مجله بیوتکنولوژی کشاورزی

علمی-پژوهشی و ISC

شناسایی تنوع ژنتیکی و بررسی توالی نوکلئوتیدی ناحیه پروموتر ژن گیرنده هورمون رشد در گاوهای بومی استان کهکیلویه و بویر احمد

مصطفی محقق دولت آبادی*[1]، جواد حبیبی زاد[2]، فرحناز ایمانی خواه[3]

[1]استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج.

[2]دانشجوی دکتری و مربی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج.

[3]کارشناس ارشد اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج.

تاریخ دریافت: 1391/08/10، تاریخ پذیرش: 1392/01/30

چکیده

پروتئین گیرنده هورمون رشد یک گیرنده سطح سلولی برای هورمون رشد است که جهت انجام نقش هورمون رشد در بافت های هدف ضروری است. هدف تحقیق حاضر، شناسایی و بررسی تنوع ژنتیکی ناحیه پروموتر ژن گیرنده هورمون رشد درگاوهای بومی استان کهکیلویه و بویراحمد می باشد. برای این منظور، ناحیه‌ای از پروموتر ژن گیرنده هورمون رشد توسط تکنیک تفاوت فرم فضایی رشته های منفرد (SSCP) و تعیین توالی در گاوهای نژاد بومی تعیین ژنوتیپ شد. در کل 50 نمونه بررسی شده 3 الگوی (SSCPs) مجزا مشاهده گردید که با تعیین توالی نوکلوتیدی آنها چند شکلی تک نوکلئوتیدی A/G در جایگاه 154- و دو طول متفاوت 17 و 11 تکراری برای ریزماهواره TG در جایگاه 86- قبل از شروع رونویسی مشاهده گردید. فراوانی ژنوتیپ‌های AA (TG17/17)، GG (TG11/11) و GA (TG17/11) در جایگاه 154- به ترتیب 0/34، 0/24 و 0/52 بود. بررسی بیوانفورماتیکی چند شکلی‌های شناسایی شده بر روی جایگاه فاکتورهای رونویسی نشان داد که چند شکلی تک نوکلئوتیدی در جایگاه 154- بسیار نزدیک به جایگاه اتصال برای فاکتور رونویسی C/EBPb قرار دارد که ممکن است فرآیند رونویسی ژن را تحت تاثیر قرار دهد. نقش کاربردی ممکن چندشکلی های شناسایی شده باید توسط تجزیه و تحلیل بیان ژن تایید گردد.

واژه‌های کلیدی: *گیرنده هورمون رشد- پروموتر- چندشکلی نوکلئوتیدی- ریزماهواره- گاو بومی.*

* نویسنده مسئول: مصطفی محقق تلفن: 09173416832 Email: mmuhaghegh@mail.yu.ac.ir

مقدمه

هورمون رشد نقشی اساسی در فرآیند های رشد و شیرواری ایفا می کند (Parmentier *et al.*, 1999). یکی از فاکتورهای بسیار مهم در ارتباط با نقش هورمون رشد، گیرنده هورمون رشد است که رشد و توسعه غدد پستانی را تسهیل و امکان پذیر می سازد (Feldman *et al.*, 1993). گیرنده هورمون رشد به عنوان میانجی بیولوژیکی هورمون رشد با انتقال سیگنال هورمون رشد از غشا سلولی و القا رونویسی ژن های بسیاری مانند فاکتور مشابه رشد انسولین-1 (IGF-1) روی سلول های هدف عمل می‌کند (Argetsinger and Carter-Su, 1996). ژن کد کننده گیرنده هورمون رشد در گاو دارای 9 اگزون (شماره گذاری از 2 تا 10) در بخش ترجمه شده، و یک ناحیه طویل ´5 غیر کد کننده می باشد. این ژن همچنین شامل چندین اگزون ترجمه نشده است که تنها اگزون های 1A، 1B و 1C آن بطور مفصل مورد مطالعه قرار گرفته اند (Jiang and Lucy, 2001). پروموترهای مجزایی رونویسی هر کدام از اگزون ها را تنظیم می‌کند، برای مثال، پروموتر1P که در ارتباط با اگزون 1A است تنظیم بیان ژن گیرنده هورمون رشد در کبد را به عهده دارد (Jiang *et al.* 1999).

