ژنتیک نوین
دوره نهم، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۳
صفحه ۵۱۶- ۵۱۱

مطالعه چندشکلی اگزون ۳ ژن لپتین با استفاده از نشانگر PCR-SSCP و ارتباط آن با وزن تولد و صفات رشد در گوسفند نژاد کردی خراسان شمالی

Study of genetic polymorphisms in exon 3 of the *leptin* gene and its assosiation with birth weight and growth traits in North Khorasan Kurdi sheep

عباس شیبک*[۱]، محمدباقر منتظرتربتی[۱]، همایون فرهنگ‌فر[۱]، رضا اشکانی‌فر[۲]

۱- به ترتیب کارشناس، استادیار، دانشیار، دانشگاه بیرجند
۲- کارشناس مرکز اصلاح نژاد گوسفند کردی خراسان شمالی (شیروان)

Shibak A*[1], Montazertorbati MB[1], Farhanfar H[1], Ashkanifar R[2]

1. Instructor, Assistant Professor, Associate Professor, University of Birjand
4. Instructor, Animal Breeding Centre of Kordi sheep

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: a.shibak@yahoo.com

(تاریخ دریافت: ۹۲/۵/۲۱- تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۲/۱۱)

چکیده

ژن لپتین به عنوان یک ژن کاندید برای صفات رشد معرفی شده طوری که در تنظیم خوراک مصرفی، مصرف انرژی و فشار خون نقش قابل ملاحظه‌ای دارد. در این تحقیق به منظور بررسی چندشکلی ژن لپتین از ۱۲۰ راس گوسفند نر و ماده کردی خراسان شمالی بطور تصادفی خونگیری به عمل آمد. پس از استخراج DNA، واکنش زنجیره‌ای پلی مراز (PCR) برای تکثیرقطعه ۲۷۵ جفت بازی اگزون شماره ۳ این ژن انجام شد. چندشکلی فضایی تک رشته‌ای (SCCP) محصولات RCR با استفاده از ژل اکریل آمید ۱۰ درصد و رنگ آمیزی نیترات نقره بدست آمد. برای اگزون ۳ این ژن در نمونه مورد مطالعه ۳ الگوی باندی AA، AB وBC مشاهده شد که فراوانی‌های آنها به ترتیب ۰/۳، ۰/۲۷۵ و ۰/۴۲۵ بود. نتایج نشان داد که بین چندشکلی‌های مشاهده شده و صفات رشد ارتباط معنی داری وجود ندارد.

واژه‌های کلیدی

چند شکلی
ژن لپتین
صفات رشد
گوسفندان کردی شمال خراسان
PCR

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-09-01]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.4.13.8]

