

Tissue-specific mRNA expression profile of ESR2 gene in goat

Mohammadreza Mohammadabadi 

Professor of Animal Science Department, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran. Email: mrm@uk.ac.ir

Abstract

Objective

Estimates show that in the world about 30 million goats and in Iran about five million Cashmere goat are bred. One of the most important of these breeds is the Raini Cashmere goat. Steroid hormones perform their physiological functions by regulating the transcription of target genes. Receptors for these hormones play a role in osteoporosis, inflammation and cancer through transcription networks. Estrogen receptor (ER) is a transcription factor that mediates the function of estrogen in many physiological and pathological processes. There are two estrogen receptors, ESR1 and ESR2, which are located in the reproductive organs. Reproduction rate, especially fertility, is one of the most important economic traits in animal production and is regulated by genetic and environmental factors. Therefore, the aim of this study was to investigate the expression profile of ESR2 gene in different tissues of fluffy goats using Real Time PCR.

Materials and methods

Sampling of testis, ovarian, uterine, breast, brain, kidney and heart tissues was performed from a male and a female goat (3 replicates from each tissue). Total RNA was extracted from the tissues and the quality and quantity of the extracted RNA were evaluated. The cDNA was then synthesized and Real Time PCR was performed. The GAPDH housekeeping gene was used as a control. Melting curves were examined and data obtained from Real Time PCR were analyzed.

Results

The results of Real Time PCR curves and observation of electrophoresis of PCR products on 2% agarose gel showed that ESR2 gene was expressed in testis, ovary, uterine, breast, brain, kidney, and heart tissues. The highest level of expression was observed in the ovary and then the brain and uterus and the lowest level of expression was related to kidney, heart and testis tissues.

Conclusions

According to the results of the present research and the results of other studies, it can be concluded that ESR2 plays an important role in female fertility, because in the present study it was found that ESR2 is much more expressed in ovarian tissue than other tissues. Therefore, ESR2 is likely to be essential for female fertility, and the results of this study provide the basis for future research to describe the role of the ESR2 gene as a candidate gene for better fertility and normal physiology in domestic animals, especially goats.

Keywords: ESR2, gene expression, ovary, Raini Cashmere goat

Paper Type: Research Paper.

Citation: Mohammadabadi MR (2020) Tissue-specific mRNA expression profile of ESR2 gene in goat. *Agricultural Biotechnology Journal* 12 (4), 169-184.

Agricultural Biotechnology Journal 12 (4), 169-184.

DOI: 10.22103/jab.2021.17011.1284

Received: November 11, 2020.

Accepted: December 10, 2020.

Publisher: Faculty of Agriculture and Technology Institute of Plant Production,



Shahid Bahonar University of Kerman-Iranian Biotechnology Society.

© the authors

پروفایل بیانی mRNA مختص بافت ژن ESR2 در بز

محمد رضا محمدآبادی ^{ID}

استاد بخش علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، ایران. تلفن: ۰۹۱۳۳۹۸۷۵۳۴، ایمیل:

mrm@uk.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۹/۲۰

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۸/۲۱

چکیده

هدف: برآوردها نشان می‌دهد که در دنیا تقریباً سی میلیون راس بز و در ایران حدوداً پنج میلیون راس بز کرکی در حال نگهداری و پرورش است. یکی از با اهمیت‌ترین این نژادها بز کرکی رایینی است. هورمون‌های استروئیدی از طریق تنظیم رونویسی ژن‌های هدف وظایف فیزیولوژیکی خود را انجام می‌دهند. به طوری که گیرنده‌های این هورمون‌ها از طریق شبکه‌های رونویسی در پوکی استخوان، التهاب و سرطان نقش ایفا می‌کنند. گیرنده استروژن (ER) یک فاکتور رونویسی است که واسطه عملکرد هورمون استروژن در بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیکی و آسیب‌شناختی است. دو گیرنده استروژن وجود دارد، ESR1 و ESR2 که در اندام‌های تولید مثلی واقع شده‌اند. میزان تولید مثل، به ویژه باروری، یکی از مهم‌ترین صفات اقتصادی در تولید حیوانات است و توسط عوامل ژنتیکی و محیطی تنظیم می‌شود. لذا، هدف این پژوهش بررسی پروفایل بیانی ژن ESR2 در بافت‌های مختلف بز کرکی رایینی با استفاده از Real Time PCR بود.

مواد و روش‌ها: نمونه‌گیری از بافت‌های بیضه، تخمدان، رحم، پستان، مغز، کلیه و قلب یک راس بز نر و یک راس بز ماده در کشتارگاه انجام شد (از هر بافت ۳ تکرار). از بافت‌های مورد نظر استخراج RNA کل انجام و کیفیت و کمیت آن ارزیابی شد. سپس cDNA ساخته و Real Time PCR اجرا شد. همچنین از ژن خانه دار GAPDH به عنوان کنترل استفاده شد. منحنی‌های ذوب بررسی و تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از Real Time PCR انجام شد.

نتایج: نتایج منحنی‌های Real Time PCR و مشاهده نتایج الکتروفورز محصولات PCR روی ژل آگارز ۲ درصد نشان داد که ژن ESR2 در بافت‌های بیضه، تخمدان، رحم، پستان، مغز، کلیه و قلب بیان شده است. بیشترین میزان بیان در تخمدان و سپس مغز و رحم مشاهده شد و کمترین سطح بیان مربوط به بافت‌های کلیه، قلب و بیضه بود.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج پژوهش حاضر و نتایج سایر محققین می‌توان نتیجه گرفت که ESR2 نقش مهمی در باروری ماده‌ها دارد، در پژوهش حاضر مشخص شد ESR2 در بافت تخمدان نسبت به بافت‌های دیگر بسیار بیشتر بیان می‌شود. لذا، ESR2 به احتمال زیاد برای باروری ماده‌ها بسیار ضروری هستند و نتایج این پژوهش را برای پژوهش‌های آینده جهت توصیف نقش ژن ESR2 به عنوان یک ژن کاندیدا برای باروری بهتر و فیزیولوژی طبیعی در حیوانات اهلی، به ویژه بز فراهم کرده است.