امروزه شناسایی چند شکلی‌های ژنتیکی در نواحی کد کننده (اگزون ها) و غیر کد کننده (نواحی ´5 و ´3) ژن و تاثیر آنها بر صفات اقتصادی دام های اهلی یکی از اهداف مهم متخصصین اصلاح نژاد دام بوده است. بر این اساس، چند شکلی‌های ژنتیکی متعددی در ناحیه ´5 ژن گیرنده هورمون رشد در گاو شناسایی شده است. Ge *et al.* (1999) تعداد 3 چند شکلی تک نوکلئوتیدی (جایگزینی A/T و دو جایگزینی C/T) در ناحیه ´5 این ژن گزارش کردند. در مطالعه دیگر Ge *et al.* (2003) یک جایگزینی تک نوکلئوتیدی A/G در جایگاه 154- در پروموتر P1 اگزون 1A را گزارش کردند. جابجایی C/T در جایگاه 1104-، که توسط آنزیم محدود کننده *Fnu4*HI قابل شناسایی است، در ناحیه پروموتر P1 یافت شد (Maj and Zwierzchowski, 2002). همچنین، در اغلب گونه‌های پستانداران یک ریزماهواره (TG) در جایگاه مشابه‌ای از ناحیه پروموتر P1 ژن گیرنده هورمون رشد وجود دارد. این توالی تکراری TG در گاو در ناحیه پروموتر درست 86 جفت باز قبل از کدون آغازین و 64 جفت باز قبل از جعبه TATA بر روی کروموزم 20 قرار دارد (Heap *et al.*, 1995; Lucy *et al.*, 1998). آلل 11 تکراری این لوکوس معمولا در گاوهای *Bos Indicus* یافت شده ولی آلل های 16 تا 20 تکراری TGs در نژادهای *Bos Taurus* مشاهده می‌شود (Lucy *et al.*, 1998). در مطالعات متعددی ارتباط بین این چند شکلی‌های تک نوکلئوتیدی و ریزماهواره TG با عملکرد تولیدی گاوهای شیری و گوشتی بررسی شده است که در بعضی موارد ارتباطات معنی‌داری مشاهده شده

است (Hale *et al*., 2000; Ohkubo *et al*., 2006; Viitala *et al*., 2006). هدف این تحقیق بررسی وجود چند شکلی تک نوکلئوتیدیA/G در جایگاه 154- و ریزماهواره TG ناحیه پروموتر ژن گیرنده هورمون رشد در گاوهای بومی استان کهکیلویه و بویراحمد می باشد.

