



## مقایسه ساختارهای ژنتیکی جایگاه های *SCD1* و *DGAT1* در بین جمعیت هلشتاین و سیمنتال

مصطفی رضایی<sup>۱</sup>، قدرت الله رحیمی<sup>۱</sup>، زربخت انصاری<sup>۱</sup>، ربیع رهبر<sup>۲\*</sup>

<sup>۱</sup> به ترتیب دانش آموخته کارشناسی ارشد، استاد و استادیار آزمایشگاه ژنتیک مولکولی و بیوتکنولوژی دام، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران.

<sup>۲</sup> دستیار علمی، گروه کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۰۴/۱۷، تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۳/۱۲

### چکیده

ارتباط چند شکلی ژن های دی آسیل گلیسرول آسیل کوآنزیم آ ترانسفراز ۱ و استروئیل کوآنزیم آ دی استراز با ارزش غذایی شیر به اثبات رسیده است. هدف از پژوهش حاضر، مقایسه ساختارهای ژنتیکی جایگاه های *SCD1* و *DGAT1* در بین جمعیت هلشتاین و سیمنتال می باشد. ۱۰۲ راس گاو نژاد هلشتاین و سیمنتال مازندران به طور تصادفی انتخاب و خونگیری از سیاهرگ گردنی انجام گرفت. در هضم محصولات PCR جایگاه *SCD1* (قطعه ۷۲۵ جفت بازی) با آنزیم *Alu1*، دو آلل *V* و *A* با فراوانی های ۷۹ و ۲۱ درصد و ۹۲ و ۸ درصد به ترتیب در نژادهای هلشتاین و سیمنتال شناسایی شد. در هضم قطعه ۳۲۵ جفت بازی این ژن با آنزیم *Nco1*، دو آلل *C* و *T* هر یک با فراوانی به ترتیب ۴۰ و ۶۰ درصد در نژاد هلشتاین و ۴۵ و ۵۵ درصد در نژاد سیمنتال مشاهده شد. از تکثیر جایگاه *DGAT1*، دو آلل *A* و *K* با فراوانی ۶۰ و ۴۰ درصد و ۵۷ و ۴۳ درصد به ترتیب در نژادهای هلشتاین و سیمنتال شناسایی شد. نتیجه مقایسه آماری وفور آللی و ژنوتیپی جایگاه های مورد مطالعه در بین دو نژاد نشان داد که جایگاه *DGAT1* و جایگاه دوم ژن *SCD1* از لحاظ فراوانی ژنی در بین دو نژاد یکسان و از لحاظ فراوانی ژنوتیپی در جایگاه *DGAT1* متفاوت و در جایگاه *SCD1* یکسان هستند. با توجه به تنوع مشاهده شده، می توان نتیجه گرفت که جایگاه های مورد مطالعه برای انتخاب دام های دارای ژنوتیپ مطلوب برای افزایش تولید اسیدهای چرب مفید شیر، مناسب می باشند.

واژه های کلیدی: *SCD1*، *DGAT1*، PCR، هلشتاین، سیمنتال.

## مقدمه

یک باند دوگانه در موقعیت  $\Delta:9$  در طیف وسیعی از اسیدهای چرب بازی می‌کند و بیشترین نقش را در تبدیل سوپستراهای اسیدهای چرب acyl-coA, C14, C16, C18, c18:1 trans 11 C 14:1 C16:1, C18:1 به ترتیب تبدیل به cis9, C18:2 cis9trans11 دارد (Ntambi *et al.*, 2002; Corl *et al.*, 2001). اسید لینوئیک کانژوکه که در فرآیندهای ضد سرطانی نقش دارد توسط ژن استروئیل کوآ دی استراز ساخته می‌شود و در شیر نشخوارکنندگان به وفور وجود دارد (Bauman *et al.*, 2006). اگر فعالیت استروئیل کوآ دی استراز در غدد پستانی افزایش یابد مقدار کل اسیدهای چرب غیر اشباع با یک پیوند دوگانه افزایش و در نتیجه میزان اسید چرب اشباع در شیر کاهش می‌یابد. این ژن همچنین یک جزء کلیدی در مسیر سیگنالی ژن لپتین به حساب می‌آید و برای تنظیم آن نیز بسیار مهم است (Chen *et al.*, 2005). این ژن از اولین ژن‌های کاندیدایی بود که برای تغییر نسبت اسیدهای چرب اشباع به غیر اشباع در شیر و همچنین در افزایش اسید چرب لینوئیک کانژوکه مورد توجه محققین قرار گرفت (Islas-Trejo *et al.*, 2006). جایگاه استروئیل کوآ دی استراز روی کروموزوم ۲۶ گاو قرار دارد که طول آن ۱۷۰۸۸ جفت باز است. توالی کامل mRNA استروئیل کوآ دی استراز در گاو طولی برابر ۵/۱ کیلو جفت باز دارد که یک پروتین با ۳۵۵ اسید آمینه را تولید می‌کند (Kaupé *et al.*, 2007). ارتباط دی آسیل گلیسرول آسیل کوآنزیم آ ترانسفراز ۱ با

