دانشگاه فردوسی مشهد

دانشکده کشاورزی

گروه علوم دامی

پایان نامه کارشناسی ارشد

بررسی چندشکلی ژنهای PIT-1 و GDF-8 و ارتباط آنها با میانگین افزایش وزن روزانه در گوسفند بلوچی

مازیار انصاری

استاد راهنما

دکتر مجتبی طهمورث پور

استادان مشاور

دکتر محمدرضا نصیری

دکتر فریدون افتخار شاهرودی

۱۳۸۷/۸/۱۵

شهریور ۱۳۸۷

۴۷۳۸۴

دانشگاه فردوسی مشهد

دانشکده کشاورزی

گروه علوم دامی

تصویب نامه

این پایان نامه با عنوان " بررسی چند شکلی ژنهای PIT-1 و GDF-8 و ارتباطشان با میانگین افزایش وزن روزانه در گوسفندان بلوچی" توسط "مازیار انصاری" در تاریخ ۱۳۸۷/۶/۱۳ با نمره ۱۹/۷۵ و درجه ارزیابی عالی... در حضور هیات داوران با موفقیت دفاع شد.

هیات داوران

ردیف	نام و نام خانوادگی	مرتبه علمی	سمت در هیات	امضاء
۱	دکتر مجتبی طهمورث پور	استادیار	استاد راهنما	
۲	دکتر محمدرضا نصیری	استادیار	استاد مشاور	
۳	دکتر محسن دانش مسگران	استاد	استاد مدعو	
۴	دکتر حسن کرمانشاهی	دانشیار	استاد مدعو	
۵	دکتر محمدرضا نصیری	استادیار	نماینده تحصیلات تکمیلی	

۱۳۸۷/۸/۱۵

تعهد نامه

عنوان پایان نامه:

"بررسی چندشکلی ژنهای PIT-1 و GDF-8 و ارتباط آنها با میانگین افزایش وزن روزانه در گوسفند بلوچی"

اینجانب **مازیار انصاری** دانشجوی دوره کارشناسی ارشد رشته **ژنتیک و اصلاح دام** دانشکده **کشاورزی** دانشگاه **فردوسی مشهد** تحت راهنمایی **دکتر طهمورث پور** متعهد می‌شوم که:

- تحقیقات ارائه شده در این پایان نامه توسط اینجانب انجام شده و مسئول صحت و اصالت مطالب نگارش شده می باشم.
- در استفاده از نتایج پژوهشهای محققان دیگر به مرجع مورد استفاده استناد شده است.
- مطالب مندرج در پایان نامه تاکنون توسط اینجانب و یا فرد یگری برای دریافت هیچ نوع مدرک یا امتیازی در هیچ جا ارائه نشده است.
- کلیه حقوق معنوی این اثر متعلق به دانشگاه فردوسی مشهد می باشد. مقالات مستخرج با نام دانشگاه فردوسی مشهد و یا Ferdowsi University of Mashhad به چاپ خواهد رسید.
- حقوق معنوی تمام افرادی که در به دست آمدن نتایج اصلی پایان نامه تاثیر گذار بوده اند در مقالات مستخرج از رساله رعایت شده است.
- در کلیه مراحل انجام این پایان نامه در مواردی که از موجود زنده (یا بافتهای آنها) استفاده شده است ضوابط و اصول اخلاقی رعایت شده است.

تاریخ ۱۳۸۷/۶/۱۸

نام و امضاء دانشجو

مازیار انصاری

مالکیت نتایج و حق نشر

- **کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات ان (مقالات مستخرج ، برنامه های رایانه ای، نرم افزارها و تجهیزات ساخته شده) متعلق به دانشگاه فردوسی مشهد می باشد و بدون اجازه کتبی دانشگاه قابل واگذاری به شخص ثالث نیست.**
- **استفاده از اطلاعات و نتایج موجود و در پایان نامه بدون ذکر مرجع مجاز نمی‌باشد.**

