مجله بیوتکنولوژی کشاورزی

علمی-پژوهشی و ISC

بررسی چند شکلی اگزون ۱۷ ژن DGAT1 و ارتباط آن با درصد چربی شیر گوسفندان نژاد کردی ایستگاه اصلاح نژاد شیروان

زینب رحمانی*[۱]، سعید حسنی[۱]، سعید زره‌داران[۲]، سونیا زکی‌زاده[۳]، علیرضا خان‌احمدی[٤]

[۱] دانش آموخته کارشناسی ارشد و دانشیار گروه ژنتیک و اصلاح نژاد دام و طیور دانشگاه علوم کشاورزی و منابع‌طبیعی گرگان

[۲] استاد گروه علوم دامی دانشگاه فردوسی مشهد

[۳] دانشیار گروه علوم دامی و دامپزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان رضوی. سازمان تحقیقات و آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد، ایران

[٤] استادیار گروه علوم دامی دانشگاه گنبد کاووس

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۷/۲۲، تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۹/۲۷

چکیده

دی‌آسیل‌گلیسرول آسیل‌ترانسفراز ۱ (*DGAT1*) یک آنزیم میکروزومی است که مرحله نهایی سنتز تری‌گلیسریدها یعنی تبدیل دی آسیل گلیسرول به تری آسیل گلیسرول را تسریع می‌کند. هدف از این پژوهش، مطالعه چندشکلی اگزون ۱۷ ژن *DGTA1* و بررسی ارتباط آن با رکوردهای درصد چربی شیر گوسفندان نژاد کردی ایستگاه اصلاح‌نژاد حسین‌آباد شیروان بود. بدین منظور از ۱۰۰ رأس میش بطور تصادفی رکورد شیر گرفته شد و با دستگاه اکومیلک توتال، درصد چربی آن تعیین گردید. همچنین، DNA این میش‌ها استخراج و با استفاده از یک جفت آغازگر اختصاصی، یک قطعه‌ی ۳۰۹ جفت بازی اگزون ۱۷ این ژن تکثیر شد. ژنوتیپ‌ها به روش PCR-RFLP و هضم با آنزیم اندونوکلئاز *ALuI* تعیین شدند. فراوانی آلل C و T این ژن به ترتیب ۰/٦۵ و ۰/۳۵ محاسبه شد. آنالیز آماری با رویه GLM نرم‌افزار SAS 9.1 انجام شد و بیانگر ارتباط معنی‌دار ژنوتیپ‌ها با درصد چربی شیر میش‌ها بود (P<۰/۰۵)، به طوری که درصد چربی شیر میش‌های با ژنوتیپ TT نسبت به میش‌های با ژنوتیپ CC بیشتر بود. نتایج پژوهش ما نشان داد که از چندشکلی اگزون ۱۷ ژن *DGTA1* می‌توان برای افزایش درصد چربی شیر گوسفند در برنامه‌های انتخاب به کمک نشانگر استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: *ژن DGAT1، چندشکلی، گوسفند، درصد چربی شیر.*