کلمات کلیدی: بیان ژن، بز کرکی راینی، تخمدان، ESR1

نوع مقاله: پژوهشی.

استناد: محمدآبادی محمدرضا (۱۳۹۹) پروفایل بیانی mRNA مختص بافت ژن ESR2 در بز. *مجله بیوتکنولوژی کشاورزی*، ۱۲(۴)، ۱۶۹-۱۸۴.

Publisher: Faculty of Agriculture and Technology Institute of Plant Production,
Shahid Bahonar University of Kerman-Iranian Biotechnology Society.



© the authors

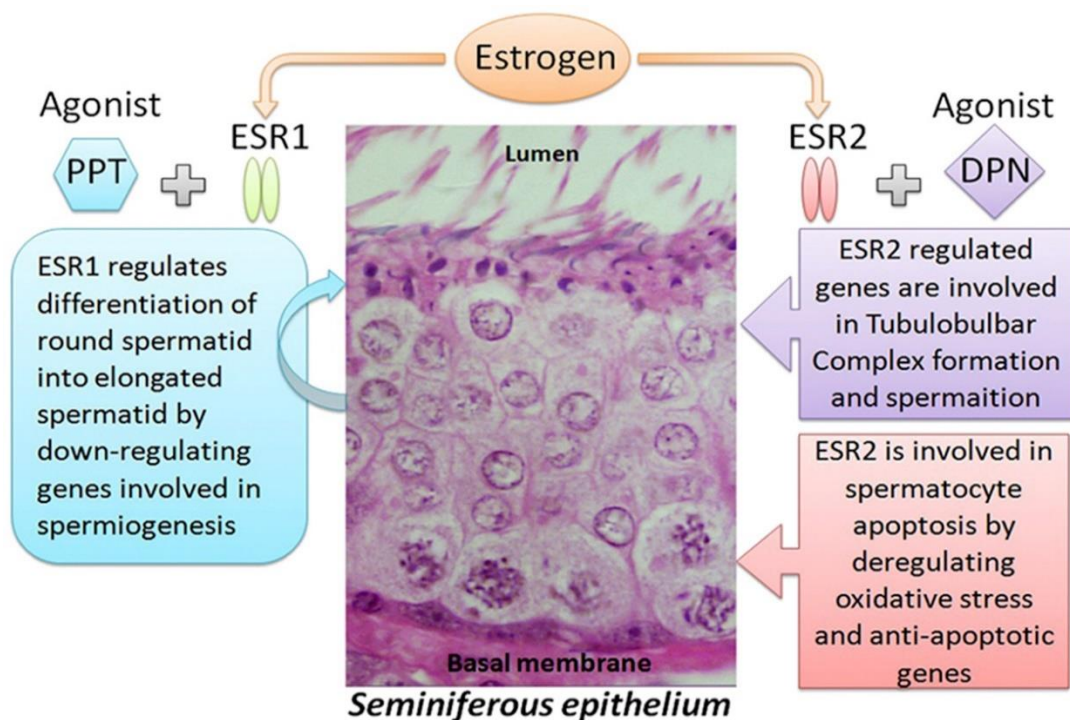
مقدمه

برخی پژوهشگران معتقدند که اولین حیوان نشخوار کننده که توسط انسان اهلی شده است بز بوده است (Barazandeh et al. 2012). همچنین آن‌ها بر این باورند که این امر از ۹ تا ۱۱ هزار سال قبل شروع شده است (Mohammadabadi et al. 2019). گروهی از پژوهشگران بقایای یافت شده از بز در اروپا و یا در حاشیه رود نیل را اولین آثار می‌دانند، ولی گروه‌های زیادی از محققین بر این باورند که اهلی کردن بز در ابتدا توسط اقوام آریایی در ایران آغاز شده است و لذا نتیجه می‌گیرند که بز اولین بار در خاورمیانه در مناطقی از کردستان اهلی کردن آن شروع شده است (Moghadaszadeh et al. 2015; Molaei et al. 2013). برآوردها نشان می‌دهد که در دنیا تقریباً سی میلیون راس و در ایران حدوداً پنج میلیون راس بز کرکی در حال نگهداری و پرورش است (Baghizadeh et al., 2009; Hassani et al. 2010). یکی از با اهمیت‌ترین این نژادها بز کرکی راینی است (Askari et al. 2008; Alinaghizadeh et al. 2010). تعداد بز کرکی راینی موجود در استان کرمان حدود سه میلیون راس برآورد می‌شود (Askari et al. 2009). تولید کرک، گوشت و شیر از اولویت‌های پرورشی این نژاد در ایران است (Askari et al. 2010; Shamsalddini et al. 2016). مزایای پرورشی این حیوان شامل تولید گوشت کم چرب، بالا بودن نسبت دوقلو زایی، تولید مناسب شیر، مصرف غذای کم، عدم نیاز به سرمایه‌ی زیاد، نیاز کم به جایگاه و تجهیزات، سهل الهضم بودن شیر بز، ایجاد اشتغال و کمک به اقتصاد خانواده است (Mohammadabadi 2012).

