

شناسایی چند شکلی در نشانگرهای ریزماهواره‌ای مرتبط به زیر

واحدهای α - β - β_B -اینهبین / اکتیوین روی گروموزوم‌های

۲ و ۴ در گوسفند سنجابی

ایوب فرهادی*^۱، قدرت الله رحیمی^۲، برومند چهارآیین^۳، زربخت انصاری^۴

۱- به ترتیب دانشجوی دکتری، دانشیار و استادیار آزمایشگاه ژنتیک مولکولی و بیوتکنولوژی دام، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، مازندران

۲- دانشیار مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی کرمانشاه، کرمانشاه
*نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: Ayyoob_farhadi@yahoo.com

(تاریخ دریافت: ۸۸/۶/۳۰ - تاریخ پذیرش: ۸۹/۳/۳۰)

چکیده

هدف از مطالعه حاضر شناسایی میزان چند شکلی در نشانگرهای ریز ماهواره‌ای BMS719 و BMS778 و oarCP26 متصل به ژن‌های زیر واحدهای α - β - β_B -اینهبین / اکتیوین در گوسفند سنجابی بوده است. تعداد ۱۰۰ نمونه خون به طور تصادفی از گوسفندان سنجابی در ایستگاه اصلاح نژاد مهرگان کرمانشاه جمع آوری و استخراج DNA با روش نمکی بهینه یافته صورت پذیرفت. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR)، با استفاده از جفت آغازگرهای اختصاصی به منظور تکثیر جایگاه‌های ریزماهواره‌ای انجام و محصولات حاصل از PCR روی ژل پلی اکریل آمید ۸ درصد الکتروفورز شدند. برای شناسایی ژنوتیپ‌ها در جمیعت از روش رنگ آمیزی نیترات نقره استفاده شد و آنالیز ژنتیکی توسط نرم افزارهای POPGENE نسخه ۱/۳۲ و Cervus نسخه ۲/۰ انجام گرفت. برای هو یک از نشانگرهای oarCP26، BMS778 و BMS719 تعداد آلل‌های مشاهده شده (Na) به ترتیب ۷، ۴ و ۳، شاخص چند شکلی (PIC) به ترتیب ۰/۷۹۹، ۰/۶۹۱ و ۰/۶۰۸۸ و تعداد آلل‌های موثر (Ne) به ترتیب ۴/۹۷، ۳/۲۴ و ۲/۵۵ برآورد شدند. نتایج نشان می‌دهند که جایگاه‌های مورد مطالعه به دلیل پلی‌مورف بودن و اتصال آن‌ها با هورمون‌های گلیکو پروتئینی اینهбین و یا اکتیوین، می‌توانند به عنوان یک جایگاه QTL موثر در باروری در برنامه‌های اصلاح نژادی گوسفند پیشتر مورد مطالعه قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی

چند شکلی،
ریز ماهواره‌ها،
گوسفند سنجابی،
اینهبین / اکتیوین

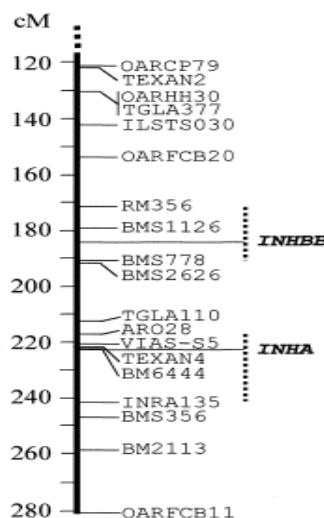
فولیکولی گاو و خوک (۱۵، ۲۲، ۲۳) و در گوسفند در سال ۱۹۸۷ استخراج شد (۱۹). اکتیوین نیز در سال ۱۹۸۶ استخراج شد (۲۴). سلول‌های سرتولی بیضه در نرها مراکز تولید اینهیبین می-باشند. زیر واحدهای اینهیبین و اکتیوین توسط ژن‌های مجزایی کد داده شده است ژن‌های کد کننده این زیر واحدهای روی کروموزوم ۴ و بازوی کوتاه کروموزوم ۲ قرار دارند (۱۰). اش و همکاران (۱۹۸۷) نشان دادند که زیر واحدهای مختلف اینهیبین / اکتیوین می‌توانند در بین گونه‌ها حفظ شده باشند (۷).