*نویسنده مسئول: زینب رحمانی تلفن: ۰۹۱۱۹۱۸٤٤٥۲ Email: Zrrahmani2010@yahoo.com

مقدمه

با توجه به ظرفیت مراتع کشور، محدودیت و کمبود منابع خوراکی، افزایش تولیدات دامی از طریق افزایش جمعیت دامی منطقی و معقول به نظر نمی‌رسد. بنابراین، بالابردن توان تولیدی دام با شرایط اقتصادی مطلوب، مهمترین و بهترین شیوه در جهت خودکفایی واقعی در تولیدات دامی است. لازمه بالا بردن توان تولیدی حیوانات مزرعه‌ای، بهبود شرایط محیطی و ساختار ژنتیکی دام‌ها است، چرا که اصلاح ژنتیکی دام‌ها از طریق تغییر نژاد یا عمل انتخاب قابل انجام است. نکته مهم این است که در شرایط اقلیمی ایران برای اصلاح نژاد گوسفند تاکید باید بر نژادهای بومی کشور باشد. لذا، توصیه می‌شود ظرفیت گوسفندهای بومی در شرایط محیطی بهتر ارزیابی شود و هدف‌های اصلاح نژادی تعیین گردد. بهبود شرایط محیطی برای همیشه نمی‌تواند تولید را بالا ببرد، بنابراین ناگزیر هستیم که با تغییر وفور ژن-های مطلوب، پتانسیل ژنتیکی افراد را بالا ببریم و این کار بدون اصلاح ساختار ژنتیکی گله و بهبود همزمان محیط با آن ممکن نخواهد بود (Rashidi, 1992). یکی از ژن‌های مطلوب که به عنوان نشانگر مولکولی به طور مستقیم و غیر مستقیم بر صفات شیری و خصوصیات آن تأثیر گذار است، ژن دی آسیل گلیسرول آسیل ترانسفراز ۱ (*DGAT1*) می‌باشد که آنزیم میکروزومی است که مرحله نهایی سنتز تری-گلیسریدها یعنی تبدیل دی آسیل گلیسرول به تری آسیل گلیسرول را تسریع می‌کند. علاوه بر نقش مهم *DGAT1* در سنتز تری گلیسرید ها و ذخیره انرژی، این آنزیم در جذب چربی از روده، اتصال لیپید و پروتئین و تشکیل لیپوپروتئین‌ها و تنظیم غلظت تری گلیسرید پلاسما، ذخیره چربی در سلول‌های چربی و متابولیسم انرژی در ماهیچه پستانداران نیز نقش مهمی دارد (Cases, *et al.*, 1998). این ژن در گاو در منطقه سانترومری کروموزوم ١٤ با اثرات عمده بر درصد چربی شیر در گاوهای شیری و ذخیره چربی در گاوهای گوشتی شناخته شده است (Schrooten; Bovenhuis, 2002; Taller *et al.*, 2003). طول تقریبی این ژن ۸/۵ کیلو باز و دارای ۱۷ اگزون و ١٦ اینترون است. یک جهش در اگزون ۱۷ این ژن در جمعیت‌های مختلف گوسفند چینی اتفاق افتاده است که توسط آنزیم *AluI* ، که توانایی شناسایی و هضم توالی AG/CT را دارد، قابل شناسایی است، به طوری که جهش در باز ١٤٦١ و منجر به تغییر T به C در اسیدآمینه شماره ٤٨٧ می‌گردد (Xu *et al.*, 2009). پژوهش‌هایی که در نژادهای گوسفند فرانسه (شامل *Lacaune*، *Manech*)، ایتالیا (شامل *Sarda*، *Massa*) و اسپانیا (شامل *Merino*، *Churra*، *Manehega* و *Segurena*) جهت برآورد تأثیر نواحی کاندیدای مؤثر بر صفات تولیدی انجام گرفته، نشان داده که مؤثرترین ژن کاندیدا بر مقدار و درصدچربی شیر