مواد و روش ها

مقدار 2 میلی لیتر خون سیاهرگ وداج از تعداد 50 راس گاو بومی استان کهکیلویه و بویر احمد در تیوب حاوی EDTA جمع‌آوری گردید. با استفاده از کیت تجاری (AccuPrep® genomic DNA extraction kit, Seoul, Korea) استخراج DNA انجام گرفت و در دمای20- نگهداری شد. بر اساس توالی ناحیه پروموتر ژن گیرنده هورمون رشد (بانک ژن با شماره دسترسی U15731.2) و با استفاده از برنامه Primer3 (http://frodo.wi.mit.edu/primer3/) یک جفت آغازگر جدید طراحی گردید. از آغازگرهای -'5 5'-gtc acc gct و ctg gcc ttc act tca gtt gg-3' tgg cag tag at-3' قطعه‌ای بطول 266 نوکلئوتید (23+ الی 243-) از ناحیه پروموتر ژن گیرنده هورمون رشد تکثیر شد که در بر گیرنده چند شکلی تک نوکلئوتیدی A/G در جایگاه 154- و ریزماهواره TG در جایگاه 86- از شروع کدون آغازین می باشد. واکنش PCR با کیت بایونیر (BIONEER , Seoul, Korea) با اجزای لیوفیلیزه صورت گرفت که هر میکروتیوب حاوی 1/5 واحد آنزیم DNAپلیمراز Taq، 10 میلی مولار تریس- اسیدکلریدریک (pH=9)، 50 میلی مولار کلرید کلسیم، 1/5 میلی مولار کلرید منیزیم ، 200 میلی مولار از هر نوکلئوتید، 20 پیکومول از هر آغازگر و 50 نانوگرم DNA ژنومی بود. شرایط واکنش PCR شامل مرحله واسرشست اولیه به مدت 5 دقیقه در دمای ^{o}C 95 ، به همراه 35 چرخه با واسرشست DNA در دمای ^{o}C 95 برای مدت 30 ثانیه، اتصال آغازگرها به DNA در دمای ^{o}C 63 به مدت 30 ثانیه و بسط آغازگرها در دمای ^{o}C 72 به مدت 30 ثانیه و مرحله بسط نهایی در ^{o}C 72 درجه سانتی گراد به مدت 10 دقیقه بود.

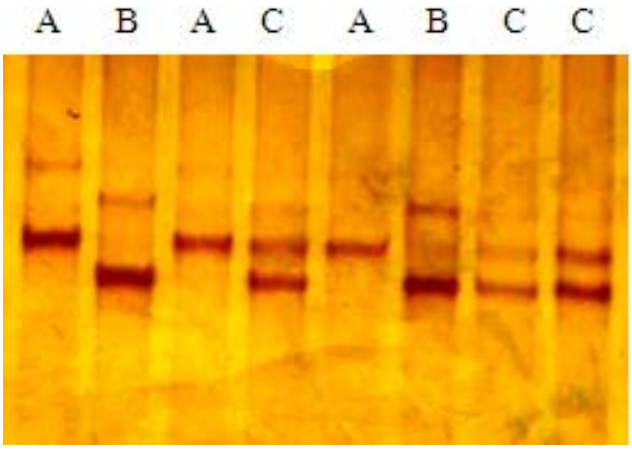
آنالیز تفاوت فرم فضایی رشته های منفرد[1] (SSCP) با استفاده از الکتروفورز ژل اکریل آمید (اکریل آمید: بیس اکریل آمید با نسبت 37/5 به 1) انجام شد. مقدار 3 میکرولیتر از محصول PCR با 5 میکرولیتر بافر دناتوره (فرامید، 0/25 درصد بروموفنل بلو، 0/25 درصد زایلون، 0/5 EDTA میلی مولار) مخلوط و برای مدت 5 دقیقه در دمای^{o}C 95 درجه سانتیگراد دناتوره گردید. سپس تیوب‌های حاوی این مخلوط با قرار دادن در یخ به مدت 10 دقیقه به سرعت سرد شده و در ژل لود گردید. برای تفرق آلل‌ها ژل 8 درصد و به مدت 20 ساعت با ولتاژ 7/5 ولت بر سانتیمتر انجام گرفت. برای وضوح آلل ها از نیترات نقره برای رنگ آمیزی استفاده و ژنوتیپ هر نمونه تعیین گردید. محصولات PCR برای هر الگوی SSCP با استفاده از کیت کیاژن

[1] Single Strand Conformation Polymorphism (SSCP)

(Qiagen) تخلیص و مستقیما با آغازگرها توسط شرکت تکاپوزیست تعیین توالی شدند. جهت شناسایی تفاوت نوکلئوتیدی در الگوهای متفاوت SSCP، همترازی توالی های بدست آمده توسط نرم افزار CLUSTALW (http://workbench.sdsc.edu) انجام گرفت. همچنین، برای ارزیابی تاثیر جهش های شناسایی شده بر جایگاه اتصال فاکتورهای رونویسی در ناحیه تکثیر شده، تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیکی با استفاده از نرم افزار TFSEARCH v1.3 (www.cbrc.jp/researh/db/TFSEARCH.html) صورت گرفت.