ریزماهواره‌ها یا توالی‌های تکراری ساده (SSR) یا تکرارهای کوتاه پشت سر هم (STR) واحدهای تکراری مشکل از ۱-۶ نوکلئوتید هستند که در ژنوم همه یوکاریوت‌ها و پروکاریوت‌ها یافت می‌شوند. ریزماهواره‌ها در هر دو ناحیه کد شونده و غیر کد شونده وجود دارند که بسیار متنوع و چندشکل بوده و به علت پراکنده‌گی بالا در ژنوم یوکاریوت‌ها تعیین ژنتیک آنها بسیار ساده است. این خصوصیات، نشانگرهای ریزماهواره‌ای را برای تهیه نقشه‌های ژنتیکی، مناسب و مطلوب کرده است (۹).

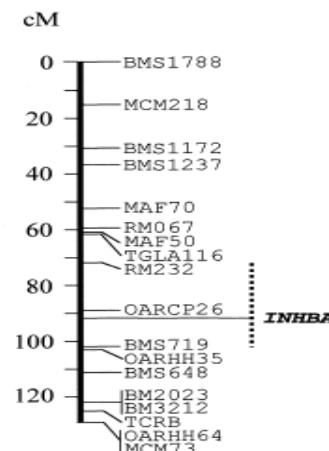
مقدمه

اینهیبین یک گلیکو پروتئین هترودایمر مشکل از دو زیر واحد آلفا و بتا است که اینهیبین-A / اینهیبین-B نامیده می‌شود. زیر واحد آلفا در هر دو فرم اینهیبین‌ها یکسان اما زیر واحد بتا دارای دو فرم A و B می‌باشد که در ترکیب با زیر واحد آلفا به ترتیب تشکیل اینهیبین-A و اینهیبین-B را می‌دهد. در مقابل، اکتیوین یک گلیکوپروتئین هومو دایمر است که از ترکیب دو زیر واحد بتا به وجود آمده و در سه فرم A، B و AB یافت می‌شود (۱۰، ۱۱، ۲۶). اینهیبین و اکتیوین عضو خانواده بزرگ فاکتورهای رشد تغییر شکل دهنده بتا (TGF_B) بوده و دارای اثرات مهمی بر نرخ تحملک ریزی در پستانداران می‌باشند (۵، ۱۴). نقش عمده اندوکراینی اینهیبین کاهش ترشح هورمون محرك فولیکول (FSH) از هیپوفیز پیشین طی مکانیسم فیدبک منفی است (۱۷). نقش اندوکراینی اکتیوین عکس اینهیبین است. مدارک زیادی وجود دارد که اینهیبین و مولکول‌های مرتبط با آن علاوه بر نقش اندوکراینی، ممکن است دارای اثرات پارا و اوتوکراین روی گنادها باشند (۸، ۹). اینهیبین برای اولین بار در سال ۱۹۸۵ از مایع

Sheep Chromosome 2q



Sheep Chromosome 4



شکل ۱- جایگاه ژن‌های کد کننده زیر واحدهای اینهیبین / اکتیوین و ریز ماهواره‌های مرتبط به آنها در گوسفند سنجابی. INHBA، INHBB به ترتیب زیر واحد بتای-B و بتای-A اینهیبین / اکتیوین و INHA زیر واحد آلفای اینهیبین می‌باشند. فاصله‌ها با مقیاس سانتی مورگان می-باشند (۱۰).

دنبال آن به ترتیب ژنتوتیپ‌های AG و AA قرار دارند. بنابراین در این آزمایش پیشنهاد شد که ممکن است اینهیبین-A یک ژن عمدۀ کنترل کننده باروری در بز باشد (۱۲).