روی کروموزوم ۹ گوسفند (OAR۹) قرار گرفته است که همولوگ آن در گاو روی کروموزوم ۱٤ است (Barillet *et al.*, 2005; Moioli *et al.*, 2007). در پژوهشی که توسط Scata *et al.* (2009) انجام شد، کل ژن *DGTA1* در ۳ گوسفند نژاد ایتالیایی توالی یابی و پنج چندشکلی نوکلئوتیدی شناسایی گردید که SNP موجود در اگزون ۱۷ را در تغییرات محتوای چربی شیر گوسفند *Sarda* مؤثر دانستند. به دلیل نقش *DGAT1* در سنتز تری گلیسرید و کم بودن مطالعات موجود در مورد ارتباط این جایگاه با درصد چربی شیرگوسفند، هدف این پژوهش بررسی چند شکلی اگزون ۱۷ ژن *DGAT1* و ارتباط آن با درصد چربی شیر گوسفندان نژاد کردی ایستگاه اصلاح نژاد شیروان بود.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه از ۱۰۰ رأس میش نژاد کردی با شکم زایش های متفاوت که به ۵ گروه دسته بندی شدند، واقع در ایستگاه اصلاح نژاد حسین آباد شیروان به طور تصادفی خونگیری و رکوردبرداری درصد چربی شیر صورت گرفت. برای خونگیری از هر دام ۵ میلی لیتر خون در لوله‌های ونوجکت[1] EDTA (۰/۵ مولار) از سیاهرگ گردن (وداج) جمع آوری گردید و بلافاصله به درون یخ منتقل شد و برای استخراج DNA و سایر آزمایشات مولکولی به آزمایشگاه ژنتیک دانشکده علوم دامی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع‌طبیعی گرگان منتقل شد. رکوردگیری از هر رأس میش در اردیبهشت ماه ۹۱ شروع و تا پایان دوره شیردهی، هر ۲ هفته یکبار تکرار شد، به طوری که از شیر میشی که یک هفته از تاریخ زایش آن گذشته بود، رکوردگیری صورت گرفت. سپس نمونه‌های شیر برای تعیین درصد چربی شیر درون فالکون‌های ۵۰cc توسط دستگاه اکومیلک توتال به آزمایشگاه مورد نظر منتقل شد. استخراج DNA با استفاده از کیت استخراج با نامCinnaPure DNA (شرکت سیناژن) انجام گرفت. در این کیت روش استخراج مبتنی بر استفاده از ایزوتیوسیانات گوانیدین به عنوان یک عامل لیز کننده سلول‌های خونی و جمع‌آوری DNA آزاد شده به کمک ذرات سلیکا[2] استخراج شده بود. کیفیت و کمیتDNAهای استخراج شده به روش اسپکتوفتومتری با استفاده از نسبت **Error! Bookmark not defined.** A_{260}/A_{280} و نیز به کمک ژل آگارز ۰/۸٪ انجام گردید. جهت تکثیر قطعه ۳۰۹ جفت بازی اگزون ۱۷ ژن DGAT1 از آغازگرهای پیشنهادی (Yang *et al.*, 2011) که شامل توالی های زیر بود استفاده شد (شماره بانک ژن: EU178818).

Forward: 5-GCA TGT TCC GCC CTC TGG-3
Reverse:5–GGA GTC CAA CAC CCC TGA-3

[1]Ethylene Diamin Tetra Acetic Acid

[2]Silica Gel

الگوی چرخهPCR برای تکثیر قطعه مورد نظر به صورت زیر بود: ۹٤ درجه به مدت ۵ دقیقه در یک چرخه و سه مرحله، واسرشته سازی درجه و به مدت ۵ دقیقه در یک چرخه. جهت تکثیر DNA در این پژوهش از دستگاه ترموسایکلر مدل Personal Cycler شرکت بیومترا (آلمان) و برای انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز از کیت شرکت سیناژن (ایران) استفاده شد. این کیت حاوی Master mix با ترکیب Taq DNAPolymeras با غلظت ۰/۰٤ واحد بر میکرولیتر، بافر PCR، MgCl2 با غلظت ۳ میلی مولار، dNTPs هرکدام با غلظت ۰/۰٤ میلی مولار، آب دوبار تقطیر و روغن معدنی بود. حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر بود، به طوری که برای هر واکنش ۱۲/۵ میکرولیتر Mastermix، ۱/۵ میکرولیتر DNA با غلظت ۱۰۰–۵۰ نانوگرم در میکرولیتر، ۱ میکرولیتر از هر آغازگر با غلظت ۱۰ پیکومول بر میکرولیتر استفاده شد و در نهایت برای رسیدن به حجم نهایی واکنش به ۲۵ میکرولیتر از آب فاقد یون[1] استفاده شد. به منظور تشخیص محصولات PCR از ژل آگارز ۱/۵٪ با رنگ آمیزی اتیدیوم بروماید استفاده گردید. جهت تعیین ژنوتیپ حیوانات برای جایگاه مورد مطالعه ژن *DGAT1*، هضم آنزیمی محصولات PCR با استفاده از آنزیم برشی *AluI* (Fermentase آلمان) به مدت ۱۲ ساعت و در دمای ۳۷ درجه سانتی ثانویه با ۹٤ درجه به مدت ۱ دقیقه، اتصال بازها با ٥٦ درجه به مدت ۱ دقیقه و ۷۲ درجه به مدت ۱ دقیقه در ۳۵ چرخه و بسط نهایی در دمای ۷۲ گراد انجام گرفت. واکنش هضم شامل ۷ میکرولیتر محصول PCR، ۱ میکرولیتر بافرX۱۰ عرضه شده برای آنزیم، ۰/٤ میکرولیتر آنزیم *AluI* با غلظت $۱۰\frac{U}{\mu}$ بود. قطعات حاصل از هضم آنزیمی روی ژل آکریل آمید ۸٪ الکتروفورز شدند و تعیین ژنوتیپ بعد از رنگ آمیزی با روش نیترات نقره بطور مستقیم انجام شد. اثر ثابت ژنوتیپ بر درصد چربی شیر با استفاده از رویه GLM[2] نرم افزار SAS(9.1) و مدل آماری زیر مورد بررسی قرار گرفت.