نتایج و بحث

پس از تعیین ژنوتیپ این ناحیه در تمام نمونه ها، 3 الگوی متفاوت SSCP (A, B و C) در قطعه تکثیر شده مشاهده گردید (شکل 1) که فراوانی آنها در جمعیت مورد مطالعه به ترتیب0/34، 0/24 و 0/52 بود.

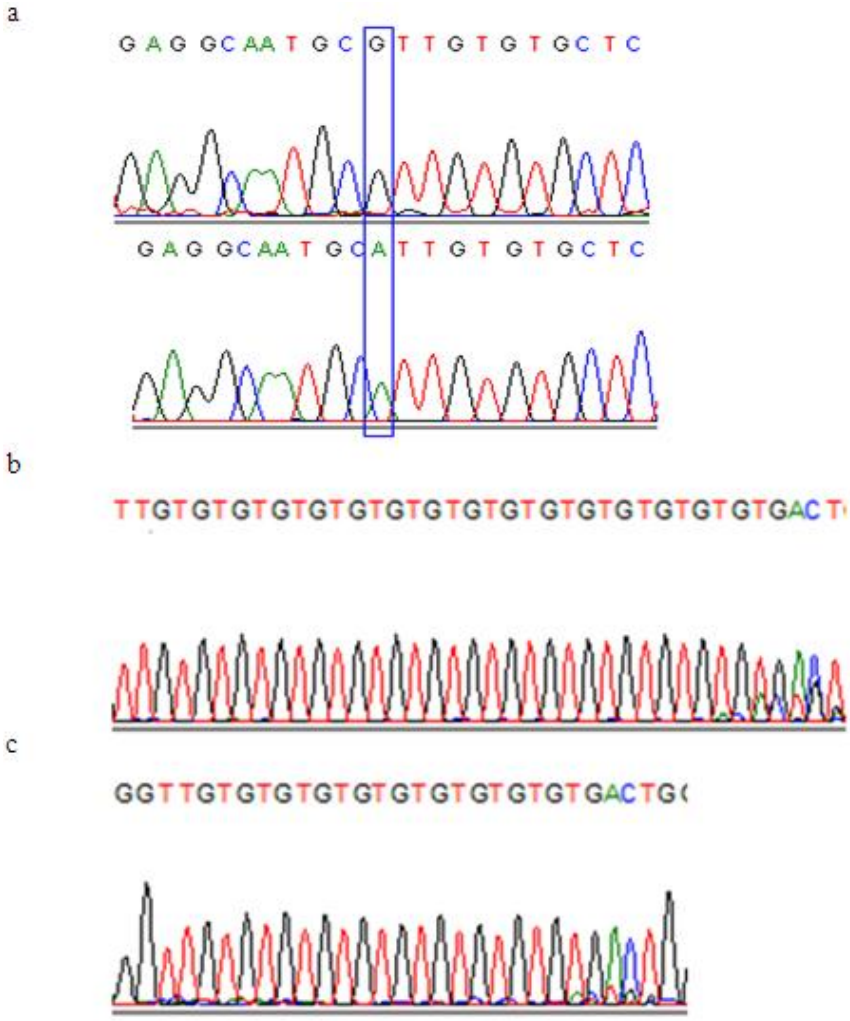


شکل1- الگوهای SSCP مشاهده شده در قطعه تکثیر شده از پروموتر ژن گیرنده هورمون رشد.

Figure 1- Different SSCP patterns of amplified fragment at promoter region of bovine GHR gene.