نشان داده شده است که همانندسازی DNA، رونویسی، ترجمه و نحوه تنظیم ژن‌ها از مکانیسم‌های ملکولی مهم هستند (Mohammadabadi and Tohidinejad, 2017). همه ژن‌های موجود در سلول هم‌زمان بیان نمی‌شوند، بلکه در هر لحظه تعدادی از آن‌ها بیان می‌شوند و محصول مورد نیاز سلول را تولید و در اختیارش قرار می‌دهند (Tohidi nezhad et al. 2015). محیط سلول مشخص می‌کند که چه ژنی روشن و بیان شود و چه ژنی غیرفعال و خاموش شود، به عبارت دیگر هر بافت الگوی بیان اختصاصی خود را دارد (Mohammadabadi et al. 2017). لذا، مطالعه بیان ژن‌ها و پروتئین‌های کنترل‌کننده صفات مهم اقتصادی در حیوانات اهلی بسیار با اهمیت است (Jafari et al. 2016).

هورمون‌هایی که توسط غدد درون‌ریز موجودات تولید می‌شوند در توسعه و انجام وظایف بافت‌های گوناگون نقش آفرینی می‌کنند. در این بین، استروئیدها بعضی وظایف‌شان را توسط رسپتورهایی اجرا می‌کنند که این گیرنده‌ها نقش فاکتور رونویسی همیسته با هورمون را بازی می‌کنند (Mohammadabadi 2020). برای نمونه، Kazuhiro et al. (2015) نشان دادند که گیرنده‌های استروژن (ER) به استروژن، گیرنده گلوکوکورتیکوئید (GR) به گلوکوکورتیکوئید، گیرنده مینرالوکورتیکوئید (MR) به مینرالوکورتیکوئید، گیرنده پروژسترون (PR) به پروژسترون، و گیرنده آندروژن (AR) به آندروژن اتصال می‌یابد. Muramatsu and Inoue (2000) نشان دادند که هورمون‌های استروئیدی از طریق تنظیم رونویسی ژن‌های هدف وظایف فیزیولوژیکی خود را انجام می‌دهند. به طوری که گیرنده‌های این هورمون‌ها از طریق شبکه‌های رونویسی در پوکی استخوان، التهاب و سرطان نقش ایفا می‌کنند. گیرنده استروژن (ER) یک فاکتور رونویسی است که واسطه عملکرد هورمون استروژن در بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیکی و آسیب‌شناختی است. دو گیرنده استروژن وجود دارد، ESR1 و ESR2 که در اندام‌های تولید مثلی واقع شده‌اند. در پژوهشی Dumasia et al. (2016) نشان دادند که ESRها جنبه‌های متمایز اسپرماتوژنز را تنظیم می‌کنند. ESR1 به طور اساسی در تنظیم اسپرماتوژنز دخیل است، در حالی که ESR2 آپوپتوز اسپرماتوسیت‌ها و انزال را تنظیم می‌کند (شکل ۱). فعال‌سازی سیگنال‌دهی استروژن از طریق هر یک از گیرنده‌ها می‌تواند فرآیندهای مربوطه آنها را در طی اسپرماتوژنز تحت تأثیر قرار دهد و منجر به تولید پایین اسپرم شود. از آنجا که بسیاری از استروژن‌های محیطی می‌توانند با دو ESR با تمایل متفاوت متصل شوند، مطالعه ESRها در درک تأثیرات بالقوه آنها بر اسپرماتوژنز می‌تواند مفید باشد. پژوهشگران متعددی (Yu et al. 2011; Zhang et al. 2015; Li et al. 2016; Jahandoost et al. 2017) ثابت کرده‌اند که آلل‌های گوناگون گیرنده‌های استروژن با حساسیت به سرطان پستان همبستگی دارند. میزان تولید مثل، به ویژه باروری، یکی از مهم‌ترین صفات اقتصادی در تولید حیوانات است و توسط عوامل ژنتیکی و محیطی تنظیم می‌شود. میزان تخمک‌گذاری می‌تواند تعیین‌کننده اصلی کارایی تولید مثل باشد. فرآیندهای انتخاب منجر به توسعه تعداد فولیکول‌های تخمک‌گذاری می‌شود که در بین گونه‌ها و نژادها متفاوت است (Hanrahan and Quirke 1985). می‌توان از توانایی تکنیک‌های مولکولی برای افزایش سرعت پاسخ به انتخاب استفاده کرد. پیشنهاد شده است که می‌توان از تجزیه و تحلیل ژن‌کاندیدا برای شناسایی ژن‌های منفرد که کدکننده صفات با اهمیت اقتصادی

هستند، استفاده نمود (Cui et al. 2009). یکی از این ژن‌های مهم ESR2 است. لذا هدف این پژوهش مطالعه بیان ژن گیرنده استروژن ۱ (ESR1) در بافت‌های مختلف بز کرکی راینی با استفاده از Real Time PCR بود.



شکل ۱. نقش ESR2 در تشکیل کمپلکس توبولوبولار، انزال و آپوپتوز اسپریماتوسیت (Dumasia et al. 2016)

Figure 1. Role of ESR2 in Tubulobular Complex formation, spermatiation and spermatocyte apoptosis (Dumasia et al. 2016)

مواد و روش‌ها

نمونه گیری از بافت‌های بیضه، تخمدان، رحم، پستان، مغز، کلیه و قلب یک راس بز نر و یک راس بز ماده در کشتارگاه انجام شد (از هر بافت ۳ تکرار). نمونه های جدا شده در میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی لیتری قرار گرفت و سپس لوله ها در داخل فویل آلومینیومی پیچیده شدند و بلافاصله در داخل تانک ازت گذاشته شدند و به فریزر ۸۰- منتقل شدند. قبل از استخراج RNA همه وسایل با آب^۱ DEPC (سیناژن، MR8244) شستشو شدند تا RNase آن ها از بین برود. از کیت One Step RNA Reagent (شرکت بیویسیک کانادا) برای استخراج RNA کل از بافت‌ها استفاده شد. برای ارزیابی کیفیت و کمیت RNA