$$y_{ijklm} = \mu + ls_i + p_j + tm_k + G_l + e_{ijklm}$$

که در آن: y_{ijklm} **Error! Bookmark not defined.**: درصد چربی شیر، μ: میانگین کل، ls_i اثر ثابت تعداد بره متولد شده در هرزایش، p_j اثر ثابت شکم زایش، tm_k اثر ثابت ماه رکوردگیری، G_l اثر ثابت ژنوتیپ و e_{ijklm} اثر تصادفی عوامل باقیمانده بود. مقایسه میانگین‌های حداقل مربعات درصد چربی شیر ژنوتیپ‌های مختلف با آزمون توکی–کرامر و سطح معنی‌دار ۵٪ انجام شد.

نتایج و بحث

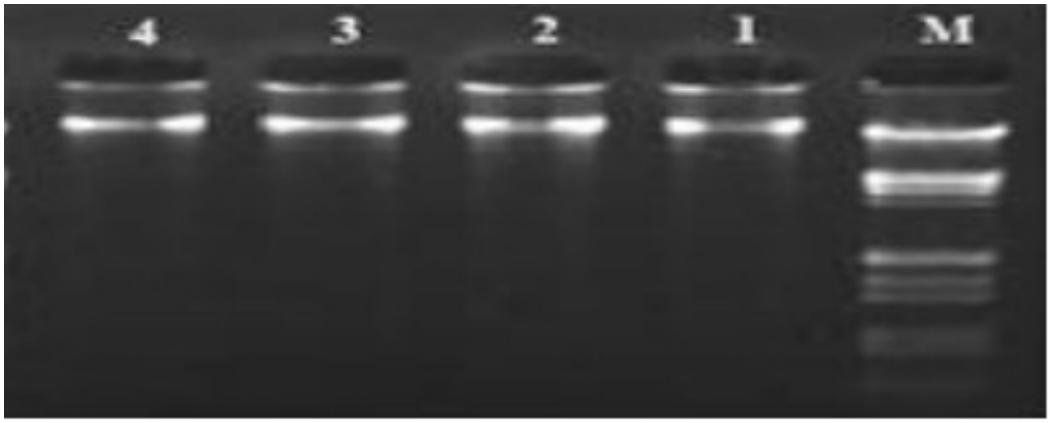
نمونه‌های DNA استخراج شده کمیت و کیفیت بسیار خوبی داشتند و برای انجام کارهای

[1]Deionized water

[2]General Linear Model (GLM)