پس از تعیین توالی الگوهای SSCP و بررسی همترازی توالی آنها، یک جایگزینی A با G در جایگاه 154- و دو طول مختلف برای ریز ماهواره TG در این ناحیه شناسایی شد. الگوی A برای جایگاه 154- هموزیگوت GG و دارای 17 توالی تکراری از TG بود در حالی که الگوی B برای جایگاه 154- هموزیگوت AA و دارای 11 تکرار از توالی TG بود (شکل2). الگوی C برای چند شکلی تک نوکلوتیدی 154- و ریزماهواره TG هتروزیگوت بود. بر این اساس، فراوانی ژنوتیپ‌های AA (TG17/17)، GA (TG11/11) و GG (TG17/11) به ترتیب 0/34، 0/24 و 0/52 بوده که به نوبه خود فراوانی آلل A یا آلل TG با 17 تکرار 0/69 و این فراوانی برای آلل G یا آلل TG با 11 تکرار 0/31 می باشد. از آنجایی که آلل 11 تکراری

این ریزماهواره معمولا در گاوهای Bos Indicus مشاهده شده است (Lucy et al., 1998)، مشاهده این آلل در گاوهای بومی در گونه Bos Taurus در این تحقیق نشاندهنده آلودگی دام های این استان با ژنوم نژادی از گونه Bos Indicus از طریق تلاقی گری است.



شکل2- چند شکلی های شناسایی شده برای جایگاه 154- و ریزماهواره TG در ناحیه پروموتر ژن گیرنده هورمون رشد. a) جایگزینی A با G در جایگاه 154- قبل از شروع رونویسی. b) آلل طویل ریزماهواره TG با 17 تکرار .c) آلل کوتاه ریزماهواره TG با 11 تکرار.

Figure 2- SNP identified at position -154 and TG-microsatellite in the GHR promoter region. a) Substitution of A to G at position -154 before transcription initiation site. b) Long allele with 17-TG-repeats. C) Short allele with 11-TG- repeats.

نشانگر ریزماهواره در هر دو نواحی کد کننده و غیر کد کننده ژنوم دام های اهلی شناسایی شده و از آنها جهت شناسایی جایگاه-های مؤثر بر صفات کمی[1] و نقشه برداری ژنومی استفاده می‌شود (Sellner *et al*., 2007). نشانگرهای ریزماهواره‌ای معمولا تمایل به حضور با تراکم بالا در نواحی شروع رونویسی (پروموتر) داشته، چنان که در توالی‌های بین ژنی و در ژن-های کاذب کمتر یافت می‌شوند (Comings, 1998). اگرچه در اکثر موارد ریزماهواره ها به عنوان نشانگرهای خنثی در نظر گرفته می شوند، مدارک جدید پیشنهاد می‌کنند که ریزماهواره های حاوی بازهای یک در میان پریمیدین و پورین، نظیرTG ، ممکن است نقش های مهمی ایفا کنند. آنها اغلب تحت شرایط فیزیولوژیکی قادر به تشکیل شکل Z-DNA هستند که ممکن است در ایجاد جهش، نوترکیبی و کنترل بیان ژن مؤثر باشند (Majewski and Ott, 2004). تحقیقات متعدد نشان داده است که ارتباط بین یک ریزماهواره و صفات کمی مربوط به آلل خاص نبوده بلکه فاکتور مؤثر تعداد تکرارها در ریزماهواره (طول ریزماهواره) مورد نظر می باشد (Kashi *et al*., 1997; King *et al*., 1997). ارتباط طول تکرارهای TG و میزان رونویسی در ژن های متعددی مانند گیرنده[2] EGF، آنزیم ماتریکس متالوپروتیناز-9 و تیپ 1 کلاژن آلفا-2 در انسان مشاهده شده است (Hadjiyannakis *et al*., 2001). همچنین ارتباط بین چندشکلی‌های ریزماهواره TG ناحیه پروموتر ژن هورمون رشد و صفات تولیدی در گاو گزارش شده است. برای مثال، ارتباط معنی داری بین ژنوتیپ های این ریزماهواره با میانگین وزن زنده بدن، افزایش وزن روزانه، وزن سرد لاشه و وزن گوشت لخم و چربی لاشه مشاهده شده بطوری که آلل دارای 21 تکرار دارای بیشترین برتری برای میزان رشد و صفات لاشه بوده است (Maj *et al*., 2004). همچنین، ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های این ریزماهواره و میزان رشد در گاوهای نژاد برانگوس گزارش شده است (Hale *et al*., 2000).