¹Di Ethyl Pyro Carbonate water

استخراج شده از روش الکتروفورز روی ژل آگارز و UV اسپکتروفتومتری استفاده شد. از کیت RerertAid™ H Minus First Strand cDNA Synthesis Kit #K1631 (شرکت فرمتناز) جهت سنتز cDNA از روی ۱ میکروگرم RNA استفاده شد. سپس cDNA ساخته شده با DNaseI تیمار شد تا از آلودگی احتمالی به DNA عاری شود. از آغازگرهای 5'-TCA CTG AGC CTG GGG TTT CTG-3' و 5'-CGA CTG CGG AAG TGC TAT GAG-3' دسترسی NM_001009737 (Cui et al. 2009) برای تکثیر قطعه ۴۶۱ جفت بازی ژن ESR2 استفاده شد. از آغازگرهای 5'-TAAGTCCCTCCACGATGCCAAAGT-3' و 5'-CATGTTTGTGATGGGCGTGAACCA-3' با شماره دسترسی NM_001034034.2 (Ogorevc and Dovec 2016) برای تکثیر قطعه ۱۳۷ جفت بازی ژن خانه دار GAPDH استفاده شد. ساخت آغازگرها به وسیله شرکت تکاپوزیست (ایران) انجام شد. حجم مخلوط واکنش PCR برابر ۱۵ میکرولیتر شامل ۱/۵ میکرولیتر cDNA الگو، ۰/۵ میکرولیتر آغازگر رفت، ۰/۵ میکرولیتر آغازگر برگشت، ۰/۳ میکرولیتر ROX، ۷/۵ میکرولیتر SYBRPermixon II و ۴/۷ میکرولیتر آب دو بار تقطیر بود. پس از خوب مخلوط کردن محتویات میکروتیوبها با اسپین کردن، در دستگاه روتور ژن ۳۰۰۰ قرار گرفتند. شرایط انجام PCR به صورت زیر بود: واسرشت اولیه در ۹۵ درجه سانتیگراد برای ۸ دقیقه (برای فعال سازی پلیمرز و واسرشت اولیه)، واسرشت ثانویه ۹۵ درجه سانتیگراد ۱۵ ثانیه، اتصال و سنتز ۶۵ درجه سانتیگراد ۴۰ ثانیه، با ۴۰ سیکل. منحنی‌های ذوب بررسی شدند. از روش Pfaffl et al. (2002) برای تجزیه و تحلیل داده های حاصل از Real Time PCR استفاده شد.

$$\text{ratio} = \frac{(E_{\text{target}})^{\Delta CT_{\text{target}}(\text{control-sample})}}{(E_{\text{ref}})^{\Delta CT_{\text{ref}}(\text{control-sample})}} \quad \text{فرمول ۱}$$

در این فرمول E_{ref} و E_{target} به ترتیب بازدهی PCR ژن مورد مطالعه و ژن مرجع یا کنترل داخلی می‌باشند. Ct از تفریق Ct (حد آستانه) ژن GAPDH از Ct ژن ESR2 به دست می‌آید. از غلظت‌های مختلف ۱، ۰/۱، ۰/۰۱، ۰/۰۰۱ از cDNA ژن‌های ESR2 و GAPDH در ایجاد نمودار استاندارد استفاده شد و بازده واکنش ۹۸ درصد به دست آمد و نتایج بیان نسبی محاسبه شد.

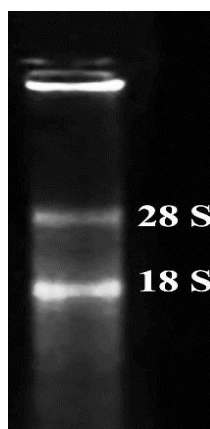
نتایج و بحث

کیفیت RNAهای استخراج شده استاندارد و مناسب بود، به طوری که اعداد جذب نمونه‌ها در طول موج A260/A280 بین ۱/۸-۱/۹ بود و دو باند 18S و 28S در RNA مشاهده شد و هیچ باند اضافی روی نشد (شکل ۲). براساس واکنش شیب دمایی^۳ PCR دمای اتصال مناسب آغازگرهای ژن‌های ESR2 و GAPDH دمای ۶۵°C تعیین شد. نتایج منحنی‌های Real Time PCR و مشاهده نتایج الکتروفورز محصولات PCR روی ژل آگارز ۲ درصد نشان داد که ژن ESR2 در بافت‌های

1 Threshold cycle

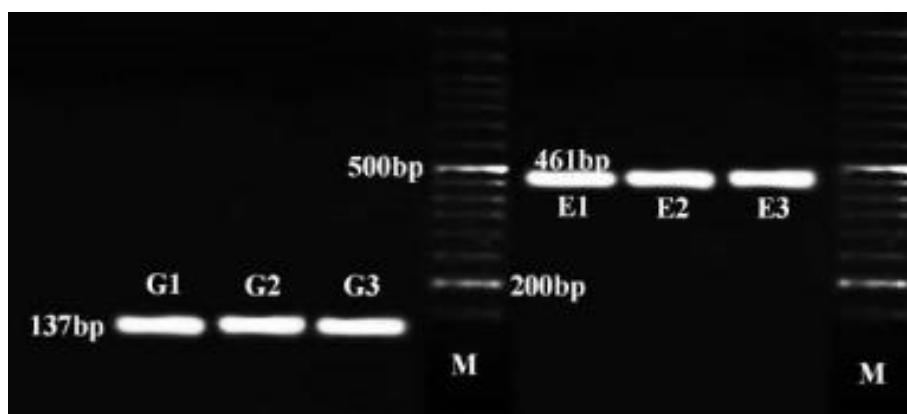
2 Gradient

مختلف بیان شده است. برای ژن ESR2 باندی به اندازه ۴۶۱ جفت باز و برای ژن GAPDH باندی با اندازه ۱۳۷ جفت باز مشاهده شد و صحت آزمایش تکثیر تایید شد (شکل ۳). میزان تغییرات نور فلورسنت در هر سیکل در طی انجام واکنش توسط دستگاه Real Time PCR به صورت منحنی تکثیر به نمایش در می آید. یک حد آستانه در فاز نمایی برای منحنی تکثیر همه نمونه ها تعریف شد. این حد همان سیکلی است که در آن شدت نور فلورسنت ساطع شده از تکثیر واکنش به حد آستانه رسیده است.