از آنجا که عوامل محیطی در بروز صفات، به ویژه صفات اقتصادی موثرند، لذا شناسایی ژن‌های مرتبط با آن‌ها، برای ایجاد تغییرات مطلوب، افزایش سرعت پیشرفت ژنتیکی و انتخاب مستقیم موجودات برای این گونه صفات ضروری است (Weller *et al.*, 1990). شناخت ژن‌های مرتبط با صفات اقتصادی، تنها به کمک نشانگرهای ژنتیکی امکان پذیر است که به طور چشم گیری می‌توانند سرعت پیشرفت ژنتیکی حیوانات اهلی را افزایش دهند (Yangerman *et al.*, 2004; Li *et al.*, 2003). ژن دی آسیل گلیسرول آسیل کوآنزیم آ ترانسفراز<sup>۱</sup> آنزیمی را کد می‌کند که جزء اصلی واکنش تشکیل چربی یعنی تری گلیسیریدها را کاتالیز می‌کند. لذا، به عنوان یک ژن کانیدیدا برای درصد چربی شیر می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد. در اثر فقدان این آنزیم، نقص در سنتز تری گلیسیریدها در غده پستان به وجود می‌آید (Pareek *et al.*, 2005). دی آسیل گلیسرول آسیل کوآنزیم آ ترانسفراز ۱ در گاو شامل ۱۷ اگزون و ۱۶ اینترون است، که روی کروموزوم ۱۴ قرار دارد. این ژن در گاو پروتئینی با ۴۸۹ اسید آمینه را کد می‌کند. همچنین مشخص شد که آنزیم استروئیل کوآ دی استراز<sup>۲</sup> در بین چندین آنزیم شناخته شده موثر بر لیپیدها در غدد پستانی، یک نقش کلیدی در اضافه کردن

<sup>1</sup> Di acyl Glycerol Acyl coA

Transferase1(DGAT1)

<sup>2</sup> Stearoyl CoA Desturase1(SCD1)

که در گاوهای سیاه ژاپنی آلل C بیشترین فراوانی را در ارتباط با افزایش اسیدهای چرب غیر اشباع با یک پیوند دوگانه در لاشه را به دنبال داشته و لذا نتیجه گیری شده است که این ژنوتیپ می تواند ابزار مفیدی برای انتخاب‌های ژنتیکی در رابطه با کیفیت مطلوب لاشه باشد. (Kharati et al., 2011)، به بررسی تنوع ژنتیکی جایگاه ژن DGAT1 و میزان ارتباط آن با تولید شیر در جمعیت گاوهای هلشتاین ایران پرداختند. آنها میزان اثر این ژن را روی تولید شیر ۳۰۵ روز در سطح ۰/۱ درصد معنی دار گزارش کردند. در تحقیق دیگری Kharati et al. (2012) به بررسی ارتباط چندشکلی آللی ژن DGAT1 با بیماری ورم پستان در گاوهای هلشتاین ایران پرداختند. آنها دریافتند که هیچ گونه ارتباط معنی داری بین ژنوتیپ های مشاهده شده و سلول های بدنی شیر وجود ندارد. هدف از این پژوهش توجه به اهمیت چند شکلی آللی در دو جایگاه ژنی دی آسیل گلیسرول آسیل کوآنزیم آ ترانسفراز ۱ و استروئیل کوآنزیم آ دی استراز با صفات اقتصادی و صفات مرتبط با ارزش غذایی شیر، شناسایی چند شکلی آللی در این دو جایگاه در جمعیت گاوهای هلشتاین و سیمتال بود.

#### مواد و روشها

نمونه گیری، استخراج DNA و انتخاب آغازگرهای اختصاصی

در این پژوهش، به طور تصادفی از ورید زیر دمی ۶۷ راس گاو هلشتاین و ۳۵ راس گاو

درصد چربی شیر در گاو به اثبات رسیده است (Winter et al., 2002). جایگزینی لیزین ۲۳۲ توسط آلانین (K233A) در آگزون ۸ به عنوان یک چندشکلی در این ژن شناخته شده که با تولید و ترکیبات شیر در گاوهای هلشتاین کشورهای نیوزلند، آلمان مرتبط بوده است (Thaller et al., 2003; Hori-Oshima et al., 2003). در تحقیقی (Winter et al., 2002)، مشخص کردند که بین چند شکلی های ژن دی آسیل گلیسرول آسیل کوآنزیم آ ترانسفراز ۱ و درصد چربی شیر رابطه معنی دار وجود دارد. همچنین گزارش شده است که آلل لیزین با افزایش درصد چربی و آلل آلانین با کاهش درصد چربی و افزایش تولید شیر در ارتباط است (Hori-Oshima et al., 2003). برای ژن استروئیل کوآنزیم آ دی استراز ۸ چند شکلی تک نوکلئوتیدی در گاوهای هلشتاین، جرسی و بران سوئیس گزارش شده است (Medrano et al., 2003). سه چند شکلی تک نوکلئوتیدی در آگزون پنج و پنج چند شکلی تک نوکلئوتیدی دیگر در ناحیه غیر قابل ترجمه این ژن شناسایی شده است (Friedman., 2004; Stone et al., 2004). نشان دادند که سه چند شکلی تک نوکلئوتیدی در آگزون پنج باعث به وجود آوردن دو هاپلوتیپ A و B می شود که در سومین چند شکلی تک نوکلئوتیدی جایگزین شدن والین (ال T) با آلانین (ال C) را به دنبال دارد. آنها دریافتند که افزایش والین در زنجیره پروتئین باعث تغییر فعالیت کاتالیزوری آنزیم در مقایسه با آلانین می شود. گزارش شده است