در سال‌های اخیر با توجه به استفاده از اینهیبین و اکتیوین در باروری انسان و حیوانات اهلی توجه نسبتاً "زیادی به اندازه‌گیری تنظیم کننده‌های ستر آن توسط سلول‌های گرانولوزا، انتقال از فولیکول به پلاسمما، ویژگی‌ها، وزن مولکولی و اثرات بیولوژیکی این هورمون شده است (۱۳). با توجه به تحقیقات انجام شده مشخص شد که تا کنون در ایران هیچ تحقیقی در مورد رابطه چند شکلی‌های ژن‌های اینهیبین و اکتیوین با چند قلوزاوی در گوسفند انجام نگرفته است. از طرفی با توجه به تاثیر بسزای این دو هورمون در افزایش نرخ تخمکریزی و در نتیجه افزایش برهمزایی ضرورت مطالعه این ژن‌ها به عنوان دو ژن مهم و کاندید برای چندقلوزاوی در گوسفندان ایرانی مشخص و مبرم است. لذا در این تحقیق از سه نشانگر ریزماهواره‌ای متصل به جایگاه‌های ژن‌های اینهیبین/ اکتیوین استفاده شد تا رفتار جایگاه‌های مورد نظر را در جمعیت گوسفند سنجابی مورد مطالعه قرار داده تا بتوان از اطلاعات بدست آمده در برنامه‌های اصلاح نژادی آتی در این نژاد استفاده نمود.

مواد و روش‌ها

گوسفند سنجابی

نام این گوسفند از ایل سنجابی گرفته شده که بیشترین تعداد گوسفند استان کرمانشاه را در بر می‌گیرد. جمعیت گوسفند سنجابی بعد از گوسفند بلوچی دارای بیشترین تعداد در بین گوسفندان ایران است که در اکثر نقاط استان کرمانشاه پراکنده می‌باشد. سنجابی گوسفندی دنبه‌دار با جثه‌ای بزرگ و دست و پایی بلند می‌باشد. صورت قهوه‌ای تا قهوه‌ای کمرنگ و بدن از پشم بلند و نسبتاً سفید و ضخیمی پوشیده شده و از لحاظ تولید، جزء گوسفندان گوشتی و گوشتی پشمی محسوب می‌شود. دارای تولید شیر مناسب، سرعت رشد، کیفیت و کمیت پشم مطلوب و در مقابل شرایط محیطی نامطلوب نژادی مقاوم به حساب می‌آید. درصد دوقلوزاوی در این نژاد ۱۷/۲۸ درصد می‌باشد (۱).

Lord و همکاران (۱۹۹۸) با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره‌ای oarAE101 و سه نشانگر قرار گرفته در بین آنها توارث ناحیه کروموزومی اطراف ژن FecB را در گوسفندان رامنی تست کردند. در این آزمایش ژنتوتیپ‌هایی که با استفاده از آنالیز نشانگرها برای ۱۵ قوچ تعیین شده بودند توسط داده‌های حاصل از تست نتاج نیز تایید شدند. این امر شناسایی وضعیت حاملین ژن FecB را در هر یک از افراد شجره حتی بدون نیاز به اطلاعات والدین آنها امکان‌پذیر می‌سازد (۱۶). اسپیلر و همکاران (۲۰۰۴) چند شکلی‌های ریزماهواره‌ای ژن اینهیبین را در بزهای نر آنگورا بررسی کردند. آنها با مطالعه ۲۴ راس بز نر بالغ و تعیین ساختار ژنتیکی جمعیت مورد مطالعه، ژنتوتیپ‌های هتروزیگوت و هموزاییگوت مختلفی را مشاهده کردند. باندهای مرتبط به این ژنتوتیپ‌ها در گستره ۱۸۵-۲۳۰ جفت بازی قرار داشتند. برای ۸ راس از بزها هیچ باندی مشاهده نشد. همچنین جمعیت مورد مطالعه انحراف معنی‌داری را از تعادل هاردی- واینبرگ نشان داد. آنها پیشنهاد کردند که وجود چند شکلی در ژن زیر واحد آلفای اینهیبین می‌تواند به عنوان ابزار مفیدی در استراتژی‌های انتخاب استفاده شود (۲۵). رلیواسکیوز و همکاران (۲۰۰۴) چند شکلی-های ریزماهواره‌ای ژن زیر واحد بتا- اینهیبین را در بزهای نر اسپانیایی مورد مطالعه قرار دادند. ۲۳ راس از بزها با استفاده از دو آغازگر ریزماهواره‌ای بررسی شدند. برای آغازگرهای اول و دوم به ترتیب باندهایی در گستره بین ۲۸۰-۲۷۸ و ۲۴۶-۲۴۸ مشاهده شدند. همچنین جمعیت مورد مطالعه در تعادل هاردی- واینبرگ قرار نداشت. آنها با مشاهده چند شکلی در این نمونه‌ها پیشنهاد دادند که ژن اینهیبین می‌تواند در استراتژی‌های انتخاب برای باروری مورد استفاده قرار گیرد (۲۱). هیو و همکاران (۲۰۰۷) با مطالعه چند شکلی‌های موجود در یک قطعه بین ناحیه کد کننده ژن زیر واحد آلفا- اینهیبین با استفاده از روش‌های PCR-SSCP و PCR-RFLP و تعیین توالی نشان دادند که یک جهش جدید (G284A) که با هضم توسط آنزیم *Hae*II قابل شناسایی است در این ناحیه وجود دارد. آنالیزهای PCR-RFLP نشان دادند که آلل G غالب می‌باشد. مطالعات بیشتر نشان دادند که اثر ژنتوتیپ‌های اینهیبین-A در بزغاله‌زایی برای ژنتوتیپ GG بیشترین بوده و به