شکل ۲. یک نمونه از RNA استخراج شده از بافت های بز کرکی راینی روی ژل آگارز

Figure 2. A sample of extracted RNA from tissues of Raini Cashmere goat on agarose gel



شکل ۳. چند نمونه از باندهای تکثیر شده مربوط به ژن های ESR2 و GAPDH در بز کرکی راینی با استفاده از الکتروفورز روی ژل آگارز. نمونه های E1، E2 و E3 که قطعه ای ۴۶۱ جفت بازی است مربوط به ژن ESR2 و نمونه های G1، G2 و G3 که قطعه ای ۱۳۷ جفت بازی است مربوط به ژن GAPDH هستند. M نشانگر اندازه استفاده شده است.

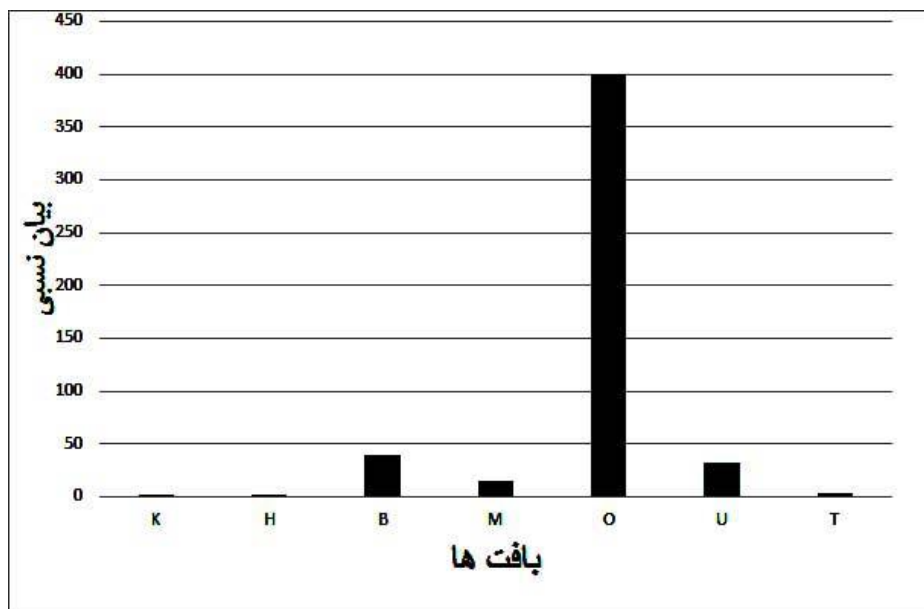
Figure 3. Some examples of amplified bands related to ESR2 and GAPDH genes in Raini Cashmere goat using electrophoresis on agarose gel. Samples E1, E2 and E3, which are 461 bp fragments, belong to the ESR2 gene, and samples G1, G2, and G, which are 137 bp fragments, belong to the GAPDH gene. M is the size marker.

نتایج PCR در زمان واقعی نشان داد که ژن ESR2 در بافت‌های بیضه، تخمدان، رحم، پستان، مغز، کلیه و قلب بیان می‌شود. بیشترین میزان بیان در تخمدان و سپس مغز و رحم مشاهده شد و کمترین سطح بیان مربوط به بافت‌های کلیه، قلب و بیضه بود (شکل ۴). نتایج این پژوهش با نتایج Hutson et al. (2019) مطابقت دارد. این پژوهشگران بیان ژن ESR2 را در بافت‌های تولیدمثلی؛ شامل تخمدان‌ها، غده پستانی، رحم و بیضه، چهار بافت قلبی-عروقی؛ شامل قلب، آئورت، کلیه و فوق کلیه، و سه ناحیه از مغز؛ شامل somatosensory cortex، hippocampus و prefrontal cortex موش‌های نر و ماده بالغ مطالعه کردند و نشان دادند که بیشترین سطح بیان در تخمدان و نواحی مغز و کمترین میزان بیان در کلیه، قلب و بیضه مشاهده می‌شود. این پژوهشگران گزارش کردند که ژن ESR2 در بافت‌های یک سیستم بیان ثابتی دارد، ولی در سیستم‌های گوناگون بیان واریانس بالایی دارد. در پژوهشی دیگر Cui et al. (2009) با مطالعه سطوح بیان ژن ESR2 در بز Yunling Black نشان دادند که بیان این ژن در تخمدان و مغز نسبت به دیگر بافت‌ها به طور معنی‌داری بالاتر است که تایید کننده نتایج پژوهش حاضر است. آنها همچنین نشان دادند که سطوح بیان mRNA ژن ESR2 با چندقلوژیایی (تعداد بچه در هر زایش^۴) همبستگی منفی دارد. نشان داده شده که استروژن به پروتئین‌های موجود در بافت‌های تولید مثلی نر، به خصوص اپیدیدیم متصل می‌شود و ژن‌های ESR1 و ESR2 در سلول‌های خاص بیضه، مجاری و ابران و اپیدیدیم با ویژگی‌های خاص گونه‌ای متمرکز شده‌اند (Carreau and Hess 2010). همچنین ثابت شده است که ESR2 در سرتاسر سیستم تولید مثلی نرها بیان می‌شود، اما ESR1 دارای اختصاصیت گونه‌ای است و در سلول‌های لایدیگ بیضه و اپیتلیوم مجاری و ابران، محل اتصال شبکه بیضه به سر اپیدیدیم بیان می‌شود (Hess et al. 2002; Saraswat et al. 2015). در بیضه، گزارش‌های بیان ESR1 و ESR2 در بین گونه‌ها و همچنین بین افراد درون یک گونه بسیار متغیر است.