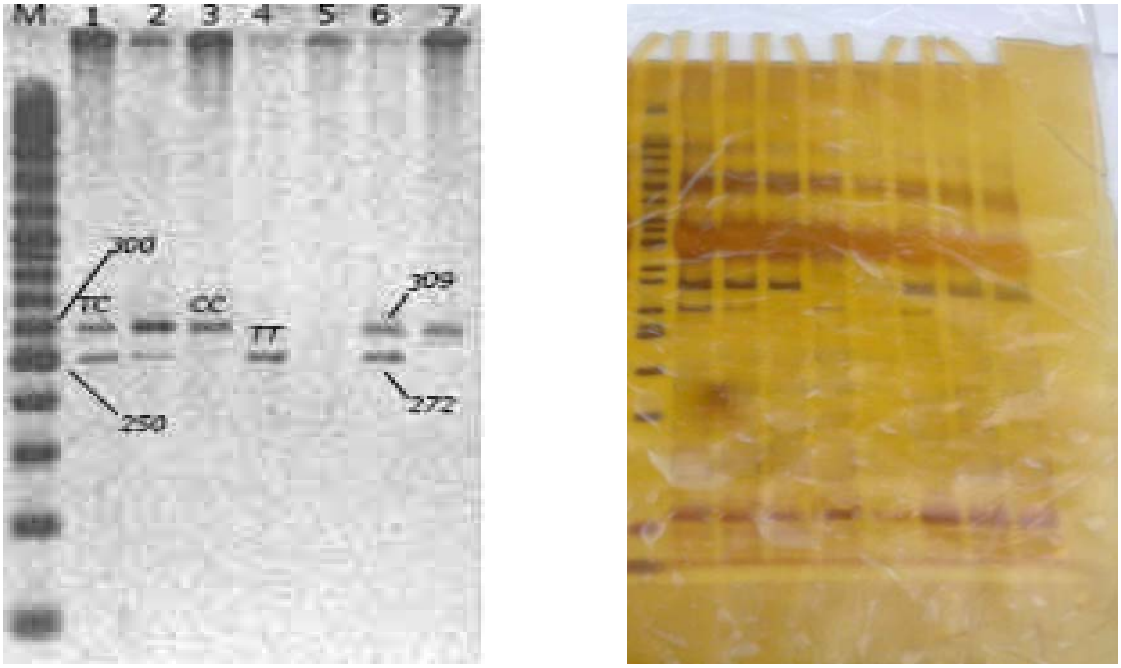
مولکولی از جمله PCR بسیار مناسب بودند. بعد از بهینه سازی شرایط واکنش PCR تکثیر قطعه ۳۰۹ جفت بازی از ژن *DGAT1* به وسیله واکنش زنجیره‌ای پلیمراز و با استفاده از آغازگرهای اختصاصی به خوبی و بدون تکثیر باند غیراختصاصی صورت گرفت (شکل ۱). نتیجه هضم الکتروفورز فرآورده‌های حاصل از هضم قطعه ۳۰۹ جفت بازی توسط آنزیم برشی *AluI* روی ژل آکریل آمید ۸ درصد به صورت ۳ ژنوتیپ TC،CC و TT در جمعیت مورد مطالعه بود (شکل ۲).

گوسفندان با ژنوتیپ هتروزیگوت (TC) دارای قطعات ۳۰۹، ۲۷۲ و ۳۷ جفت بازی بودند. در هموزیگوت TT قطعه ۳۰۹ جفت بازی به دو قطعه ۲۷۲ و ۳۷ جفت بازی برش داده می شود و در هموزیگوت CC نیز قطعه ۳۰۹ جفت بازی بدون برش باقی می‌ماند.



شکل ۱- کیفیت DNAهای استخراج شده روی ژل آگارز (۰/۸٪).

Figure 1- Extracted DNA quality on agarose gel (0.8%).



شکل ۲- جداسازی الکتروفورزی محصولات تکثیر شده PCR ژن *DGAT1* توسط آنزیم هضم کننده *AluI* روی ژل آکریلامید (۸٪)، مارکر M50.

Figure 3- Electrophoretic separation of *DGAT1* gene PCR products digested with *Alu1I* on *Acrylamid* gel (8%), Ladder: M50.

ژنوتیپ‌های مشاهده شده در جمعیت مورد مطالعه، فراوانی‌های آللی و ژنوتیپی در جدول ۱ نشان داده شده است. بعد از محاسبه فراوانی آللی بر اساس Falconer and MacKay (1998) آزمون مربع کا با استفاده از نرم‌افزار PopGene (Yeh, *et al*., 1999) انجام و همانطور که در جدول ۲ نشان داده شده است، مشخص گردید که تعادل هاردی-واینبرگ در این جمعیت برای ژن *DGAT1* برقرار نیست (P<۰/۰۵). عدم تعادل در این جایگاه احتمالاً نشان دهنده حضور بعضی عوامل برهم زننده تعادل از جمله انتخاب است. در این پژوهش مطابق جدول ۱ فراوانی آلل C (۰/٦۵) بیشتر از T (۰/۳۵) محاسبه شد. نتایج مشابهی در ٤ نژاد گوسفندان بومی چین برای این جایگاه ژنی توسط Yang *et al*. (2011) گزارش شده است. در آن پژوهش نیز بیشترین فراوانی برای آلل C و کمترین برای آلل T بدست آمده است و به طور متوسط ۰/٦۸ برای آلل C و ۰/۳۱ برای آلل T گزارش کردند.