نرم افزارهای POPGENE نسخه ۱/۳۲ و Cervus نسخه ۲/۰ ایوب فرهادی، قدرت‌اله رحیمی، برومند چهارآیین، زربخت انصاری
انجام گرفت. شاخص PIC در جایگاههای ریز ماهواره‌ای بر اساس فراوانی‌های آللی مشاهده شده (۱) و با استفاده از رابطه زیر محاسبه می‌شود:

$$PIC_i = 1 - \sum_{j=1}^n P_{ij}^2$$

که در این رابطه $\sum_{j=1}^n P_{ij}$ فراوانی زامین آلل برای آمین نشانگر است که برای همه آلل‌ها جمع می‌شود. تعداد آلل‌های موثر (که عکس هموزایگوستی را تخمین می‌زند) نیز با استفاده از رابطه زیر محاسبه شده است (۲۹):

$$N_e = \frac{1}{H_i} = \frac{1}{\sum_{i=1}^n P_i^2}$$

که در این رابطه H_i هموزایگوستی در هر جایگاه و P_i فراوانی آلل i را نشان می‌دهند.

نتایج و بحث

از تکثیر نشانگر BMS719 باندهایی در محدوده ۷۲ تا ۱۱۸ جفت باز از خط کش مولکولی SM0251 روی ژل پلی اکریل آمید ۸ درصد حاصل شد. در این نشانگر قطعات تکثیر شده در گوسفند سنجابی در دامنه ۸۸-۱۰۷ جفت باز قرار داشتند. نتایج بدست آمده با نتایج استون و همکاران (۱۹۹۵) که در NCBI برای جنس نشانگر را برای جنس گوسفند ۱۲۰-۱۲۵ جفت باز به ثبت رسانده‌اند (۲۷).

استخراج DNA

۱۰۰ نمونه خون شامل ۲۱ راس دام نر و ۷۹ راس دام ماده به طور تصادفی از گوسفندان سنجابی در ایستگاه اصلاح نژاد مهرگان کرمانشاه از طریق سیاهرگ و داجی جمع آوری و استخراج DNA با روش نمکی بهینه یافته (۱۸) صورت پذیرفت.

PCR و تعیین ژنوتیپ نمونه‌ها

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) با استفاده از جفت پرایمرهای اختصاصی (جدول ۱) به منظور تکثیر جایگاههای ریزماهواره‌ای انجام پذیرفت. مخلوط واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر شامل تقریباً ۱۲۰ نانو گرم الگو، ۲/۵ میکرولیتر بافر ۱x PCR ۳ میلی مولار MgCl₂ ۲۰۰ میکرو مول dNTP، ۱ واحد آنزیم Taq-پلیمراز (Takara, Tokyo, Japan) و ۲۵ پیکو مول از هر کدام از آغازگرها (برای نشانگرهای oarCP26 و BMS719) و ۵۰ پیکومول (برای نشانگر BMS778) و ۱۸/۶ میکرولیتر آب مقطر تهیه گردید. سیکل‌های حرارتی PCR به صورت ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۴ دقیقه به منظور تک رشته سازی اولیه DNA الگو که با ۳۰ سیکل شامل ۹۴ درجه سانتیگراد در ۳۰ ثانیه ۵۸ درجه سانتیگراد (برای نشانگرهای BMS778 و BMS719)، (BMS719 در ۳۰ ثانیه به منظور اتصال آغازگرها و ۷۲ درجه سانتیگراد در ۱۲۰-۳۰ ثانیه دنبال شد. بسط نهایی نیز در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰ دقیقه تنظیم گردید. در مرحله بعد محصولات حاصل از تکثیر روی ژل پلی اکریل آمید ۸ درصد الکتروفورز شدند. شناسایی ژنوتیپ‌ها به کمک رنگ آمیزی نیترات نقره و آنالیز ژنتیکی توسط

جدول ۱- توالی آغازگرهای استفاده شده در این تحقیق.