سطح بیان بالای mRNA ژن ESR2 در تخمدان نشان می‌دهد که استروژن به طور عمده رشد، تمایز و بلوغ سلول‌های گرانولوزا را تنظیم می‌کند (Jefferson et al. 2000). موش‌هایی که ژن ESR2 آن‌ها ناک اوت شده است به طور طبیعی رشد می‌کنند، اما چندقلوژیایی (تعداد بچه در هر زایش) در آن‌ها در مقایسه با موش‌های نوع وحشی کاهش می‌یابد (Couse and Korach 1999). سطوح بالاتر ESR2 تخمدان همچنین ممکن است زمینه ساز فنوتیپ باروری برجسته‌تری در ماده‌ها با حذف ESR2 در مقایسه با نرها باشد (Krege et al. 1998). سیگنال‌دهی ژنومی توسط گیرنده‌های استروژن شامل اتصال مستقیم به

⁴ litter size

عناصر پاسخ دهنده استروژن، عوامل رونویسی یا کمپلکس‌های کوفاکتور است که ژن‌های متعددی را تنظیم می‌کنند (Vivar et al. 2010). این نقش رونویسی ممکن است الگوی متناسب‌تری از بیان گیرنده را ایجاد کند (O'Lone et al. 2004 and 2007).



شکل ۴. بیان نسبی ژن ESR2 در بافت‌های مختلف بز کرکی راینی. K: کلیه، H: قلب، B: مغز، M: پستان، O: تخمدان، U: رحم و T: بیضه.

Figure 4. Relative expression of ESR2 gene in different tissues of Raini Cashmere goat. K: kidney, H: heart, B: brain, M: breast, O: ovary, U: uterus and T: testis.

بیان ژن ESR2 در قلب بسیار پایین و تقریباً قابل شناسایی نبود، که با نتایج سایر پژوهشگران که نشان دادند ESR2 در بافت قلب و کاردیومیوسیت‌های جدا شده از هر دو جنس (Pugach et al. 2016) و همچنین در کلیه موش بالغ بیان نمی‌شود (Sharma et al. 2004) مطابقت دارد. از آنجا که مطالعات این امر را در کاهش پاسخ هیپرتروفیک به فشار بیش از حد در ماده‌ها می‌داند (Skavdahl et al. 2005)، ممکن است بیان ESR2 قلبی در پاسخ به آسیب بافتی یا بیماری ایجاد شود. بیان ژن ESR2 در مغز نسبت به سایر بافت‌ها، به جز تخمدان بیشتر بود و این می‌تواند نشان دهنده نقش مهم آن در بافت عصبی باشد. در این راستا، ESR2 اخیراً مسئول تعدیل و ترویج سیناپتوژنز در سلول‌های عصبی قشر مغز در شرایط آزمایشگاهی (Sellers et al. 2015) و شرایط بدنی موجود زنده (Wang et al. 2018) شناخته شده است، که نشان دهنده نقش حیاتی این گیرنده در عملکرد مغز، به ویژه برای حافظه و شناخت است. علاوه بر این، نسبت بیان ESR2/ESR1 به طور فزاینده‌ای به عنوان عامل مهمی در عملکرد حافظه و کاهش شناختی با توجه به سن، در نظر گرفته می‌شود (Foster 2012).

با توجه به نتایج پژوهش حاضر و نتایج سایر محققین می‌توان نتیجه گرفت که ESR2 نقش مهمی در باروری ماده‌ها دارد، در پژوهش حاضر مشخص شد ESR2 در بافت تخمدان نسبت به بافت‌های دیگر بسیار بیشتر بیان می‌شود. لذا، ESR2 به احتمال زیاد برای باروری ماده‌ها بسیار ضروری هستند و نتایج این پژوهش را برای پژوهش‌های آینده جهت توصیف نقش ژن ESR2 به عنوان یک ژن کاندیدا برای باروری بهتر و فیزیولوژی طبیعی در حیوانات اهلی، به ویژه بز فراهم کرده است.

سپاسگزاری: از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه شهید باهنر کرمان به خاطر حمایت‌های مالی و معنوی در راستای

اجرای پژوهش حاضر سپاسگزاری می‌شود.

منابع

توحیدی نژاد فاطمه، محمدآبادی محمدرضا، اسمعیلی زاده کشکوئیه علی، نجمی نوری عذرا (۱۳۹۳) مقایسه سطوح مختلف بیان ژن Rheb در بافت‌های مختلف بز کرکی راینی. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی ۶(۴)، ۳۵-۵۰.

جعفری دره در امیر حسین، محمدآبادی محمدرضا، اسمعیلی زاده کشکوئیه علی، ریاحی مدوار علی (۱۳۹۵) بررسی بیان ژن CIB4 در بافت‌های مختلف گوسفند کرمانی با استفاده از Real Time qPCR. مجله پژوهش در نشخوارکنندگان ۴(۴)، ۱۳۲-۱۱۹.

