توان با مطالعه و بررسی ژن‌های مؤثر در صفات تولیدی و اقتصادی بازدهی تولید آنها را به عنوان محصولات با کیفیت برتر و ارگانیک افزایش داد و در برنامه‌های اصلاح و بهگزینی در جهت رفع نیازمندی جامعه به غذای مناسب و با کیفیت مطلوب از آنها بهره برد. هدف از تحقیق حاضر شناسایی چندشکلی ژن فاکتور شبه رشد انسولین یک در جمعیت مرغ‌های بومی استان آذربایجان غربی با استفاده از روش (PCR-RFLP) و همچنین تعیین فراوانی‌های آللی و ژنوتیپی مربوطه می‌باشد. در این تحقیق از ۱۰۰ پرنده مرکز اصلاح نژاد مرغ بومی آذربایجان غربی خون‌گیری و نمونه‌ها تا زمان استخراج DNA در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند. استخراج DNA از خون کامل مطابق روش Aljanabi et al. (1997) انجام گرفت. به منظور تکثیر یک قطعهٔ ۸۱۳ جفت بازی از ناحیه پروموتور ژن *IGF1* از آغازگرهای پیشنهاد شده توسط Klein et al. (1996) استفاده شد که توالی آنها بصورت زیر است: چینش آغازگر ۱:-'5 CATTGCGCAGGCTCTATCTG-3' و چینش آغازگر ۲: 5'-TCAAGAGAAGCCCTTCAAGC-3'، تکثیر قطعه مورد نظر با استفاده از یک مرحله ابتدایی واسرشته‌سازی در دمای ۹۴°C به مدت ۵ دقیقه و ۳۵ چرخه شامل واسرشته‌سازی در دمای ۹۴°C به مدت ۶۰ ثانیه، دمای اتصال آغازگرها ۵۶°C به مدت ۶۰ ثانیه و دمای تکثیر ۷۲°C به مدت ۶۰ ثانیه و یک دمای تکثیر نهایی ۷۲°C به مدت ۱۰ دقیقه استفاده شد. محصولات PCR روی ژل آگارز ۱/۵ درصد حاوی اتیدیوم بروماید با استفاده از دستگاه ترانسلومیناتور مشاهده و عکسبرداری شدند. برای تشخیص قطعات تکثیر شده از نشانگر مولکولی ۱۰۰ bp (شرکت سیناژن-ایران) استفاده شد (شکل ۱).

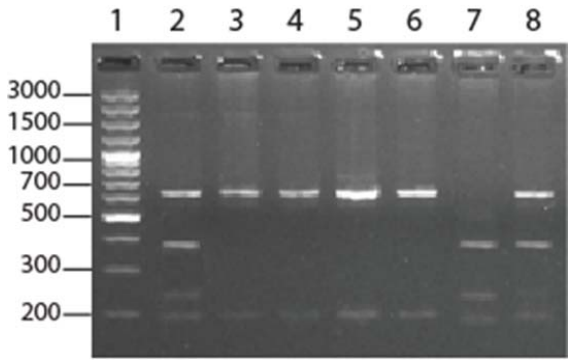


شکل۱- قطعات ۸۱۳ جفت بازی تکثیر شده بوسیله PCR. چاهک ۱ نشانگر مولکولی ۱۰۰ جفت بازی (سیناژن-ایران)، چاهکهای ۶-۲ محصولات PCR تکثیر شده از DNAهای استخراج شده بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد.

برای شناسایی چندشکلی ژن *IGF1*، ۵ میکرولیتر DNA تکثیر شده با یک واحد آنزیم برشی *Hin*fI، به مدت ۳ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد هضم شد. بعد از برش آنزیمی، محصولات برش داده شده با استفاده از ژل آگارز دو درصد حاوی اتیدیوم بروماید، الکتروفورز شدند. فراوانی‌های بدست‌آمده برای شکل-های آللی مختلف به کمک نرم‌افزار Popgene 1.31 مورد آنالیز قرار گرفتند (Yeh et al. 1999). براساس برش آنزیمی قطعات بدست آمده در هضم شامل قطعات ۱۹۱، ۲۴۴، ۳۷۸ و ۶۲۲ جفت بازی بودند (شکل۲). در این تحقیق سه ژنوتیپ AA، AC و CC شناسایی شدند که به ترتیب دارای فراوانی های ۵ درصد، ۳۹ درصد و ۵۶ درصد بودند. فراوانی آلل A و C به ترتیب ۲۴/۵ و ۷۵/۵ درصد بودند.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2024-04-25]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1391.7.4.12.3]



شکل ۲- الگوهای RFLP حاصل از برش با آنزیم *Hinf*1، الکتروفورز شده بر روی ژل آگارز ۲ درصد. چاهک ۱) نشانگر مولکولی 100 bp (سیناژن- ایران)، چاهک‌های ۲ و ۸) ژنوتیپ AC، چاهک‌های ۳، ۴، ۵ و ۶) ژنوتیپ CC و چاهک ۷) ژنوتیپ AA.