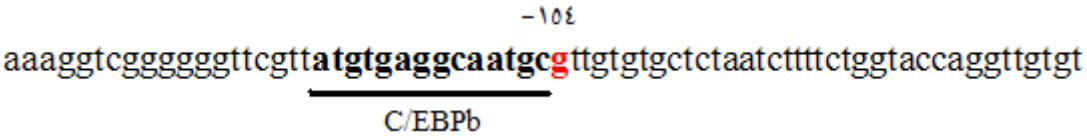
تجزیه و تحلیل بیوانفورماتیکی (*In silico*) جهت بررسی نتایج چند شکلی‌های شناسایی شده بر روی جایگاه‌های اتصال فاکتورهای رونویسی نشان داد، که چند شکلی تک نوکلئوتیدی در جایگاه 154- بسیار نزدیک به جایگاه اتصال برای فاکتور رونویسی C/EBPb[3] می‌باشد (شکل3). این خانواده از فاکتورهای رونویسی دارای 5 عضو مختلف (CEBPa, CEBPb, CEBPd, CEBPe, CEBPg) بوده و نقش مهمی در تکثیر و تمایز سلولی بعهده دارند. در فرآیند خون سازی، این فاکتورها بویژه در تمایز سلول-های مغز استخوان در گیر می باشند (Nerlov, 2004)، بطوری که جهش در جایگاه فاکتور رونویسی CEBP علل 15 درصد سرطان های

[1] Quantitative trait loci (QTL)

[2] Epidermal Growth Factor

[3] CCAAT enhancer-binding proteins (*CEBP*s)

حاد خونی می باشد (Muller and Pabst, 2006). قرار گرفتن این جهش در کنار این فاکتور رونویسی ممکن است در راندمان اتصال این فاکتور در فرآیند رونویسی ژن تاثیر گذار باشد چنان که در نهایت میزان بیان این ژن را تغییر دهد. برای مثال، در افراد مبتلا به هموفیلی B نوع لیدان، جایگزینی A با G در فاصله 13+ نوکلئوتیدی جایگاه اتصال فاکتور CEBP در پروموتر ژن فاکتور 9 از اتصال این فاکتور به جایگاه خود ممانعت می کند (Crossley and Brownlee, 1990).



شکل 3- جایگاه فاکتور رونویسی C/EBPb در مجاورت چند شکلی تک نوکلئوتیدی جایگاه 154-

Figure 3- Transcription factor binding site for C/EBPb neighbor identified SNP at position -154.

در مطالعات متعددی ارتباط این چند شکلی با صفات اقتصادی در نژادهای مختلف گاو بررسی شده است. Shermat et al. (2007) با مطالعه جایگزینی A/G در جایگاه 154- پروموتر ژن گیرنده هورمون رشد، بیشترین تاثیر را در وزن بدن گاوهای گوشتی مشاهده کردند. اگرچه Ge et al.(2003) ارتباط معنی داری بین ژنوتیپ های این چندشکلی با صفات رشد مشاهده نکردند ولی این ارتباط با غلظت فاکتور مشابه انسولین-1 معنی دار بود. همچنین، ژنوتیپ های این چندشکلی ارتباط معنی داری با چربی دنده گاوهای نر نژاد برهمن در سن تقریبی 365 روز نشان داد چنان که گاوهای نر با ژنوتیپ GG دارای 6/1 درصد چربی دنده بیشتری نسبت به ژنوتیپ های GA و AA بودند (Garrett et al., 2008).