روشن نمکی بهینه یافته که توسط Miller *et al.* (1988) ارائه شد، انجام گرفت. یک قطعه از ناحیه اگزون ۸ ژن DGAT-1 به طول ۱۷۶ جفت باز و دو قطعه از اگزون ۵ ژن SCD1 به طول ۷۲۵ و ۳۹۵ جفت باز توسط آغازگرهای اختصاصی تکثیر شدند (جدول ۱).

سیمتال موجود در شرکت شیر و گوشت مهدشت مازندران و گاوداری سیمتال شهرستان آمل خون گیری انجام شد. نمونه های خون در ظرف حاوی یخ قرار داده شد و به آزمایشگاه انتقال یافت و تا زمان استخراج DNA در ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شد. استخراج DNA به

جدول ۱- توالی آغازگر ها مورد استفاده برای ژن های DGAT1 و SCD1.

Table1. Sequence of used primers for SCD1 and DGAT1 genes.

منبع Reference	موقعیت روی ژن Position on gene	اندازه قطعه (جفت باز) Fragment size(bp)	توالی آغازگر ها Sequence of primers	نام ژن Gene
18	اگزون 8	176	F:5'-cttgctcgtagctttggcagg-3' R:5'-cgaagaggaagtagtagatc-3'	DGAT1
12	اگزون 5	725	F: 5'- cagtccttgctccaccactt-3' R: 5'- agcatttggtgcttctt -3'	SCD1
	اگزون 5	395	F: 5'- cccattcgctctgttctgt-3' R: 5'-gtcttgctgtgactgctga-3'	

درجه سانتی گراد در ۱ دقیقه برای اتصال، ۷۲ درجه سانتی گراد در ۲ دقیقه برای بسط و ۷۲ درجه سانتی گراد در ۷ دقیقه برای بسط نهایی انجام شد. در بررسی چند شکلی ژن دی آسیل گلیسرول آسیل کوآنزیم A ترانسفراز ۱ از آنالیز SSCP روی ژل پلی آکرلامید ۱۰ درصد و برای دو جایگاه مختلف ژن SCD1 از آنزیم های محدود کننده *NcoI* و *AluI* استفاده شد. برای انجام هضم آنزیمی در حجم نهایی واکنش ۱۴ میکرولیتر، میزان محصول PCR و آنزیم مورد استفاده به ترتیب ۷ و ۰/۷ میکرولیتر در نظر

تکثیر جایگاه های ژنی با استفاده از واکنش زنجیره ای پلی مرز  
واکنش زنجیره ای پلیمرز در حجم ۲۵ میکرولیتر شامل ۲۰۰ نانوگرم نمونه DNA، ۱۰ پیکومول بر میکرولیتر از هر آغازگر، ۲۰۰ میکرومول از هر یک از نوکلئوتید تری فسفات، ۱ واحد آنزیم پلی مرز، ۲/۵ میلی مولار  $MgCl_2$  و بافر PCR (1x) انجام شد. تکثیر قطعات مورد نظر در دو ژن در ۳۵ چرخه با شرایط دمایی ۹۴ درجه سانتی گراد در ۵ دقیقه برای واسرشته سازی اولیه، ۹۴ درجه سانتی گراد در ۲ دقیقه برای واسرشته سازی، ۵۶

افزار POPGENE32 و برای مقایسه وفور ژنی و ژنوتیپی در بین دو نژاد به ترتیب از روش دقیق فیشر و آزمون مربع-کای و از بسته نرم افزاری SAS استفاده شد.

### نتایج

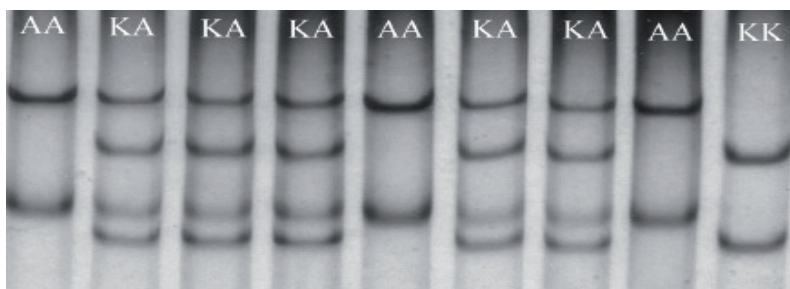
#### تعیین ژنوتیپ

قطعه تکثیر شده در جایگاه دی اسیل گلیسرول اسیل ترانسفراز که قسمتی از اگزون ۸ و شامل ۱۷۶ جفت باز بود، با استفاده از روش PCR-SSCP آنالیز شد. در این تحقیق با ایجاد الگوهای متفاوت باندی دو آلل A و K و سه ژنوتیپ AA، AK و KK مشاهده شد (شکل ۱).