شناخت ژن‌های بزرگ اثر موثر بر صفات تولیدی از علاقمندی های اخیر محققان اصلاح نژاد دام می‌باشد و ژن لپتین یکی از ژن های بزرگ اثر بر وزن تولد و صفات رشد است. این ژن در سال ۱۹۹۴ از طریق روش‌های کلونینگ کشف شد و دارای ۳ اگزون و دو اینترون است که اگزون یک برای تولید هورمون لپتین رونویسی نمی‌شود (Zhang et al. 1994). محصول ژن لپتین هورمون پروتئینی به نام لپتین با وزن مولکولی ۱۶ کیلو دالتون (KDa) می باشد که عمدتا از سلول‌های بافت چربی ترشح شده و به عنوان یک عامل ضداشتها و لاغر کننده شناخته شده است (Liefers 2004). فقدان این هورمون در بدن و عدم ترشح آن یا تغییر شکل فضایی آن به دلیل جهش در طول ژن لپتین، باعث بروز چاقی می‌شود (Chilliard et al. 2000). لپتین، با نگهداری تعادل میان دریافت غذا و مصرف انرژی، وزن بدن را کنترل می کند (Pelleymonunter et al. 1995; Friedman and Halaas 1998). علاوه بر این هورمون لپتین در بسیاری از فعالیت‌ها نظیر تولید مثل (Henson and Castracane 2003) فعالیت‌های ایمنی (Fantuzzi and Faggioni 2000) بلوغ (Reitman et al. 2001) و رشد و تکامل جنین (Harigaya et al. 1997) نقش دارد Vanderlande et al. (2005) گزارش کردند وجود چندشکلی در ژن لپتین انسان با سطوح پایین لپتین، افزایش وزن و بیماری قند غیر وابسته به انسولین، رابطه دارد. تاثیر معنی‌داری ژن لپتین بر صفات مهم، در بسیاری از دام‌های مزرعه‌ای بخصوص گاو، در سطح وسیعی گزارش شده است. ارتباط معنی‌دار این ژن با صفات تولید شیر در نژاد گاوهای هلشتاین (Liefers et al. 2002)، صفات لاشه (ماربلینگ، چربی لاشه، کیفیت گوشت و...) در گاوهای گوشتی (Buchanan et al. 2002; Geary et al. 2003) به اثبات رسیده است. در گاوهای هلشتاین ایران نیز، ژن لپتین با صفات تولید شیر و تولید مثل ارتباط معنی‌داری داشته است (Heravi Moussavi et al. 2006; Yazdani et al. 2010). در بررسی چندشکلی اگزون سه ژن لپتین گوسفندان نیوزلند چهار SNP ($107^{C/T}$، $271^{G/A}$، $316^{C/A}$ و $387^{G/T}$) گزارش شد که به غیر از $387^{G/T}$ سه نوع دیگر از نوع غیر همجنس (Non-synonymous) بودند و به ترتیب باعث تغییر اسیدآمینه در موقعیت‌های کدون $105^{Arg/Gln}$، $120^{Pro/Gln}$ و $144^{Val/Leu}$ لپتین شده-اند (Zhou et al. 2009). در تحقیقی که توسط Boucher et al. (2006) به منظور بررسی چندشکلی ژن لپتین و ارتباط آن با صفات کیفیت گوشت و رشد عضله بر روی ۶۹ راس از بره‌های سافولک و ۷۰ راس از بره‌های دورست هورن صورت گرفت، دو ژنوتیپ AA و AG برای هر دو نژاد مشاهده شد که فراوانی آن‌ها برای نژاد دورست به ترتیب ۰/۷۹ و ۰/۲۶ بود و برای نژاد سافولک به ترتیب ۰/۸۷ و ۰/۲۳ گزارش شد. وجود ارتباط معنی-داری بین چندشکلی این ژن و صفات مربوطه نشان داده شد. در مطالعه بر روی میش، قوچ و گوسفندان نر آخته مشخص شد که غلظت پلاسمائی لپتین با ضخامت چربی پشت بدن و نیز نسبت ضخامت چربی پشتی بدن به وزن زنده همبستگی دارد به طوری که حدود ۳۰ درصد تغییرات لپتین در خون ناشی از تغییر ضخامت چربی پشت بدن است (Blache et al. 2000). در یک تحقیق همبستگی لپتین پلاسما و کل ذخایر چربی بدن در گوسفند ۰/۶۷ گزارش شده است (Bonnet et al. 2000). گوسفند کردی خراسان شمالی دارای توان ژنتیکی مطلوب برای نرخ رشد بره‌ها، قابلیت سازگاری با شرایط محیطی و در بین نژادهای ایرانی، مقاومترین نژاد نسبت به بیماری‌ها می‌باشد. لذا هدف از این مطالعه بررسی چندشکلی ژن لپتین با استفاده از نشانگر PCR-SSCP و ارتباط آن با وزن تولد و صفات رشد در گوسفندان نژاد کردی خراسان شمالی بود. در پژوهش حاضر، از ۱۲۰ راس گوسفند کردی (گونه اهلی) که در مرکز اصلاح نژاد شهر شیروان استان خراسان شمالی پرورش داده می‌شدند، توسط لوله‌های خلا حاوی EDTA خون‌گیری به عمل آمد و تا زمان استخراج DNA در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. استخراج DNA با استفاده از روش کلروفرم-نمکی بهینه یافته انجام شد (Iranpur and Esmailizadeh 2010). برای ارزیابی کمیت و کیفیت DNA، از روش مبتنی بر اسپکتوفتومتری استفاده شد. نمونه‌های DNA برای انجام واکنش PCR به غلظت ۱۵۰-۱۰۰ ng/µl رسانیده و در ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. برای تکثیر قطعه ۲۷۵ جفت بازی اگزون شماره ۳ ژن لپتین، از واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR) استفاده شد و توالی هر یک از آغازگرهای اختصاصی به صورت LepF: 5'- GCTCCACCCTCTCCTGAGTTT