به طور کلی جهت استفاده از این چند شکلی های شناسایی شده در برنامه های اصلاحی (انتخاب به کمک نشانگر)، باید نقش این چندشکلی ها در بیان ژن گیرنده هورمون رشد بررسی گردد، همچنین ارتباط آنها با صفات عملکرد تولیدی دام ها ارزیابی گردد.

منابع

Aggrey SE, Yao J, Sabour MP, Lin CY, Zadworny D, Hayes JF, Kunlein U(1999). Markers within the regulatory region of the growth hormone receptor gene and their association with milk-related traits in Holsteins. Journal of Heredity 90: 148–151.

Argetsinger LS, Carter-Su C (1996). Mechanism of signaling by growth hormone receptor. Physiological Review 76: 1089-1107.

Comings DE (1998). Polygenic inheritance and micro/minisatellites. Molecular Psychiatry 3: 21-31.

Crossley M, BrownLee GG (1990). Disruption of a C/EBP binding site in the factor IX promoter is associated with haemophilia B. Letters to nature 345: 444-446

Curi RA, de Oliveira HN, Silveira AC, Lopes CR (2005). Effects of polymorphic microsatellites in the regulatory region of IGF1 and GHR on growth and carcass traits in beef cattle. International Society for Animal Genetics, Animal Genetics 36: 58–62.

Feldman M, Ruan W, Cunningham BC, Well JA, Kleinberg DL (1993). Evidence that growth hormone receptor mediates differentiation and development of mammary gland. Endocrinology 133: 1602-1608.

Ge W, Davis M E, Hines HC, Irvin KM (1999). Two-allelic DGGE polymorphism detected in the promoter region of the bovine GHR gene. Animal Genetics 30: 71.

Ge W, Davis ME, Hines HC, Irvin KM, Simmen RC (2003). Association of single nucleotide polymorphisms in the growth hormone and growth hormone receptor genes with blood serum insulin-like growth factor I concentration and growth traits in Angus cattle. Journal of Animal Science 81: 641–648.

Hadjitannakis S, Zheng H, Hendy GN, Goodyer CG (2001). GT repeat polymorphism in the 5' flanking region of the human growth hormone receptor gene. Molecular and Cell Probe 15: 239-242.

Hale CS, Herring WO, Shibuya H, Lucy MC, Lubahn DB, Keisler DH, Johnson GS (2000). Decreased growth in Angus steers with a short TG-microsatellite allele in the P1 promoter of growth hormone receptor gene. Journal of Animal Science 78: 2099–104.

Heap D, Lucy MC, Collier RJ, Boyd CK, Warren WC (1995). Rapid communication: Nucleotide sequence of the promoter and first exon of the somatotrophin receptor gene in cattle. Journal of Animal Science 73:1529.

Jiang HL, Lucy MC (2001) Variants of the 5'-untranslated region of the bovine growth hormone receptor mRNA: isolation, expression and effects on translational efficiency. Gene 265: 45–53.

Jiang HL, Okamura CS, Lucy MC (1999). Isolation and characterization of a novel promoter for the bovine growth hormone receptor gene. Journal of Biological Chemistry 274: 7893–7900.

Kashi Y, King DG, Soller M (1997). Simple sequence repeats as a source of quantitative genetic variation. Trends in Genetics 13: 74-78.

King DG, Soller M, Kashi Y (1997) Evolutionary tuning knobs. Endeavour 21: 36-40.

Knight JC (2005). Regulatory polymorphisms underlying complex disease traits. Journal of Molecular Medicine 83: 97 – 109.

Lucy MC, Johnson GS, Shibuya H, Boyd CK, Herring WO (1998). Polymorphic (GT)n microsatellite in the bovine somatotrophin receptor gene promoter. Journal of Animal Science 76: 2209– 2210.