جدول ۱- فراوانی ژنی و ژنوتیپی *DGAT1* در حیوانات مورد بررسی با روش PCR-RFLP.

Table 1- Gene and genotypic frequency of *DGAT1* in studied animals using PCR-RFLP.

Allele Frequency فراوانی آللی	Genotype Frequency فراوانی ژنوتیپی	number تعداد	Genotype ژنوتیپ
0.65(C)	0.35	35	CC
0.35(T)	0.6	60	TC
	0.05	5	TT

جدول ۲- نتیجه آزمون مربع کا برای ژنوتیپ‌های ژن *DGAT1* به روشPCR-RFLP.

Table 2- Chi-square test for Genotypes of *DGAT1* gene using PCR-RFLP technique.

X^2	Average of Heterozygosis متوسط هتروزیگوسیتی	$(O-E)^2/E$	Expected number تعداد مورد انتظار (E)	Observed number تعداد مشاهده شده (O)	Genotype ژنوتیپ
		1.208	42.15	35	**CC**
❋9.85806	0.45	4.45	45.73	60	**TC**
		4.195	12.14	5	**TT**

❋:P<۰/۰۵

ارتباط چندشکلی ژن *DGAT1* با درصد چربی شیر

میانگین‌های حداقل مربعات درصد چربی مربوط به ژنوتیپ‌های مختلف در گله مورد مطالعه به همراه خطای استاندارد در جدول ۳ نشان داده شده است. ارتباط بین ژنوتیپ‌ها با درصد چربی شیر در ناحیه اگزون ۱۷ ژن *DGAT1* متفاوت بود، به طوری که میش‌های با ژنوتیپ TT بیشترین درصد چربی شیر را داشتند. اختلاف بین میانگین درصد چربی شیر ژنوتیپ-های TT و CC معنی‌دار بود ولی بین هموزیگوت CC و هتروزیگوت TC تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (P>۰/۰۵). به نظر می‌رسد آلل T باعث افزایش درصد چربی شیر می‌گردد. در پژوهشی توسط Yang *et al.*(2011) چندشکلی *DGAT1* در اگزون ۱۷ در ٤ نژاد بومی چین بررسی شد و در پژوهش آنها آلل C بیشترین فراوانی ژنوتیپی را داشت که با نتایج بدست آمده در این پژوهش مطابقت داشت. در دهه‌ی اخیرQTLهای مختلفی برای صفات تولید شیر و پروتئین در جوامع

مختلف گاو شیری گزارش شده‌اند (Riquet *et al.*, 1999; Taller *et al.*, 2003). یکQTL با اثر قوی بر صفات تولیدی شیر به خصوص محتویات چربی شیر در ناحیه ۳ سانتی‌مورگانی پایانه سانترومری کروموزوم ١٤ گاوی (BTA14) توسط Riquet, *et al.*, (1999) و بعدها توسط Farnir, *et al.*, (2002) گزارش شد. همچنین ارتباط ژن *DGAT1* با صفات درصد چربی شیر و تولید شیر در گاوهای هلشتاین ایران مورد بررسی قرار گرفت (Koopaei et al., –Kharrati 2011; Kharrati-Koopaei et al., 2012). علاوه بر آن در پژوهش‌های متعددی تأثیر چندشکلی اگزون ۸ ژن *DGAT1* در اسیدآمینه شماره ۲۳۲ که سبب تغییر اسیدآمینه آلانین به لیزین (K232A) می‌شود، به عنوان یک نشانگر کاندیدا بر صفات درصد چربی شیر نژادهای شیری معرفی گردید (Kapue, *et al*. 2004; Thaller, *et al*. 2003; Ripolia, *et al*. 2006).