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-09-01]

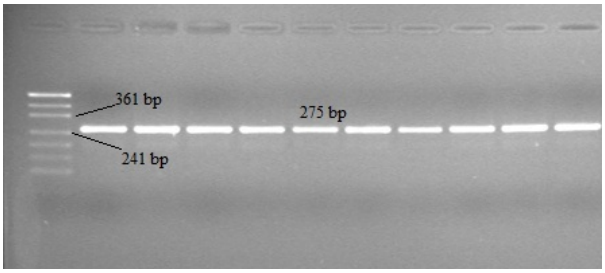
[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.4.13.8]

GTCC -3' LepR: 5'- TGTCCTGTAGAGACCCCTGTA GCCG -3' بود (Tahmoorespur et al. 2010).

واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر ($Mgcl_2$، ۲/۵ میلی‌مولار، dNTPs ۰/۵ میلی‌مولار، هر یک از آغازگرهای رفت و برگشت ۰/۴ پیکومول، یک واحد از Taq DNA پلی‌مراز، PCR Buffer 10X دو میکرولیتر، یک میکرولیتر DNA با غلظت ng/µl ۱۵۰–۱۰۰) و با برنامه حرارتی ۹۵ درجه سانتی‌گراد جهت واسرشت اولیه‌ی DNA به مدت۲۴۰ ثانیه، واسرشت ثانویه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه، دمای ۶۶/۵ درجه سانتی‌گراد جهت اتصال آغازگرها به مدت ۵۵ ثانیه، دمای ۷۲ درجه سانتی-گراد جهت بسط آغازگرها به مدت ۷۵ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی-گراد برای بسط نهایی به مدت۶۰۰ ثانیه و به تعداد ۳۵ چرخه انجام شد. صحت طول قطعه بدست آمده از محصول PCR با استفاده از ژل آگارز یک درصد صورت گرفت (شکل۱). جهت انجام SSCP، ۴ میکرولیتر از محصولات تکثیر شده با ۸ میکرولیتر بافر بارگذاری (SSCP dya) مخلوط شد و میکروتیوب‌ها برای مدت ۱۰ دقیقه درون ترموسایکلر با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. سپس، بلافاصله پس از خارج کردن، میکروتیوب‌ها روی یخ قرار گرفتند تا از تشکیل مجدد DNA دو-رشته‌ای جلوگیری شود. بعد از گذشت ۷–۵ دقیقه ۱۲ میکرولیتر از مخلوط محصولات PCR و بافر بارگذاری SSCP با استفاده از سیستم الکتروفورز عمودی حاوی بافر TBE (1X) و با ولتاژ ۱۵۰ به مدت ۱۰–۸ ساعت روی ژل آکریل‌آمید غیرواسرشته ساز ۱۰ درصد در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد الکتروفورز شد. برای مشاهده ژنوتیپ‌ها از رنگ‌آمیزی نیترات نقره استفاده شد. ارتباط آماری بین ژنوتیپ‌های مشاهده شده در ژن لپتین با رویه مختلط نرم‌افزار SAS v9.1 و با مدل آماری زیر مورد بررسی قرار گرفت:

$$Y_{ijkL} = \mu + G_i + FYS_j + S_k + D_l + e_{ijkl}$$

در این مدل: Y_{ijkL}) اثر فنوتیپی صفت؛ µ) اثر میانگین جامعه؛ G_j) اثر ثابت ژنوتیپ ژن لپتین؛ FYS_j) اثر ثابت گله، سال، فصل؛ S_k) اثر ثابت جنس؛ D_l) اثر ثابت تیپ تولد؛ e_{ijkl}) خطای باقی مانده تکثیر قطعه ۲۷۵ جفت بازی از اگزون سه۳ ژن لپتین به کمک واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز با استفاده از آغازگرهای اختصاصی به خوبی صورت گرفت و صحت طول قطعات تکثیر شده با ژل آگارز یک درصد تایید شد (شکل۱).