گرفته شد (نسبت ۱۰ به ۱). همچنین ۲ میکرولیتر از بافر آنزیم به حجم نهایی واکنش اضافه شد و سرانجام توسط آب مقطر حجم نهایی به ۱۴ میکرولیتر افزایش یافت. نمونه‌ها در بن‌ماری و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ ساعت قرار گرفت. سپس نمونه‌ها از بن‌ماری خارج و روی ژل آگارز ۲ درصد الکتروفورز و بعد از رنگ‌آمیزی، محصولات هضم مورد شناسایی قرار گرفتند.

#### آنالیز آماری

در این تحقیق به منظور محاسبه فراوانی های ژنی و ژنوتیپی در جایگاه های مورد مطالعه و همچنین برای بررسی تعادل هاردی-واینبرگ در هر یک از جایگاه ها در دو جمعیت، از نرم

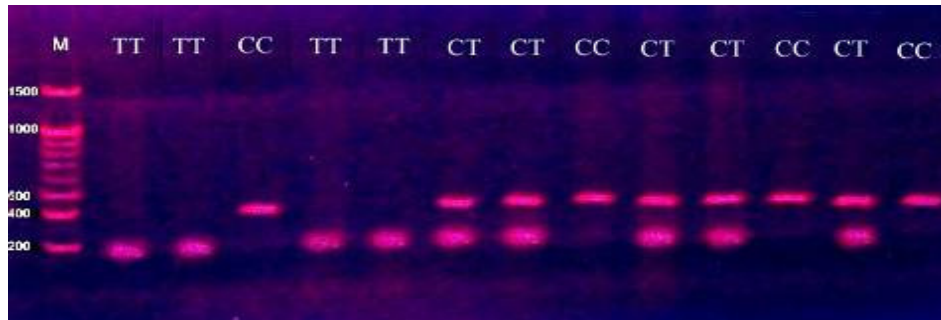


شکل ۱- نمونه ای از ژنوتیپ های مشاهده شده در جایگاه DGAT1.

Figure 1-Sample of observed genotypes in DGAT1 locus.

جایگاه برش یک قطعه ۷۲۵ جفت بازی روی ژل آگارز مشاهده شد. در شکل ۲ نمونه هایی از محصولات هضم برای این قطعه ژن SCD1 مشاهده می شود.

برای هضم آنزیمی قطعه ۷۲۵ جفت بازی ژن استروئیل کوآدی استراز، از آنزیم برشی *AluI* استفاده شد. در آلل V با یک جایگاه برش دو قطعه ۴۷۸ و ۲۴۷ جفت بازی و در آلل A بدون



شکل ۲- نمونه هایی از محصولات هضم برای قطعه ۷۲۵ جفت بازی ژن SCD1.

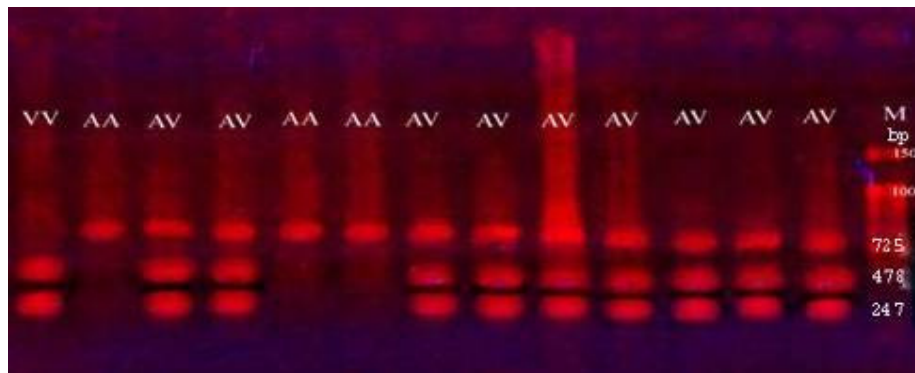
Figure 2- Samples of digested productions for 725bp fragment of SCD1 gene.

فراوانی ژنی و ژنوتیپی

جایگاه ژن دی آسیل گلیسرول آسیل کوآنزیم آ  
ترانسفراز

با توجه به الگوی مشاهده شده روی ژل پلی اکریل آمید پس از تک رشته ای کردن محصول PCR و با شمارش مستقیم، فراوانی های ژنی و ژنوتیپی محاسبه شد (جدول ۲). آنالیز داده ها نشان داد که جایگاه ژنی مورد نظر در هر دو جمعیت در تعادل هاردی-واینبرگ قرار ندارد.