شماره کروموزوم	توالی آغازگر /۵ ۳/۱	نام نشانگر
۲	F-CTGGGGAGGCAGAATTAA R-CCTCTCCACATACTCTTCTCCA	BMS778
۴	F-GCCTAACAGAATTAGATGATGTT R-GTCACCATACTGACGGCTGGTTCC	oarCP26
	F- AAGTGCACGCTAACACGTTG R- CCTCCCTCTCCCTGTGTTTC	BMS719

جدول ۲- شاخصه‌های ژنتیک جمعیت نشانگرهای oarCP26 و BMS778 .BMS1126 .BMS719 در گوسفند سنجابی

Ne	PIC	H(E)	HO(E)	H(O)	HO(O)	Na	نشانگر
۲/۵۵	۰/۶۰۸۸	۰/۶۱	۰/۳۸۸	۱	۰	۳	BMS719
۴/۹۷	۰/۷۹۹	۰/۸۰۳	۰/۱۹۷	۱	۰	۷	BMS778
۳/۲۴	۰/۶۹۱	۰/۶۹۴	۰/۳۰۵	۱	۰	۴	oarCP26

- تعداد آلل‌ها

- Ne

- هموزاگوستی مشاهده شده

- HO(O)

- هتروزاگوستی مشاهده شده

- HO(E)

- هتروزاگوستی مورد انتظار

- H(E)

- میزان چند شکلی

- PIC

از تکثیر نشانگر oarCP26 باندهایی در محدوده ۱۰۰ تا ۲۰۰ جفت باز از خط کش مولکولی SM0321 روی ژل پلی اکریل آمید ۸٪ حاصل شد. قطعات تکثیر شده نشانگر oarCP26 در این تحقیق در دامنه ۱۵۰-۱۸۰ جفت باز قرار داشتند. این نتایج با نتایج اد و همکاران (۱۹۹۵) که در NCBI برای جنس Ovis aries oarCP26 به ثبت رسیده است، سازگاری دارد (۶). در نشانگر ۴ آلل (A, B, C و D) به ترتیب با فراوانی‌های ۰/۱۹، ۰/۱۸، ۰/۴۶ و ۰/۱۷ و ۴ ژنوتیپ (CD, BC, AC و AB) به ترتیب با فراوانی‌های ۰/۰۸، ۰/۳، ۰/۲۸ و ۰/۳۴ مشاهده شدند. جمعیت مورد مطالعه در این تحقیق در هیچ یک از جایگاه‌های ریز ماهواره‌ای بررسی شده در تعادل هارדי- واینبرگ قرار نداشت. انحراف از تعادل در جامعه گوسفندان سنجابی مطالعه شده را می‌توان در اثر ایجاد جهش در این جایگاه‌ها، اندازه کوچک نمونه‌های مورد مطالعه، بالا بودن شاخص همخونی در گله مورد مطالعه و یا وجود آلل‌های صفر دانست. در جدول شماره ۲ خلاصه‌ای از شاخصه‌های ژنتیک جمعیت در گوسفند سنجابی در جایگاه‌های مورد مطالعه در این تحقیق نشان داده شده‌اند. در تمامی نشانگرهای بررسی شده در این تحقیق در گوسفندان سنجابی، هتروزاگوستی صد درصد بود. بالا بودن هتروزاگوستی در این جایگاه‌ها باعث افزایش مقدار چند شکلی یا شاخص PIC در نشانگرها شده است. میزان بالای هتروزاگوستی و چند شکلی در این نشانگرها نشان می‌دهد که می‌توان از آنها در استراتژی‌های