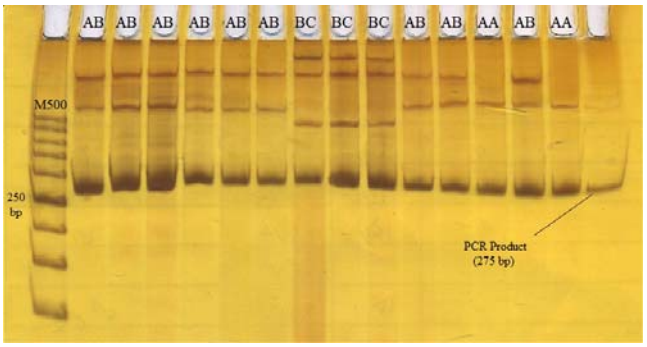


شکل۱- نتایج انجام PCR برای اگزون شماره ۳ ژن لپتین به همراه نشانگر SM 0221 در سمت چپ

جدول۱- فراوانی‌های ژنی و ژنوتیپی مربوط به ژن لپتین

فراوانی ژنی		فراوانی ژنوتیپی				
A	B	C	AA	AB	BC	X^2
۰/۴۳۷	۰/۳۵	۰/۲۱۳	۰/۳	۰/۲۷۵	۰/۴۲۵	۱۱۱/۳۴۵۹

برای جمعیت مورد مطالعه، بر اساس الگوهای باندی رویت شده (سه الگو) در ژل پلی‌اکریلامید، سه نوع ژنوتیپ AA، AB و BC به ترتیب با فراوانی ۰/۳، ۰/۲۷۵ و ۰/۴۲۵ مشاهده و برآورد شد (شکل۲). پارامترهای مربوط به ژنتیک جمعیت و معیارهای مربوط به چندشکلی ژن لپتین با استفاده از نرم‌افزار Pop GENE 32 محاسبه شد که در جدول‌های ۱ و ۲ ارایه شده است. آزمون کای اسکوار نشان داد که جمعیت مورد مطالعه برای این جایگاه ژنی در تعادل هاردی وینبرگ نبود که این امر می‌تواند به دلیل کوچک بودن جمعیت و اعمال گزینش در آن باشد.



شکل ۲- الگوهای باندی (۳ الگو که ژنوتیپ AA متعلق به الگوی تک باندی، ژنوتیپ AB متعلق به الگوی دو باندی و ژنوتیپ BC متعلق به الگوی سه باندی) حاصل از ژل آکریل‌آمید و رنگ آمیزی با نیترات نقره به همراه نشانگر M500 در سمت چپ

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-09-01]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.4.13.8]

نتایج این تحقیق در تعداد الگوهای مشاهده شده با نتایج (2006) Boucher et al. (گوسفندان سافولک و دورست هورن) و (2010) Tahmoorespur et al. (گوسفندان بلوچی) مطابقت داشت.

جدول۲- پارامترهای تنوع ژنتیکی ژن لپتین

پارامترهای تنوع ژنتیکی	مقدار
آلل واقعی (Na)	۳
آلل موثر (Ne)	۲/۷۸
هتروزیگوتی مشاهده شده	۰/۷۰۰
هموزیگوتی مشاهده شده	۰/۳۰۰
هتروزیگوتی مورد انتظار	۰/۶۴۳
هموزیگوتی مورد انتظار	۰/۳۵۶
میانگین هتروزیگوتی	۰/۶۴۰
شاخص نئی (Nei)	۰/۶۴
شاخص شانون (I)	۱/۰۵
محتوای اطلاعات چندشکلی (PIC)	۰/۵۶۷