برای هضم آنزیمی قطعه ۳۹۵ جفت بازی ژن استروئیل کوآ دی استراز، از آنزیم برشی *NcoI* استفاده شد. در آلل T با یک جایگاه برش دو قطعه ۱۹۰ و ۲۰۵ جفت بازی و در آلل C بدون جایگاه برش برای آنزیم، یک باند ۳۹۵ جفت بازی روی ژل آگارز مشاهده شد. در شکل ۳ نمونه هایی از محصولات هضم برای این قطعه مشاهده می شود.



شکل ۳- نمونه هایی از محصولات هضم برای قطعه ۳۹۵ جفت بازی ژن SCD1.

Figure 3- Samples of digested productions for 395bp fragment of SCD1 gene.

## جدول ۲- درصد فراوانی ژنی و ژنوتیپی جایگاه ژن DGAT1.

Table 2- Frequency percent of gene and genotype for DGAT1 gene locus.

فراوانی آلی		فراوانی ژنوتیپی			نژاد
Allelic frequency		Genotype frequency			Breed
A	K	AA	AK	KK	
0.57	0.43	0.35	0.44	0.21	سیمنتال Simmental
0.6	0.4	0.48	0.34	0.18	هلشتاین Holstein

## جایگاه اول استروئیل کوآ دی استراز

با توجه به الگوی مشاهده شده روی ژل  
اگاز پس از هضم آنزیمی محصول PCR و با  
شمارش مستقیم، فراوانی های ژنی و ژنوتیپی  
محاسبه شد (جدول ۳). این جایگاه ژنی در دو  
جمعیت نژاد هلشتاین و سیمنتال در تعادل  
هاردی- واینبرگ قرار داشته است.

## جایگاه دوم ژن استروئیل کوآ دی استراز

با توجه به الگوی مشاهده شده روی ژل  
اگاز پس از هضم آنزیمی محصول PCR و با  
شمارش مستقیم، فراوانی های ژنی و ژنوتیپی  
محاسبه شد (جدول ۴). جایگاه ژنی مورد نظر  
در دو جمعیت نژاد هلشتاین و سیمنتال در تعادل  
هاردی- واینبرگ قرار داشته است.

## جدول ۳- فراوانی ژنی و ژنوتیپی به دست آمده از جایگاه اول ژن SCD1.

Table 3- Resulted gene and genotype frequency of first locus of SCD1 gene.

فراوانی آلی		فراوانی ژنوتیپی			نژاد
Allelic frequency		Genotype frequency			Breed
A	V	AA	AV	VV	
0.08	0.92	0	0.16	0.84	سیمنتال Simmental
0.21	0.79	0.23	0.43	0.34	هلشتاین Holstein

مقایسه وفور آلی و ژنوتیپی جایگاه های مورد  
مطالعه در بین دو نژاد

مقایسه آماری وفور آلی و ژنوتیپی  
جایگاههای مورد مطالعه در بین دو نژاد نشان می  
دهد که جایگاه DGAT1 و جایگاه دوم ژن  
SCD1 از لحاظ فراوانی ژنی در بین دو نژاد  
یکسان و از لحاظ فراوانی ژنوتیپی در جایگاه

DGAT1 متفاوت و در جایگاه SCD1 یکسان  
هستند. در حالی که در جایگاه اول ژن SCD1  
فراوانی ژنی و ژنوتیپی در دو نژاد مختلف،  
متفاوت می باشد.

جدول ۴- فراوانی ژنی و ژنوتیپی به دست آمده از جایگاه دوم ژن SCD1.

**Table -4 Resulted gene and genotype frequency of second locus of SCD1 gene.**

فراوانی آلیلی		فراوانی ژنوتیپی			نژاد
Allelic frequency		Genotype frequency			Breed
C	T	CC	CT	TT	
0.44	0.56	0.22	0.44	0.34	سیمنتال Simmental
0.4	0.6	0.2	0.4	0.4	هلشتاین Holstein

۸ جایگاه دی اسیل گلیسرول اسیل ترانسفراز در نژاد گاوهای گوشتی بلژیکی، گلبوه، هرفورد، پینزگارو سلاونین سیمین آشکار سازند. در چندین گزارش آمده است که فراوانی آلل K دامنه ای از ۲۷ تا ۶۵ درصد را در گاوهای هلشتاین فریزین دارد. همچنین آنالیز چند شکلی در دو گروه از گاوهای نر هلشتاین فریزین آلمانی که بین سالهای ۱۹۹۳ تا ۱۹۹۸ و ۲۰۰۱ به دنیا آمده بودند، نشان داد که احتمالاً این پیوستگی در افزایش آلل A در گاوهای نر در طول این سال ها به دلیل انتخاب پیوسته برای افزایش مقدار پروتئین در شیر بوده است. Hori-Oshima *et al.* (2003)، در پژوهشی در گاوهای مکزیکی فراوانی ژنوتیپی AA را ۶۶ و AK را ۳۲ و KK را ۲ درصد را در قسمتی از اگزون ۸ جایگاه دی اسیل گلیسرول اسیل ترانسفراز برآورد کردند. Kharati *et al.* (2011)، به بررسی تنوع ژنتیکی جایگاه ژن DGAT1 و میزان ارتباط آن با تولید شیر در جمعیت گاوهای هلشتاین ایران پرداختند. آنها میزان اثر این ژن را روی تولید شیر ۳۰۵ روز در سطح ۰/۱ درصد معنی دار گزارش کردند. در