لازم به ذکر است که مغایرت در اندازه باندها در افراد و یا در جوامع مختلف یکی از ویژگی‌های بارز سیستم ریز ماهواره‌ها است که معمولاً در اثر پدیده‌هایی مثل جهش، سر خوردن پلیمراز و یا کراسینگ اور نا مساوی بوجود می‌آید (۲). در نشانگر BMS719 در گوسفندان سنجابی مطالعه شده در این تحقیق ۳ آلل (A, B و C) به ترتیب با فراوانی‌های ۰/۳۴، ۰/۱۶ و ۰/۰۵ و دو ژنوتیپ (BC و AC) به ترتیب با فراوانی‌های ۰/۶۸ و ۰/۳۲ مشاهده شد. البته باید اشاره نمود که علت مشاهده فقط دو ژنوتیپ برای این نشانگر در جمعیت گوسفندان سنجابی می‌تواند اندازه کوچک جمعیت مورد مطالعه باشد.

نشانگر BMS778 متنوع‌ترین نشانگر از لحاظ تعداد آلل و ژنوتیپ در این تحقیق بود. از تکثیر این نشانگر باندهایی در محدوده ۱۱۸ تا ۱۹۴ جفت باز از خط کش مولکولی SM0251 روی ژل پلی اکریل آمید ۸٪ حاصل شد. قطعات تکثیر شده نشانگر BMS778 در گوسفند سنجابی در دامنه ۱۴۸-۱۹۳ جفت باز قرار داشتند. این نتایج با نتایج تحقیق استون و همکاران (۱۹۹۵) سازگاری داشت (۲۷). در نشانگر BMS778 در گوسفندان سنجابی ۷ آلل (A, B, C, D, E, F و G) به ترتیب با فراوانی‌های ۰/۱، ۰/۱۵۵، ۰/۳۴، ۰/۰۹ و ۰/۰۴۵ AD, BE, CE, CF, CG و ۶ ژنوتیپ (AB, BE, CE, CF, CG) به ترتیب با فراوانی‌های ۰/۱۱، ۰/۰۹ و ۰/۰۲ و ۰/۱۷، ۰/۰۹ و ۰/۰۲۳ و ۰/۱۷ و ۰/۰۹ مشاهده شدند.

سه گونه گوسفند، گاو و بز نشان داد که اکثر نشانگرهای نقشه-یابی شده روی کروموزوم ۴ و بازوی کوچک کروموزوم ۲ گوسفند، در نقشه ژنتیکی مربوط به گاو نیز وجود دارند. در بز یک شبکه متشكل از ۴ و ۷ نشانگر ریز ماهواره‌ای روی کروموزوم ۴ و بازوی کوچک کروموزوم ۲ با نشانگرهای نقشه-یابی شده در گوسفند یکسان هستند (۹).

داده‌های لینکاز ژنتیکی بیان شده در فوق برای زیر واحدهای مختلف اینهیین/اکتیوین در گوسفند نشان می‌دهد که نشانگرهای ریز ماهواره‌ای برای مطالعات QTL مرتبط با این ژن‌ها در گونه-های نشخوار کنندگان مفید و مطلوب می‌باشند. بدین ترتیب که با بررسی رابطه این نشانگرها با صفت دو قلوزایی در افراد رابطه صورتی که ژنوتیپ‌های این نشانگرها با دو قلوزایی در افراد معنی‌داری داشته و همچنین بین ژنوتیپ‌های مختلف در افراد مختلف تفاوت‌های قابل ملاحظه‌ای دیده شود، می‌توان از آنها به عنوان ابزار قابل اعتمادی در یافتن QTL مربوط به صفت دو قلوزایی استفاده کرد. البته باید یادآوری شود که در مطالعات مربوط به QTL برای رسیدن به داده‌های قابل اعتماد باید از یک جمعیت بزرگ استفاده شود. با توجه به تحقیقاتی که انجام شد، تا کنون در ایران هیچ تحقیقی مبنی بر بررسی چند شکلی‌های ژن-های اینهیین/اکتیوین با استفاده از ریز ماهواره‌ها در رابطه با صفات تولید مثلی، خصوصاً دو قلوزایی در گوسفند انجام نپذیرفته است و بیشتر تاکید روی ژن‌های BMP-15, GDF9 و FecB بوده که تاکنون نتایج مورد انتظار در این ژن‌ها برای نژادهای مورد مطالعه حاصل نگردیده است. بنابراین این نظریه قوت می‌گیرد که شاید در نژادهای گوسفند ایرانی جهش‌های مرتبط به ژن‌های فوق جود نداشته باشند. لذا به نظر می‌رسد باید برای شناسایی ژن‌های موثر بر دو قلوزایی در جمعیت گوسفندان ایرانی جایگاه‌های دیگری مورد مطالعه و جستجو قرار گیرند. بررسی ژن‌های زیر واحدهای اینهیین/اکتیوین، یکی از عوامل موثر در فرایند بلوغ فولیکول و تخمکریزی از طریق نشانگرهای ریز ماهواره‌ای متعلق به این جایگاه‌ها از مطالعات مقدماتی در این ارتباط می‌باشد.