میانگین شاخص شانون (I) و نئی (Nei) به ترتیب ۱/۰۵ و ۰/۶۴ برآورد شد که نشان دهنده تنوع بالایی است (جدول۲). (2010) Shojaei et al. مقدار شاخص شانون را در بررسی چندشکلی اگزون سه ژن لپتین در گوسفند کرمانی به ترتیب ۰/۴۲ و ۰/۲۸ گزارش کردند و بیان کردند که جمعیت تحت مطالعه از تنوع خوبی برخوردار است. مقادیر میانگین و خطای استاندارد مربوط به ژنوتیپ‌های ژن لپتین مربوط به صفت وزن تولد بدن صفات رشد در جدول‌های ۳ آورده شده است. نتایج نشان داد که چندشکلی‌های مشاهده شده با صفات مذکور ارتباط آماری نداشت ($P>0/05$). Barzehkar et al. (2009) در تحقیقی که بر روی قطعه ۲۶۰ جفت بازی اگزون دو و بخشی از اگزون سه ژن لپتین سه نژاد گوسفند ایرانی (شال، زل و زندی) انجام دادند، گزارش کردند که چندشکلی A133G مشاهده شده با صفات لاشه (وزن کشتار، وزن لاشه سرد) و اجزای لاشه (کل چربی بدن و چربی دنبه) در گوسفندان نژاد شال و زل ارتباط معنی‌داری داشت و بره‌های دارای آلل G، دارای چربی لاشه بیشتری بودند. همچنین نتایج این محقیق نشان داد که چندشکلی A133G با صفات رشد (وزن تولد، وزن از شیرگیری، متوسط افزایش وزن روزانه قبل و بعد از دوره پروار و وزن هنگام شروع پروار)، صفات اجزای لاشه (گوشت لخم، استخوان، چربی پشت بدن، چربی داخل ماهیچه‌ای، و چربی محوطه بطنی) و صفات ترکیبات شیمیایی لاشه (چربی، پروتئین، خاکستر و آب) در هر سه نژاد شال، زل و زندی معنی‌دار نبود. Tahmoorespur et al. (2010) با بررسی قطعه ۲۷۵ جفت بازی از اگزون سه ژن لپتین گوسفند نژاد بلوچی گزارش کردند که چندشکلی مشاهده شده با صفات وزن تولد، وزن ۶ و ۹ و ۱۲ ماهگی ارتباط معنی‌داری نداشت اما با وزن از شیرگیری و ارزش اصلاحی برآورده شده برای این صفت دارای ارتباط معنی‌دار آماری بود. تاثیر عمده ژن لپتین بر بسیاری از صفات، این ژن را به یک ژن کاندیدا مهم تبدیل کرده است. Almeida et al. (2003) گزارش کردند، یک آلل از RFLP-Sau3AI ژن لپتین، باعث افزایش فاصله گوساله زائی به مدت ۸۱-۷۹ روز در گاوهای گوشتی می‌شود و انتخاب بر اساس جهش‌های این ژن، حداقل دو ماه فاصله نسلی را کاهش‌می‌دهد. Lagonigro et al. (2003) گزارش کردند گاوهایی که برای ژن لپتین با ژنوتیپ AT هستند نسبت به افراد با ژنوتیپ AA دارای ۱۹ درصد اشتهای بیشتری می‌باشند. Nazari et al. (2012) گزارش کردند که چندشکلی ژن لپتین با تولید شیر گاوهای هلشتاین ایران ارتباط معنی‌داری دارد و ژنوتیپ GG نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها دارای تولید شیر بیشتری است. Shojaei et al. (2010) ارتباط معنی‌داری بین چندشکلی‌های مشاهده شده در اگزون سه ژن لپتین گوسفند نژاد کرمانی و صفات رشد (وزن بدن در ۳، ۶، ۹ و ۱۲ ماهگی) گزارش کردند. همچنین برای این ناحیه از ژن لپتین گوسفند نژاد ماکویی چهار الگوی باندی گزارش شده که الگوی چهارم (BC) این ژن ارتباط معنی‌داری با وزن از شیرگیری داشت (Hajihosseinlo et al. 2012). افزایش دانش ما درباره چندشکلی‌های ژن‌های بزرگ اثر و بررسی ارتباط آنها با صفات مهم اقتصادی باعث شناسایی آلل‌های موثر و کاربرد آنها به عنوان نشانگر مولکولی در برنامه‌های انتخاب می‌شود. از این رو مطالعه همه جانبه این گونه ژن‌ها و بررسی تاثیر آنها بر صفات مهم می‌تواند به عنوان روشی سریع و کارآمد در برنامه‌های اصلاح نژادی به کار گرفته شود.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-09-01]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.4.13.8]