بحث

جایگاه دی اسیل گلیسرول اسیل کوآنزیم آ ترانسفراز

در پژوهشی Joanna Nowacka *et al.*

(2008)، با دو روش PCR-RFLP و PCR-SSCP تعداد ۸۹ گاو نر هلشتاین فریزین لهستانی را در ژن دی اسیل گلیسرول اسیل کوآنزیم آ ترانسفراز مورد بررسی قرار دادند. دو آلل A و K را با فراوانی به ترتیب ۵۴ و ۴۶ درصد شناسایی کردند که ژنوتیپ KK نسبت به دو ژنوتیپ دیگر AA و AK با نسبت بالای پروتئین و محصول شیر در ارتباط بود. انجام SSCP در آزمایش این محققین نتایج آزمون RFLP را تایید کرد. در آزمایشات Ripoli *et al.* (2006)، با روش PCR-SSCP فراوانی ژنوتیپی AA، AK و KK به ترتیب ۱۸، ۵۵ و ۲۷ بود که با نتایج Kaupe *et al.* (2007)، با روش PCR-RFLP که فراوانی ژنوتیپی به ترتیب ۲۳،۵۰ و ۲۷ درصد را در قسمتی از اگزون ۸ جایگاه دی اسیل گلیسرول اسیل ترانسفراز برآورد کرده بودند یکسان بود. Kaupe *et al.* (2007)، نتوانستند آلل K را در قسمتی از اگزون



تحقیق دیگری (Kharati et al. (2012) به بررسی ارتباط چندشکلی آلی ژن *DGATI* با بیماری ورم پستان در گاوهای هلشتاین ایران پرداختند. آنها دریافتند که هیچ گونه ارتباط معنی داری بین ژنوتیپ های مشاهده شده و سلول های بدنی شیر وجود ندارد.

### جایگاه استروئیل کوآ دی استراز آغازگر اول و دوم

در پژوهشی (Mele et al. (2007) سه الگوی متفاوت باندی را در اگزون ۵ ژن استروئیل کوآ دی استراز توسط روش PCR-SSCP نشان دادند. تک باندهایی که در بالاترین و پایین ترین قسمت قرار داشتند به ترتیب ژنوتیپ هموزایگوس های VV و AA و دو باند نزدیک به هم ژنوتیپ هتروزایگوس (AV) بوده است. این ژنوتیپ ها با توالی یابی DNA نیز دقیقاً مشخص و تأیید شده است. در گاوهای هلشتاین ایتالیایی فراوانی ژنوتیپ های مشاهده شده با این روش به ترتیب ۲۷ درصد (AA)، ۶۰ درصد (AV) و ۱۳ درصد (VV) برآورد شده بود به طوریکه این ژنوتیپ ها در تعادل هاردی وینبرگ قرار نداشتند. این نتایج با نتایج بدست آمده در تحقیق (Taniguchi et al. (2004 در اگزون ۵ ژن استروئیل کوآنزیم آ دی استراز مطابقت اما با نتایج بدست آمده در مطالعه ما در هر دو نژاد سیمنتال و هلشتاین مغایرت داشت. دلیل آن می-تواند به عوامل متفاوتی از جمله میزان خلوص نژادی، شدت انتخاب، صفات تحت انتخاب، اندازه و یا تعداد نمونه ها بستگی داشته باشد. طی

مطالعاتی که (Komisarek et al. (2009 در اگزون ۵ ژن استروئیل کوآ دی استراز در جایگاه دوم با روش PCR-RFLP انجام دادند یک قطعه ۳۳۳ جفت بازی را تکثیر و با آنزیم برشی Hin6I دو قطعه ۳۰۶ و ۲۷ جفت بازی ایجاد که یک جایگزینی C/T را نشان داد. در مطالعات انجام گرفته توسط (Milanesi et al. (2009 روی چند شکلی استروئیل کوآ دی استراز در گاوهای ایتالیایی سه هاپلوتیپ آشکار ساختند که یکی از آنها صرفاً در نژاد بومی ایتالیایی وجود داشت و ارتباط معنی داری بین این هاپلوتیپ ها و اهداف انتخاب در این نژاد مشاهده نمودند. آنها با تکثیر یک قطعه ۵۵۲ جفت بازی از اگزون ۵ ژن استروئیل کوآ دی استراز در نژادهای مختلف ایتالیایی سه SNP را گزارش کردند که بیشترین فراوانی آلل A مربوط به نژاد گری آلبین (۸۹ درصد) و کمترین فراوانی مربوط به نژاد گوشتی مارچیگیانا (۳۳ درصد) بود. در نژاد هلشتاین ایتالیایی در اگزون ۵ ژن استروئیل کوآ دی استراز در جایگاه اول (۲۸ نمونه) فراوانی آلل A (۰/۷۱) برآورد شد که با نتایج بدست آمده در تحقیق ما (۰/۵۷) در نژاد هلشتاین و (۰/۸۰) در نژاد سیمنتال مغایرت داشت. (Moioli et al. (2007 با تکثیر یک قطعه ۲۱۲ جفت بازی در اگزون ۵ استروئیل کوآ دی استراز در جایگاه دوم و بررسی چند شکلی آن در سه نژاد گاو ایتالیایی شامل جرسی، پدمونتس و والدوستانا فراوانی آلل C را به ترتیب ۹۴، ۴۲ و ۶۵ درصد بدست آوردند. فراوانی این آلل با نژاد سیمنتال و هلشتاین در