انتخاب برای صفات مختلف تولید مثلی، خصوصاً "دو قلوزایی در گوسفند و سایر پستانداران استفاده کرد. اویانگ و همکاران (۲۰۰۶) رابطه معنی‌داری را ($P < 0.05$) بین چند شکلی‌های نشانگر ریز ماهواره‌ای oarHH35 و بزرگاله‌زایی در چهار نژاد بز نشان دادند. این نشانگر ریز ماهواره‌ای نیز به زیر واحد بتای-B-اینهیین/اکتیوین روی کروموزوم ۴ گوسفند متصل است (۲۰). لازم به ذکر است که در گوسفند، زیر واحد بتای-B-اینهیین/اکتیوین روی بازوی کوچک کروموزوم ۲ توسط دو نشانگر ریز ماهواره‌ای BMS1126 و BMS778 احاطه شده که به این نشانگرها متصل می‌باشد. فاصله نشانگر BMS1126 از ژن کد کننده این زیر واحد تقریباً ۵ سانتی مورگان و فاصله نشانگر BMS778 نیز از زیر واحد نامبرده تقریباً ۶/۶ سانتی مورگان می‌باشد. همچنین زیر واحد بتای-A-اینهیین روی کروموزوم ۴ توسط دو ریز ماهواره oarCP26 و BMS719 احاطه شده و به آنها متصل می‌باشد. فاصله این دو نشانگر از زیر واحد بتای-A-اینهیین/اکتیوین به ترتیب ۳/۳ و ۱۱ سانتی مورگان است. ژن کد کننده زیر واحد آلفای اینهیین نیز روی بازوی کوچک کروموزوم ۲ گوسفند و در فاصله ۳۹ سانتی مورگان از ژن کد کننده زیر واحد بتای-B-قرار دارد. این زیر واحد نیز به دو نشانگر ریز ماهواره‌ای INRA135 و BM6444 متصل بوده و به ترتیب در فاصله ۱۹/۸ و ۱ سانتی مورگان از این نشانگرها قرار دارد (۱۰). بر اساس مطالعات مطالعات سیتوژنتیکی، ردیفهای الگوهای باندی نشانگرها مورد مطالعه در این تحقیق را در گوسفند، گاو و بز مشخص شده است. براساس این مطالعات، یک ناحیه حفاظت شدگی وسیع از نظر ترتیب و فاصله، بین این نشانگرها در نقشه‌های لینکازی کروموزوم‌های گوسفند، گاو و بز وجود دارد. مطالعات نشان دادند که کروموزوم ۴ و بازوی کوچک کروموزوم ۲ گوسفند به ترتیب با کروموزوم‌های ۲ و ۴ گاو و بز یکسان است. همچنین هیریداسیون در محل، موقعیت زیر واحد آلفا و بتای-B-اینهیین/اکتیوین را روی کروموزوم ۲ گاو و خوک و زیر واحد بتای-A-اینهیین/اکتیوین را روی کروموزوم ۴ گاو و خوک، دقیقاً در همان موقعیتی که در کروموزوم‌های ۲ و ۴ گوسفند قرار دارند، تعیین نمود. مطالعات نقشه‌های ژنتیکی هر

سپاسگزاری

در پایان از زحمات بی شائبه کارکنان و مدیریت ایستگاه اصلاح نژاد مهرگان کرمانشاه در تامین نمونه‌ها کمال تشکر و قدر دانی را داریم.