جدول۳- میانگین و خطای استاندارد برای صفت وزن بدن (kg) در سنین مختلف براساس SNP ژنوتیپ‌های LEP

جایگاه ژنی	ژنوتیپ	صفت وزن بدن در سنین مختلف				
		BW	WW	6MW	9MW	12MW
LEP	AA	3.805±0.213	23.130±1.028	31.088±1.535	39.706±1.644	42.266±1.803
	AB	3.848±0.192	22.388±0.927	30.966±1.384	37.976±1.482	44.483±1.625
	BC	4.022±0.198	22.755±0.956	32.383±1.428	39.532±1.529	46.559±1.677
	P-Value	0.376^{ns}	0.723^{ns}	0.427^{ns}	0.432^{ns}	0.360^{ns}

BW، WW، 6MW، 9MW و 12MW به ترتیب وزن تولد، وزن از شیرگیری، وزن ۶ ، ۹ و ۱۲ ماهگی ns) عدم وجود رابطه معنی‌دار

در این تحقیق بین چندشکلی‌های مشاهده شده و صفات مورد بررسی ارتباط معنی‌داری مشاهده نشد که دلیل آن می‌تواند عدم تغییر شکل فضایی هورمون لپتین به واسطه خاموش بودن جهش-های تک نوکلئوتیدی در طول این ژن باشد. به هرحال، بررسی بیشتر این ژن به وسیله نشانگرهای مولکولی دیگر، به همراه استفاده تعداد بیشتری از دام و رکوردهای عملکردی بیشتر، می-تواند اطلاعات بیشتر و دقیق‌تری را حاصل نماید که در امر اصلاح نژاد دام مفید واقع شود. از طرفی حفظ ذخائر ژنتیکی کشور و مطالعه و بررسی صفات مهم اقتصادی در نژادهای بومی کشور که از ظرفیت ژنتیکی بالای برخوردارند، نیازمند انجام این گونه تحقیقات می‌باشد.

منابع

Almeida SEM, Almeida EA, Moraes JCF, Weimer TA (2003) Molecular markers in the leptin gene and reproduction performance of beef cattle. Journal Animal Breed Genetics 2: 106-113.

Barzehkar R, Salehi A, Mahjoubi F (2009) Polymorphisms of the ovine *leptin* gene and its association with growth and carcass traits in three Iranian sheep breeds. Iranian Journal of Biotechnology 7: 241-246, October 2009.

Blache D, Tellam RL, Chagas LM, Blckberry MA, Verco PE, Martin GB (2000) Level of nutrition affects leptin concentration in plasma and cerebrospinal fluid in sheep. Journal of Endocrinology 165: 625-637.

Bonnet M, Gourdou I, Leroux C, Chilliard Y, Djiane J (2002) Leptin expression in the ovine mammary gland: putative sequential involvement of adipose, epithelial, and myoepithelial cells during pregnancy and lactation. Journal Animal Scieance 80: 723-728.

Boucher D, Palin MF, Castonguay F, Gariépy C, Pothier F (2006) Detection of polymorphisms in the ovine leptin(*LEP*) gene: Association of a single nucleotide polymorphism with muscle growth and meat quality traits. Canadian Journal Animal Science 86: 31-35.

Buchanan FC, kessel V, Waldner AG (2003) Hot topic. An association between a leptin single polymorphism and milk and protein yield. Journal of Dairy Scieance 86: 3164-3166.

Chilliard Y, Ferlay A, Faulconnier Y, Bonnet M, Rouel J, Bocquier F (2000) Adipose tissue metabolism and its role in adaptations to undernutrition in ruminants. Proceedings of the Nutrition Society 59: 127-134.

Delavaud C, Ferlay A, Faulconnier Y, Bocquier F, Kann G, Chilliard Y (2002) Plasma leptin concentration in adult cattle: Effects of breed, adiposity, feeding level, and meal intake. Journal Animal Scieance 80: 1317-1328.