سایر پارامترهای آماری از قبیل شاخص شانون و شاخص هتروزیگوسیتی نئی برای این جایگاه ژن به ترتیب ۰/۵۵۶۸ و ۰/۳۷۱۸ بدست آمد که نشاندهنده تنوع نسبتاً بالا ژن *IGF*1 در نمونه‌های مورد بررسی در مرغان بومی آذربایجان غربی است. مطالعه حاضر به منظور ارزیابی چند شکلی ژن *IGF*1 در مرغان بومی استان آذربایجان غربی انجام گرفت. در این مطالعه چندشکلی ژن *IGF*1 در مرغان بومی آذربایجان غربی شناسایی و فراوانی آلل‌ها و ژنوتیپ‌های این ژن در ناحیه مورد مطالعه برآورد گردید. یافته‌های این تحقیق با نتایج تحقیقات Moe et al. (2009)، Fang et al. (2008) و Bian et al. (2008) مطابقت داشت. برای بررسی وجود یا عدم وجود تعادل هاردی- واینبرگ از آزمون مربع کای استفاده شد که انحراف از تعادل هاردی- واینبرگ را نشان نداد ($P>0.05$). این عدم انحراف می‌تواند به دلیل فقدان عوامل بر هم زننده تعادل از قبیل (مهاجرت، انتخاب، جهش و غیره) باشد. با توجه به اینکه برای این ژن جمعیت مرغ بومی آذربایجان غربی در حال تعادل می‌باشد می‌توان اقدام به اصلاح و به گزینی در این جمعیت کرد و در نتیجه به کمک نشانگر *IGF*1 مرغان با تولید بهتر و بیشتر را به منظور انتخاب به عنوان والدین نسل بعد به منظور به گزینی و اصلاح نژاد اقدام نمود.

منابع

Aljanabi S, Martinez L (1997) Universal and rapid salt – extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. Nucleic Acids Research 25: 4692-4693.

Bian L, Wang S, Wang Q, Zhang S, Wang Y, Li H (2008) Variation at the insulin-like growth factor 1 gene and its association with body weight traits in the chicken. Journal of Animal Breeding and Genetics 125: 265-270.

Duclos M, Beccavin C, Simon J (1999) Genetic models for the study of insulin-like growth factors (IGF) and muscle development in birds compared to mammals. Domestic Animal Endocrinology 17:231-243.

Fang H, Zhu W, Chen K, Wu X, Tang Q, Gao Y (2008) Associations between GHR and IGF-1 Gene Polymorphisms, and Reproductive Traits in Wenchang Chickens. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences 32: 281-285.

Klein S, Morrice D, Sang R, Crittenden L, Burl D (1996) Genetic and physical mapping of the chicken IGF1 gene to chromosome 1 and conservation of synteny with other vertebrate genomes. Journal of Heredity 87: 10-14.

Moe H, Shimogiri T, Kawabe K, Nishibori M, Okamoto Sh, Hashiguchi T, Maeda, Y (2009) Genotypic Frequency in Asian Native Chicken Populations and Gene Expression Using Insulin Growth Factor 1 (IGF1) Gene promoter polymorphism. Journal of Poultry Science 1: 1-5.

Naqavi M, Qareyazi B, Hossenisalkadeh Q (2010) Molecular Markers. Tehran University Press, Tehran, Iran. (In Farsi).

Scanes C, Harvey S, Marsh J, King D (1984) Hormones and growth in poultry. Poultry Science 10: 2062-2074.

Van Laere A, Nguyen M, Braunschweig M, Nezer C, Collette C, Moreau L (2003) A regulatory mutation in IGF2 causes a major QTL effect on muscle growth in the pig. Nature 425: 832-836.

Wang W, Ouyang K, Ouyang L, Lin H, Sun H (2004) Polymorphism of insulin-like growth factor I gene in six chicken breeds and its relationship with growth traits. Asian-Australian Journal Animal Science 3: 301-304.

Yeh C, Boyle T, Yang R (1999) Popgene version 1.31. Microsoft window based freeware for population genetic analysis. University Alberta. Canada.

Zhou H, Buitenhuis A, Weigend S, Lamont S (2001) Candidate gene promoter polymorphisms and antibody response kinetics in chickens: Interferon-gamma, interleukin-2 and immunoglobulin light chain. Poultry Science 12: 1679-1689.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2024-04-25]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1391.7.4.12.3]