حسینی محمدنبی، اسدی فوزی مسعود، اسمعیلی زاده کشکوئیه علی، محمدآبادی محمدرضا (۱۳۸۹) آنالیز ژنتیکی صفات رشد در بز کرکی راینی با استفاده از مدل حیوانی چند متغیره. مجله علوم دامی ایران ۴۱، ۳۲۹-۳۳۳.

عسکری ناهید، باقی زاده امین، محمدآبادی محمدرضا (۱۳۸۹). مطالعه تنوع ژنتیکی در چهار جمعیت بز کرکی راینی با استفاده از نشانگرهای ISSR. مجله ژنتیک نوین ۵، ۴۹-۵۶.

عسکری ناهید، محمدآبادی محمدرضا، بیگی نصیری محمدتقی و همکاران (۱۳۷۸). مطالعه تنوع ژنتیکی بز کرکی راینی با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره. مجله دانش کشاورزی ۱۸، ۱۶۱-۱۵۵.

علینقی زاده روح‌الله، محمدآبادی محمدرضا، زکی زاده سونیا (۱۳۸۹) چند شکلی آگزون ۲ ژن BMP15 در بز قرمز جبال بارز. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی ۲(۱)، ۸۰-۶۹.

محمدآبادی محمدرضا (۱۳۹۰) ارتباط چندشکلی ژن IGFBP-3 با صفات کرک در بز کرکی راینی. مجله ژنتیک نوین ۷، ۱۲۰-۱۱۵.

محمدآبادی محمدرضا (۱۳۹۸) بیان ژن کالپاستاتین در بز کرکی راینی با استفاده از Real Time PCR. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی ۱۱(۴)، ۲۳۴-۲۱۹.

محمدآبادی محمدرضا (۱۳۹۹) بیان ژن ESR1 در بز کرکی رابنی با استفاده از Real Time PCR. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی ۱۲(۱):۱۹۲-۱۷۷.

References

- Alinaghizadeh R, Mohammadabadi MR, Zakizadeh S (2010) Exon 2 of BMP15 gene polymorphism in Jabal Barez Red Goat. *Agric Biotechnol J*, 2, 69-80 (In Persian).
- Askari N, Baghizadeh A, Mohammadabadi MR (2008) Analysis of the genetic structure of Iranian indigenous Raeini cashmere goat populations using microsatellite markers. *Biotechnol* 2, 1-4.
- Askari N, Baghizadeh A, Mohammadabadi MR (2010) Study of genetic diversity in four populations of Raeini Cashmere goat using ISSR markers. *Modern Genet J* 5, 49-56 (In Persian).
- Askari N, Mohammadabadi MR, Beygi Nassiry MT et al. (2009) Study of Genetic Diversity of Raeini Cashmere Goat Based on Microsatellite Markers. *Journal of Agricultural Science* 18, 155-161 (In Persian).
- Baghizadeh A, Bahaaddini M, Mohammadabadi MR, Askari N (2009) Allelic Variations in Exon 2 of Caprine MHC Class II DRB3 Gene in Raeini Cashmere Goat. *Am-Eurasian J Agric Environment Sci* 6, 454-459.
- Barazandeh A, Moghbeli SM, Vatankhah M, Mohammadabadi MR (2012) Estimating non-genetic and genetic parameters of pre-weaning growth traits in Raini Cashmere goat. *Trop Anim Health Prod* 44, 811-817.
- Carreau S, Hess RA (2010) Oestrogens and spermatogenesis. *Phil Trans R Soc B* 365, 1517-1535.
- Couse JF, Korach KS (1999) Estrogen receptor null mice: what have we learned and where will they lead us? *Endocr Rev* 20, 358-417.
- Cui HX, Zhao SM, Cheng ML, et al. (2009) Cloning and Expression Levels of Genes Relating to the Ovulation Rate of the Yunling Black Goat. *Biol Reprod* 80, 219-226.
- Dumasia K, Kumar A, Deshpande Sh, et al. (2016) Differential roles of estrogen receptors, ESR1 and ESR2, in adult rat spermatogenesis. *Mol Cell Endocrinol* 428, 89-100.
- Foster TC (2012) Role of estrogen receptor alpha and Beta expression and signaling on cognitive function during aging. *Hippocampus* 22, 656-69.