طی یک برنامه منظم و بلند مدت، دام های دارای ژنوتیپ های مطلوب برای دیگر صفات مورد نظر را هم شناسایی و با انتخاب آن ها، میانگین گله را برای صفات مورد نظر در دوره های بعد بهبود بخشید. بنابراین با توجه به تنوع مشاهده شده در این مطالعه می توان نتیجه گرفت که جایگاه های مورد مطالعه برای انتخاب دام های دارای ژنوتیپ مطلوب برای افزایش تولید اسیدهای چرب مفید شیر، مناسب می باشند.

تحقیق حاضر تقریباً همانند نژاد پدومونتس ایتالیایی بود.

### نتیجه گیری

مطالعات مختلف نشان می دهد که در سالیان متمادی در کشور، به دلیل اهداف اصلاح نژادی و واردات وسیع اسپرم به منظور پیشرفت سریع ژنتیکی، هدف افزایش مقدار شیر بوده و به ترکیبات بسیار مهم آن از قبیل اسیدهای چرب مفید توجهی نشده است. در صورتی که می توان

### منابع

- Bauman DE, Mather IH, Wall RJ, Lock AL (2006). Major advances associated with the biosynthesis of milk. *Journal of Dairy Science* 89: 1235–1243.
- Chen N, Liu L, Zhang Y, Ginsberg HN, Yu YH (2005). Whole-body insulin resistance in the absence of obesity in FVB mice with overexpression of *Dgat1* in adipose tissue. *Diabetes* 54: 3379
- Corl BA, Baumgard LH, Dwyer DA, Griinari JM, Phillips BS, Bauman DE (2001). The role of  $\Delta 9$ -desaturase in the production of cis-9, trans-11 CLA. *Journal of Nutrition Biochemistry* 12: 622–630.
- Friedman J (2002). Fat in all the wrong places. *Nature* 415: 268–269.
- Hori-Oshima S, Barreras-Serrano A (2003). Relationship between *DGAT1* and *Pit1* genes polymorphism and milk yield in Holstein cattle. *Proceeding of western section, American society of animal science* 54.
- Islas-Trejo A, Fragment Johnson A, Medrano JF (2002). Genomic structure and expression of the bovine stearoyl-CoA desaturase gene. *Plant, Animal and Microbe Genomes Conference, San Diego*, pp.766
- Joanna Nowacka WA, Marek switonski T (2008). An effect of the *DGAT1* gene polymorphism on breeding value of Polish Holstein-Friesian sires. *Animal Science. Papers and Reports* 1: 17-23.
- Kaupe B, Brandt H, Prinzenberg EM, Erhardt G (2007). Joint analysis of the influence of *CYP11B1* and *DGAT1* genetic variation on milk production, somatic cell score, conformation, reproduction, and productive lifespan in German Holstein cattle. *Journal of Animal Science* 85: 11-21.
- Kharati Kopaei H, Mohammadabadi M, Ansari Mahyari S, Esmailizadeh Kashoyeh A, Torang A, Nikbakhti M (2011). Study of polymorphism of *DGAT1* gene and its association with milk production in Iranian Holstein cow's population. *Journal of Iran Animal Science Researches* 3: 185-192.
- Kharati Kopaei H, Mohammadabadi M, Torang A, Kharati Kopaei M, Esmailizadeh Kashoyeh A, (2012). Study of polymorphism association of *DGAT1* gene with mastitis disease in Iranian Holstein cow's population. *Journal of Modern Genetics* 7:101-104.