Fantuzzi G, Faggioni R (2000) Leptin in the regulation of immunity, inflammation and hematopoiesis. Journal of Leukocyte Biology 68: 437-446.

Friedman JM, Halaas JL (1998) Leptin and the regulation of body weight in mammals. Nature 395: 763-770.

Geary TW, McFadin EL, MacNeil DM, Grings EE, Short RE, Funston RN, Keisler DH (2003) Leptin as a predictor of carcass composition in beef cattle. Journal Animal Scieance 81: 1-8.

Hajihosseinlo A, Hashemi A, Sadeghi S (2012) Association between polymorphism in exon 3 of leptin gene and growth traits in the Makooei sheep of Iran. Livestock Research for Rural Development 24:9-14.

Harigaya A, Nagashima K, Nako Y, Morikawa A (1997) Relationship between concentration of serum leptin and fetal growth. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 82: 3281-3284

Henson MC, Castracane VD (2003) Leptin and Reproduction. Kluwer Academic/Plenum, New York.

Heravi Moussavi A, Ahouei M, Nassiry MR, Javadmanesh A (2006) Association of leptin polymorphism with production, Reproduction and Plasma Glucose Level in Iranian Holstein Cows. Asian-Aust. Journal of Biological Chemistry 5 : 627-631.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-09-01]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.4.13.8]

Iranpur V, Esmailizadeh MAK (2010) Rapid extraction of high quality DNA from whole blood stored at 4ºC for long period. Protocol online.

Lagonigro RP, Wiener F, Pilla JA, Woolliams J (2003) A new mutation in the coding region of the bovine leptin gene associated with feed intake. Animal Genetic 34: 371-374.

Liefers SC (2004) Physiology and genetics of leptin in periparturient dairy cows. Ph.D thesis. Wageningen University. page 4.

Liefers SC, te Pas MFW, Veerkamp RF, van der Lende T (2002) Associations between leptin gene polymorphisms and production, liveweight, energy balance, feed intake and fertility in Holstein heifers. Journal Dairy Scieance 85: 1633-1638.

Nazari M, Rostamzadeh J, Rashidi A, Azizi O, Karimi Kurdistani Z (2012) Evaluation of Leptin gene polymorphism and its correlation with milk yield in Holstein cattle. In: Proceedings of 5th Iranian Congress on Animal Science. Iran, Esfahan Industrial University 191-195. (In Farsi).

Pelleymonunter MA, Cullen MJ, Baker MB, Hetch R, Winters D, Boone T, Collins F (1995) Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. Science 269: 540-543.

Reitman ML, Marcus-Samuels B, Gavrilova O (2001) Leptin and its role in pregnancy and fetal development--an overview. Biochemical Society Transactions 29:68-72.

Shojaei M, Mohammad Abadi M, Asadi Fozi M, Dayani O, Khezri A, Akhondi M (2010) Association of growth trait and *Leptin* gene polymorphism in Kermani sheep. Journal of Cell and Molecular Research 2:67-73.

Tahmoorespur M, Taheri A, Vafaye Valeh M, Saghhi DA, Ansary M (2010) Assessment relationship between leptin and ghrelin gene polymorphisms and estimated breeding values (EBVs) of growth traits in Baluchi sheep. Journal of Animal and Veterinary Advances 9: 2460-2465.

Vanderlande T, Te Pas MF, Veerkamp RF, Liefers SC (2005) Leptin gene polymorphisms andtheir phenotypic associations. Vitamins and Hormones 71: 373-404.

Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM (1994) Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. Nature 372: 425 432.

Zhou H, Hickford JGH, Gong H (2009) Identification of Allelic Polymorphism in the Ovine Leptin Gene. Molecular Biotechnology 41: 22-25.

Yazdani H, Rahmani HR, Edris MA, Dirandeh E (2010) Association between A59V polymorphism in exon 3 of leptin gene reproduction traits in cow of Iranian Holstein. African Journal of Biotecnology. 9: 599-600.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2025-09-01]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1393.9.4.13.8]