- Hanrahan JP, Quirke JF (1985). Contribution of variation in ovulation rate and embryo survival to within breed variation in litter size. In: Land RB, Robinson DW (eds.), *Genetics of Reproduction in Sheep*. London: Butterworths, 193–201.
- Hassani MN, Asadi Fozi M, Esmailzadeh AK, Mohammadabadi MR (2010). A genetic analysis of growth traits in Raieni Cashmere goat using multivariate animal model. *Iran J Anim Sci* 41, 323-329 (In Persian).
- Hess RA, Zhou Q, Nie R (2002) The role of estrogens in the endocrine and paracrine regulation of the efferent ductules, epididymis and vas deferens. Pp. 317-338 in the *Epididymis: From Molecules to Clinical Practice*. B. Robaire and B.T. Hin-ton, Eds. Kluwer Academic/Plenum Press, New York.
- Hutson DD, Gurralla R, Ogola BO et al. (2019) Estrogen receptor profiles across tissues from male and female *Rattus norvegicus*. *Biol Sex Differ* 10, e4.
- Jafari Darehdor AH, Mohammadabadi MR, Esmailzadeh AK, Riahi Madvar A (2016) Investigating expression of CIB4 gene in different tissues of Kermani Sheep using Real Time qPCR. *J Rumin Res* 4, 119-132 (In Persian).
- Jahandoost S, Farhangian P, Abbasi S (2017) The effects of sex protein receptors and sex steroid hormone gene polymorphisms on breast cancer Risk. *J Natl Med Assoc* 109, 126–38.
- Jefferson WN, Couse J F, Banks EP, et al. (2000) Expression of estrogen receptor beta is developmentally regulated in reproductive tissues of male and female mice. *Biol Reprod* 62, 310-317.
- Kazuhiro I, Kuniko H I, Satoshi I (2015) Identification of estrogen-responsive genes based on the DNA binding properties of estrogen receptors using high-throughput sequencing technology. *Acta Pharmacologica Sinica* 36, 24–31.
- Krege JH, Hodgin JB, Couse JF, et al. (1998) Generation and reproductive phenotypes of mice lacking estrogen receptor beta. *Proc Natl Acad Sci USA* 95, 15677–82.
- Li T, Zhao J, Yang J et al. (2016) A meta-analysis of the association between ESR1 genetic variants and the risk of breast cancer. *PLoS ONE* 11, e0153314.
- Moghadaszadeh M, Mohammadabadi MR, Esmailzadeh Koshkoieh A (2015) Association of Exon 2 of BMP15 Gene with the Litter Size in the Raini Cashmere Goat. *Genet the 3rd Millennium* 13, 4062-4067.
- Mohammadabadi MR (2012) Relationships of IGFBP-3 gene polymorphism with cashmere traits in Raini Cashmere goat. *Modern Genet J* 7, 115-120 (In Persian).
- Mohammadabadi MR (2019) Expression of calpastatin gene in Raini Cashmere goat using Real Time PCR. *Agric Biotechnol J* 11 (4), 219-235 (In Persian).

- Mohammadabadi MR (2020) Expression of ESR1 gene in Raini Cashmere goat using Real Time PCR. *Agric Biotechnol J* 12(1), 177-192 (In Persian).
- Mohammadabadi MR, Jafari AHD, Bordbar F (2017) Molecular analysis of CIB4 gene and protein in Kermani sheep. *Brazil J Medic Biol Res* 5, e6177.
- Mohammadabadi MR, Tohidinejad F (2017) Characteristics determination of Rheb gene and protein in Raini Cashmere goat. *Iran J Appl Anim Sci* 7, 289-295.
- Molaei Moghbeli S, Barazandeh A, Vatankhah M, Mohammadabadi MR (2013) Genetics and non-genetics Parameters of body Weight for Post WEANING Traits in Raini Cashmere goats. *Trop Anim Health Prod* 45, 1519-24.
- Muramatsu M, Inoue S (2000) Estrogen receptors: how do they control reproductive and nonreproductive functions? *Biochem Biophys Res Commun* 270, 1–10.
- Ogorevc J, Dovc P (2016) Expression of estrogen receptor 1 and progesterone receptor in primary goat mammary epithelial cells. *Anim Sci J* 7, 1464-1471.
- O'Lone R, Frith MC, Karlsson EK, Hansen U (2004) Genomic targets of nuclear estrogen receptors. *Mol Endocrinol* 18, 1859–75.
- O'Lone R, Knorr K, Jaffe IZ, et al (2007) Estrogen receptors alpha and beta mediate distinct pathways of vascular gene expression, including genes involved in mitochondrial electron transport and generation of reactive oxygen species. *Mol Endocrinol* 21, 1281–96.
- Pfaffl MW, Horgan GW, Dempfle L (2002) Relative expression software tool (REST©) for group-wise comparison and statistical analysis of relative expression results in real-time PCR. *Nucleic Acids Res* 30, e36.
- Pugach EK, Blenck CL, Dragavon JM, et al. (2016) Estrogen receptor profiling and activity in cardiac myocytes. *Mol Cell Endocrinol* 431, 62–70.
- Saraswat S, Rout PK, Kharche SD et al. (2015). Estrogen receptor gene 1 expression in male goat. *Iranian J Vet Res* 17, 56-58.
- Sellers KJ, Erli F, Raval P, et al. (2015) Rapid modulation of synaptogenesis and spinogenesis by 17 β -estradiol in primary cortical neurons. *Front Cell Neurosci* 9, e137.
- Shamsalddini S, Mohammadabadi MR, Esmailizadeh AK (2016) Polymorphism of the prolactin gene and its effect on fiber traits in goat. *Russ J Genet* 52, 461–465.
- Sharma PK, Thakur MK (2004). Estrogen receptor alpha expression in mice kidney shows sex differences during aging. *Biogerontol* 5, 375–81.
- Skavdahl M, Steenbergen C, Clark J, et al. (2005) Estrogen receptor-beta mediates male-female differences in the development of pressure overload hypertrophy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 288, H469–76.

- Tohidi nezhad F, Mohammadabadi MR, Esmailizadeh AK, Najmi Noori A (2015) Comparison of different levels of Rheb gene expression in different tissues of Raini Cashmir goat. *Agric Biotechnol J* 6, 35-50 (In Persian).
- Vivar OI, Zhao X, Saunier EF, et al. (2010) Estrogen receptor beta binds to and regulates three distinct classes of target genes. *J Biol Chem* 285, 22059–66.
- Wang S, Zhu J, Xu T et al. (2018) 17 β -estradiol (E2) promotes growth and stability of new dendritic spines via estrogen receptor α pathway in intact mouse cortex. *Brain Res Bull* 137, 241–248.
- Yu KD, Rao NY, Chen AX et al. (2011) A systematic review of the relationship between polymorphic sites in the estrogen receptorbeta (ESR2) gene and breast cancer risk. *Breast Cancer Res Treat* 126, 37–45.
- Zhang Y, Zhang M, Yuan X, et al. (2015) Association between ESR1 PvuII, XbaI, and P325P polymorphisms and breast cancer susceptibility: a meta-analysis. *Med Sci Monit* 21, 2986–2996.