جدول ۳- مقایسه میانگین‌های حداقل مربعات درصد چربی شیر ژنوتیپ‌های مختلف ژن *DGAT1* در گله مورد مطالعه.

Table 3- Comparison of Least square means of milk fat percent for different genotypes of DGAT1 gene in studied herd.

Probability levels سطوح احتمال			Genotype ژنوتیپ	Standard Error ± LSMEAN خطای استاندارد ±میانگین*
CC	TC			
TT				
------	0.51	0.032	CC	**$6.28^{a} \pm 0.33$**
0.51	––––––	0.092	TC	**$6.53^{ab} \pm 0.29$**
0.032	0.092	––––––	TT	**$7.61^{b} \pm 0.48$**

***: میانگین حداقل مربعات نشان داده شده با حروف مختلف، تفاوت معنی دار بین ژنوتیپ و درصد چربی شیر وجود دارد(P<۰/۰۵).**

به طور کلی، نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که روش PCR-RFLP برای مطالعه چندشکلی‌های موجود در ژن *DGAT1* و در بررسی ارتباط آنها با صفات تولیدی مناسب است و از طرف دیگر اینکه در جمعیت مورد مطالعه ارتباط معنی‌داری بین درصد چربی شیر با چندشکلی ناحیه مورد مطالعه از اگزون ۱۷ ژن *DGAT1* وجود دارد. بر اساس گزارشات قبلی در مورد گاوهای شیری و تاثیری که این ژن بر مرحله نهایی سنتز تری‌گلیسرید دارد، و با توجه به معنی‌دار بودن ارتباط بین این جایگاه و درصد چربی شیر گوسفند کردی شیروان، می‌توان از این ارتباط برای افزایش درصد چربی شیر این نژاد با روش انتخاب به کمک نشانگر استفاده نمود.

منابع

Barillet F., Arranz JJ, Carta A (2005). Mapping quantitative trait loci for milk production and genetic polymorphisms of milk proteins in dairy sheep. Genetic Selection and evaluation 37: S109–S123.

Bovenhuis H, Schrooten C (2002). Quantitative trait loci for milk production trait in dairy cattle. Proc. of 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production. Volume II, Sept. 11-14, 2002. Montpellier, France. pp. 212-214.

Cases S, Smith SJ, Zhang YW, Meyers HM, Lear SR, Novak SS, Welch CC, Lusis AJ, Erickson SK (1998). Identification of a gene encoding an acyl CoA: diacylglycerol acyltransferase, a key enzyme intriacylglycerol synthesis. Proceedings of National Academy Sciences USA. 95: 13018-13023.

Falconer D S, Mackay TFC (1996). Introduction to Quantitative Genetics. 4th ed. London, Longman, 465pp.

Farnir F, Grisart B, Coppietersa W, Riqueta J, Berzia P, Cambisanoa N, Karima L, Mnia M, Moisiob S, Simona P, Wagenaara D, Vilkkib J (2002). Simultaneous mining of linkage and linkage disequilibrium to fine mapquantitative trait loci in outbred half-Sib pedigrees: Revisiting the location of a quantitative trait locus with major effect on milk production on bovine chromosome 14. Genetics Society of America 161: 275-287.

Moioli B, Andrea MD, Pilla F (2007). Candidate genes affecting sheep and goat milk quality. Small Ruminant Research 68: 179-192.

Kaupe B, Winter A, Fries R, Erhardt G (2004). *DGAT1* polymorphism in Bos indicus and Bos Taurus cattle breeds. Journal of Dairy Research 71: 182–187.

Kharrati-Koopaei H, Mohammad Abadi MR, Ansari-Mahyari S, Esmailizadeh-Koshkoiyeh A, Tarang AR, Potki P (2012). Effect of *DGAT1* variants on milk composition traits in Iranian Holstein cattle population. Journal of Animal Science 30: 231-239 (In Farsi).

Kharrati-Koopaei H, Mohammad Abadi MR, Ansari-Mahyari S, Esmailizadeh-Koshkoiyeh A, Tarang AR, Potki P (2011). Study of Genetic Diversity of DGAT1 gene locus and its relationship with milk production in the population of Holstein cows in Iran. Iranian Journal of Animal Science Research 3: 185-192 (In Farsi).