Maj A, Korczak M, Oprzadek J, Zwierzchowski L, Dymnicki E (2004). TG-repeat length polymorphism in the 5'-noncoding region of the growth hormone receptor gene in cattle and its association with meat production traits. Journal of Animal Science Papers and Reports 22(3): 297-305.

Maj A, Zwierzchowski L (2002) New RFLP-Fnu4HI polymorphism within the 5'-flanking region of the bovine growth hormone receptor gene. Cell and Molecular Biology Letters 7: 305

Majewski J and Ott J (2000) GT repeats are associated with recombination on human chromosome 22. Genome Research 10: 1108-14.

Muller BU, Pabst T (2006). C/EBPalpha and the pathophysiology of acute myeloid leukemia. Current Opinion in Hematology 13: 7-14

Nerlov C (2004). C/EBPalpha mutations in acute myeloid leukaemias. Nature Reviews Cancer 4: 394-400.

Ohkubo T, Yano H, Takahashi S, Kimura N, Tanaka M (2006). *Bos indicus* type of growth hormone receptor gene is retained in Japanese Black cattle. Journal of Animal Breeding and Genetics 123:410–430.

Parmentier I, Portetelle D, Gengler N, Prandi A, Bertozzi C, Vleurick L, Gilson R, Renaville R (1999) Candidate gene markers associated with somatotropic axis and milk selection. Domestic Animal Endocrinology 17: 139–148.

Sellner EM, Kim JW, McClure MC, Taylor KH, Schnabel RD, Taylor JF (2007). Board invited review: Applications of genomic information in livestock. Journal of Animal Science 85:3148-3158.

Sherman EL, Nkrumah J, DMurdoch BM, Li C, Wang Z, Fu A and Moore SS (2007). Polymorphisms and haplotypes in the bovine neuropeptide Y, growth hormone receptor, ghrelin, insulin-like growth factor 2, and uncoupling proteins 2 and 3 genes and their associations with measures of growth, performance, feed efficiency, and carcass merit in beef cattle. Journal of Animal Science 86: 1-16.

Viitala S, Szyda J, Blott S, Schulman N, Lidauer M, Maki-Tanila A, Georges M, Vilkki J (2006). The role of the bovine growth hormone receptor and prolactin receptor genes in milk, fat and protein production in Finnish Ayrshire dairy cattle. Genetics 173: 2151–2164.

Identification and characterization of genetic variation in the promoter region of bovine growth hormone receptor (GHR) gene in the local cattle of Kohkiloye Va Boyer Ahmad province

Muhaghegh-Dolatabady M.*[1], Habibizad J.[2], Imanikhah F.[3]

[1] Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Yasouj University, Yasouj, Iran.
[2] PhD Student, Faculty of Agriculture, Yasouj University, Yasouj, Iran.
[3]MSc Graduate, Faculty of Agriculture, Yasouj University, Yasouj, Iran.

Abstract

The growth hormone receptor (*GHR*) is a cell surface receptor for growth hormone (GH) that is required for GH to carry out its effects on target tissues. Therefore, the aim of this study was to identify and analysis of SNPs in the promoter region of GHR gene in Iranian local cattle breed (Bos taurus). The part of promoter region of GHR gene was screened by single strand conformation polymorphism (SSCP) method and DNA sequencing. A total of 3 distinct SSCP patterns were observed which further revealed an A/G transition at position -154 and two length of TG microsatellite (11 and 17 TG repeats) upon sequence analysis in amplified fragment. The genotype frequencies of AA ($TG_{17/17}$), G ($TG_{11/11}$) and GA ($TG_{17/11}$) were 0.34, 0.24 and 0.52 respectively. In silico analysis has been shown that the single nucleotide polymorphism (SNP) at position -154 is very close to the putative binding site for C/EBP transcription factor. The possible functional activity of identified genetic variation should be approved using gene expression analysis.

Keywords: *GHR- promoter region- microsatellite- transcription factors- local cattle*

* Corresponding Author: Moradi M.H Tel: 09173416832 Email: mmuhaghegh@mail.yu.ac.ir