- Komisarek Z, Dorynek *et al* (2009). Effect of *ABCG2*, *PPARGC1A*, *OLR1* and *SCD1* gene polymorphism on estimated breeding values for functional and production traits in Polish Holstein-Friesian bulls. *Journal of Applied Genetics* pp. 125–132.
- Li C, Basarab J, Snelling WM, Benkel B, Murdoch B, Mansen C, Moore SS (2004). Assessment of positional candidate genes MYF-5 and IGF-1 for growth on bovine chromosome 5 in commercial lines of *Bos Taurus*. *Journal of Animal Science* 82: 1-7.
- Medrano JF, Islas-Trejo AD, Johnson AM, De Peters EJ (2003). Genomic structure and expression of the bovine stearoyl- CoA desaturase gene. GenBank accession, number AY241933. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/index.html> Sept. 2006.
- Mele M, Conte G, Castiglioni B, Chessa S, Macciotta NPP, Serra A, Buccioni A, Pagnacco G, Secchiari P (2007). Stearoyl-Coenzyme A Desaturase Gene Polymorphism and Milk Fatty Acid Composition in Italian Holsteins. *Journal of Dairy Science* 90: 4458–4465.
- Milanesi E, Nicoloso L, & Crepaldi P *et al* (2009). Stearoyl CoA desaturase (SCD) gene polymorphisms in Italian cattle breeds. *Journal of Animal Breed Genetics* pp 2668.
- Miller SA, Dykes DD, Paletsky HF (1988). A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acid Research* 16: 1214-1215.
- Moioli B, Contarini G, Avalli A, Catillo G, Orru L, De Matteis G, Masoero G, Napolitano F (2007). *Short Communication: Affect of Stearoyl-Coenzyme A Desaturase Polymorphism on Fatty Acid Composition of Milk*. *Journal of Dairy Science* 90: 3553–3558.
- Ntambi JM, Miyazaki M, Stoehr JP, Lan H, Kendzierski CM, Yandell BS, Song Y, Cohen P, Friedman JM, Attie AD (2002). Loss of stearoyl-CoA desaturase-1 function protects mice against adiposity. *Proceeding of the National Academy of Sciences. USA* 99: 11482–11486pp.
- Pareek CS, Czarik U, Zabolewicz T, Pareek RS, Walawski K (2005). DGAT K232A quantitative trait nucleotide polymorphism in Polish Black-and- White cattle. *Journal of Applied Genetics* 46: 85.
- Ripoli MV, Corva P, Giovambattista G (2006). Analysis of a polymorphism in the DGAT1 gene in 14 cattle breeds through PCR-SSCP methods. *Journal Research Veterinary Science* 80: 287-90.
- Stone SJ, Myers H, Brown BE, Watkins SM, Feingold KR, Elias PM, Farese RV (2004). Lipopenia and skin barrier abnormalities in DGAT2- deficient mice. *The Journal of Biological Chemistry* 279: 11767–11776.
- Taniguchi M, Utsugi T, Oyama K, Mannen H, Kobayashi M, Tanabe Y, Ogino A, Tsuji S (2004). Genotype of stearoyl-CoA desaturase is associated with fatty acid composition in Japanese Black cattle. *Mammalian Genome* 14: 142–148.
- Thaller G, Kramer W, Winter A, Kaupe B, Erhart G (2003). Effect of DGAT1 variants on milk production traits in German cattle breeds. *Journal of Animal Science* 81: 1911.
- Weller JI, Kashi Y, Soller M (1990). Power of daughter and granddaughter designs for determining linkage between marker loci and quantitative trait loci in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 73: 2525-2537.
- Winter A, Kramer W, Werner FAO, Kollers S, Kata S, Durstewitz G, Buitkamp J (2002). Association of a lysine-232/ alanine polymorphism in a bovine gene encoding acyl-CoA: diacylglycerol acyltransferase (DGAT1) with variation at a quantitative trait locus for milk fat content. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 14: 93-99.
- Yangerman SM, Oliver SP, Saxton AM, Edwards JL, Schrick FN, Davies CJ Pighetti GM (2003). A novel candidate genetic marker for mastitis resistance in jersey cattle. *Journal of Animal Science* 160: 69-73.

## Comparison of Genetic Structure of DGAT1 and SCD1 Loci between Holstein and Simmental Population

Rezaei M.<sup>1</sup>, Rahimi G.<sup>1</sup>, Ansari Z.<sup>1</sup>, Rahbar R.\*<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Laboratory for Molecular Genetics and Animal Biotechnology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Iran.

<sup>2</sup> Department of Agriculture, Payame Noor University, Tehran, Iran.

### Abstract

The association of genes polymorphism of DGAT1 and SCD1 has proved with milk nutritive value. The aim of the present study was the comparison of genetic structure of DGAT1 and SCD1 loci between Holstein and Simmental population. 102 Mazandaran Simmental and Holstein cows were randomly selected and done bleeding of neck vein. In digestion of SCD1 PCR products (725bp) with *AluI* enzyme, two alleles V and A were revealed with the frequency of 79 and 21 percent and 92 and 8 percent in Holstein and Simmental breeds, respectively. In digestion of the 325bp fragment of this gene with *NcoI* enzyme, two alleles of C and T were detected with the frequency of 40 and 60 percent and 45 and 55 percent in Holstein and Simmental breed, respectively. Two alleles of A and K were detected from amplification of DGAT1 locus with the frequency of 60 and 40 percent and 57 and 43 percent in Holstein and Simmental population, respectively. The result of statistical comparison of genotype and allele frequency in studied loci between two breeds indicates that DGAT1 locus and second locus of SCD1 gene are same as gene frequency between two breeds and are different as genotype frequency in DGAT1 locus and are same as genotype frequency in SCD1 locus. According to observed polymorphisms, we can result that studied loci are fit for selection of animals with favorite genotype for increasing of production of milk useful fatty acids.

**Key words:** DGAT1, SCD1, PCR, Holstein, Simmental.

\* Corresponding Author: Rahbar R.

Tel: 09111285120

Email: rahbarrabie@gmail.com