Rashidi A, (1992). Estimation of genetical and phenotypical parameters of economical traits in Moghani sheep. Msc thesis, Department of Animal Science, Mashhad Ferdowsi University (In Farsi).

Ripolia MV, Corva P, Giovambattista G (2006). Analysis of a polymorphism in the DGAT1 gene in 14 cattle breeds through PCR-SSCP methods. Research in Veterinary Science 80: 287–290.

Riquet J, Coppieters W, Cambisano N, Arranz J. J, Berzi P, Davis SK, Grisart B, Farnir F, Karim L, Mni M, Simon P, Taylor JF, Vanmanshoven P, Wagenaar D, Womack JE, Georges M (1999). Fine- mapping of quantitative trait loci by identity by descent in outbreed populations: application to milk production in dairy cattle. Proceedings of National Academy Sciences USA. 16: 9252–9257.

Scata MC, Napolitano F, Casu S, Carta A, Matteis GD, Signorelli F, Annicchiarico G, Catillo G, Moioli B (2009). Ovineacyl CoA:diacylglycerol acyltransferase 1–molecular characterization, polymorphisms and association with milk traits. Journal of Animal Genetics 40:737–742.

Thaller G, winter A, Ewald G, Bellmann O, Wegner J, Zuhlke, H, Fries R (2003). DGAT1, a new positional and functional candidate gene for intramuscular fat deposition in cattle. Animal Genetics 43: 354-357.

Xu QL, Chen YL, Ma RX, Xue P (2009). Polymorphism of DGAT1 associated with Intramuscular fat-mediated tenderness in sheep. Journal of the Science of Food and Agriculture 89: 232- 237.

Yang JT, zang RX, Lin WY, Xu HW, Bai Y.L, Lu YX, Wu JP (2011). Polymorphism of a mutation of DGAT1 gene in four Chinese indigenous sheep breeds. Asian Journal of Animal and Veterinary Advances 6(5): 460-468.

Yeh FC, Yang RC, Timothy BJ, Ye Z, Judy M (1999). POPGENE, theuser-friendly shareware for population genetic analysis. Molec.Biolog and Biotech.Univ Alberta. 95: 615-712.

Studying polymorphism in exon 17 of the *DGAT1* gene and its association with milk fat percentage in the Kurdi sheep breed of Shirvan

Rahmani Z.*[1], Hassani S.[1], Zerehdaran S.[2], Zakizade S.[3], Khan Ahmadi A.[4]

[1] M.Sc. graduate and Associate Professor, Department of Animal and Poultry Breeding and Genetics, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.
[2] Professor, Department of Animal Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
[3] Associate Professor, Animal Science and Veterinary Department, Khorasan Razavi Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Mashhad, Iran.
[4] Assistant Professor, Department of Animal Science, Gonbad University, Gonbad, Iran.

Abstract

Diacylglycerol acyltransferase 1 (*DGAT1*) is a microsomal enzyme that accelerates the final stage of the synthesis of triglycerides, means converting diacylglycerol to triacylglycerol. The aim of this study was to investigate polymorphism in exon 17 of the *DGAT1* gene and their associations with milk fat percentage in Kurdi sheep breed in Hussein Abad breeding station of Shirvan. Hence, milk records of 100 ewes were randomly selected and milk fat percentage was measured by Total Eco milk device. Indeed, ewe DNA was extracted and amplified by specific primers for a 309 bp fragment of exon 17 of this gene. Genotypes were determined by PCR-RFLP digested with *AluI* endonuclease enzyme. Frequencies of C and T alleles were 0.65 and 0.35, respectively. Statistical analysis was conducted by GLM procedure of SAS 9.1 software and showed significant association of genotypes with milk fat percentage ($P<0.05$), so that ewe genotyped TT had higher milk fat percentage than ewes with CC. Our results showed that it would be possible to use polymorphism of exon 17 of *DGAT1* to increase sheep milk fat percentage in marker assisted selection programs.

Key words: *DGAT1 gene, Polymorphism, Sheep, milk fat percentage*.

* Corresponding Author: Rahmani Z. Tel: 09119184452 Email: Zrrahmani2010@yahoo.com