منابع

13. Johnson, S.K., M.F. Smith. (1985). Effects of charcoal-extracted, bovine follicular fluid on gonadotropin concentrations, the onset of oestrus and luteal function in heifers. *J. Anim. Sci.* 61: 203-209.
14. Leversha, L.J., D.M. Robertson, F.L. de Vos, F.J. Morgan, M.T.W. Hearn, R.E.H. Wettenhall, J.K. Findly, H.G. Burger, D.M. de Kretser. (1987). Isolation of inhibin from ovine follicular fluid. *J. Endocrinol.* 113: 213-221.
15. Ling, N., S.Y. Ying, N. Ueno, F. Esch, L. Denoray, R. Guillemin. (1985). Isolation and partial characterization of a Mw 32000 protein with inhibin activity from porcine follicular fluid. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 82: 7217-7221
16. Lord, E.A., K.G. Dodds, H. Henry, J.M. Lumsden, G.W. Montgomery. (1998). Identification of booroola carrier using microsatellite marker. *Wool Technol. Sheep. Breed.* 46: 245-249.
17. Medan, M.S., T. Takedomi, Y. Aoyagi, M. Konishi, S. Yazawa, G. Watanabe, K. Taya. (2006). The effect of active immunization against inhibin on gonadotrophin secretion and follicular dynamics during the estrous cycle in cows. *Reprod. Develop.* 52: 107-113.
18. Miller. (1988). The DNA laboratory, Medical school, Malta.
19. Miyamoto, K., Y. Hasegawa, M. Fukuda, M. Nomura, M. Igarashi, K. Kangava, H. Matsuo. (1985). Isolation porcine follicular fluid inhibin of 32KDa. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 129: 396-403.
20. 20 - Ouyang, X.X., Q.S. Si, S.Q. Huang, Z.F. Deng, H.X. Liu, D.S. He, S.G. Tan, S.G. Hu. (2005). Analysis of microsatellite DNA markers of *OarHH35* and *BMS2508* in four goat breeds. *Chin. J. Agri. Biote.* 3: 217-222
21. Realivasquez, R., S.A. Ericsson, S.F. Spiller, W.T. Campbell, K.L. Sternes, P.H. Purdy, H.D. Blackburn, J.M. Dzakuma. (2004). Spanish buck ss-b inhibin/activin (INHBB) microsatellite polymorphisms. *J. Anim. Sci. Suppl.* 82 (1): 377-378
22. River, J., J. Spiers, R. McClintock, J. Vaughan, W. Vale. (1985). Purification and partian characterization of inhibin from porcine follicular fluid. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 133: 120-127.
23. Robrtson, D.M., L.M. Foulds, L. Leveresh, F.J. Morgan, M.T.W. Hearn, H.G. Burger, R.E.H. Wettenhall, D.M. de Kretser. (1985). Isolation of inhibin from bovin follicular fluid. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 126: 220-226.
24. Robrtson, D.M., R. Klein, F.L. de Vose, R.I. McLachlan, R.E.H. Wettenhall, M.T.W. Hearn, H.G. Burger, D.M. de Kretser. (1987). The Isolation of polypeptides with FSH suppressing activity from bovine follicular fluid which are structurally different to inhibin. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 149: 744-749.
25. Spiller, S.F., S.A. Ericsson, R. Realivasquez, W.T. Campbell, K.L. Sterns, P.H. Purdy, H.D. Blackburn, J. M. Dzakuma. (2004). INHA microsatellite polymorphisms in angora bucks. *J. Ani. Sci.* 82(1): 378.

26. Stefano, L., F. Pasqual, M.R. Fernando, P. Felice. (2005). Inhibin in female and male reproductive physiology: role in gametogenesis, conception, implantation and early pregnancy. *Hum. Reprod. Update.* 11 (2): 123-135.
27. Stone, R.T., J.C. Pulido, G.M. Duyk, S.M. Kappes, J.W. Keele, C.W Beattie. (1995). A small-insert bovine genomic library highly enriched for microsatellite repeat sequences. *J. Mamm. Genom.* 6 (10): 714-724.
28. Xhang, Z., J.K. Findly, R.S. Carson, A.C. Herington, H.G. Burger. (1988b). Transforming growth factor β enhances basal and FSH-stimulated inhibin production by rat granulose cells in vitro. *Mol. Cell. Endocrinol.* 58: 161-166.
29. Yeh, Francis, C., R.C. Yang, B.J. Boyle Timothy, Z.H. Ye and Judy X Mao (1999). POPGENE version 1.32, the user-friendly software for population genetic analysis. Molecular Biology and Biotechnology Center, University of Alberta, Canada.