چکیده

به منظور بررسی چند شکلی ژنهای pit-1 و GDF-8 و ارتباط آن با میانگین افزایش وزن روزانه، از تعداد ۲۰۱ رأس گوسفند نر و ماده بلوچی ایستگاه عباس آباد مشهد به طور تصادفی خونگیری شد. نمونه های DNA از خون کامل استخراج شد و واکنش زنجیره ای پلی مراز (PCR) برای تکثیر قطعات ۱۵۰ و ۲۹۱ جفت بازی با استفاده از یک جفت آغازگر اختصاصی انجام گرفت. چند شکلی فضایی تک رشته ای (SSCP) بر روی محصولات PCR انجام شد. برای مشاهده قطعات حاصل از ژل آکریل آمید و رنگ آمیزی نیترات نقره استفاده گردید. برای ژن pit-1 دو آلل A و B با فراوانی های ۰/۶۷ و ۰/۳۳ و سه ژنوتیپ AA، AB و BB با فراوانی های ۰/۳۷، ۰/۶۱ و ۰/۰۲ به ترتیب مشاهده گردیدند. برای ژن GDF-8 دو آلل G و D با فراوانی های ۰/۵۶ و ۰/۴۴ و سه ژنوتیپ GG، GD و DD با فراوانیهای ۰/۰۷، ۰/۷۴ و ۰/۱۹، به ترتیب بدست آمد. نتایج نشان دادند که تعادل هاردی-واینبرگ برای هر دو جایگاه ژنی در جمعیت مورد مطالعه وجود ندارد ($P\leq ۰/۰۵$). ارتباط بین ژنوتیپ ها با صفت میانگین افزایش وزن روزانه به وسیله مدلهای Mixed مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. اثر ژنوتیپ های ژنهای pit-1 و GDF-8 بر افزایش وزن روزانه معنی دار بود($P\leq ۰/۱۰$). نتایج این پژوهش نشان داد که چندشکلی ژنتیکی در جایگاههای ژنی pit-1 و GDF-8 وجود دارد و تنوع ژنتیکی آنها متوسط می باشند. با توجه به اینکه اثر ژنوتیپ های ژنهای pit-1 و GDF-8 بر افزایش وزن روزانه از تولد تا سه ماهگی معنی دار بود، ممکن است بتوان از آنها به عنوان شاخص در انتخاب گوسفندان بلوچی استفاده نمود.

کلمات کلیدی: چند شکلی، افزایش وزن روزانه، گوسفند بلوچی، pit-1 ، GDF-8، PCR-SSCP

نمی دانم پس از مرگم چه خواهد شد

نمی خواهم بدانم کوزه گر از خاک اندامم چه خواهد ساخت

ولی بسیار مشتاقم که از خاک گلویم سوتکی سازد

گلویم سوتکی باشد به دست کودکی گستاخ و بازیگوش و او

یک ریز و پی در پی

دم گرم خودش را در گلویم سخت بفشارد

و خواب خفتگان خفته را آشفته و آشفته تر سازد

بدین سان بشکند در من سکوت مرگبارم را . . . . . .

از زحمات پدر ومادر عزیزم که با تمام مشکلات زمینه ادامه تحصیل مرا

فراهم کرده اندکمال سپاسگزاری را دارم.

مقدمه

فصل اول: مقدمه

۱-۱- اهمیت اصلاح دام ۱

۱-۲- اهمیت ژنتیک مولکولی ۱

۱-۳- اهمیت بررسی ژنهای POU1F1 و GDF-8 ۲

۱-۴- اهداف تحقیق ۳

۱-۵- اهمیت انتخاب نژاد بلوچی ۴

فصل دوم: بررسی منابع

۲-۱- تعیین ژنوتیپ چندشکلی های تک نوکلئوتیدی ۵

۲-۲- بررسی روش های شناسایی SNP ها ۶

۲-۲-۱- چند شکلی فضای تک رشته ای(SSCP) ۶

۲-۲-۲- استفاده از بیکون مولکولی ۹

۲-۲-۳- آزمون Taq Man ۱۰

۲-۲-۴- سیستم بازتاب تکثیری جهش(ARMS) ۱۱

۲-۲-۵- بسط پرایمری ویژه آللی (ASPE) ۱۲

۲-۲-۶- بسط پرایمری ردیف شده (APEX) ۱۳

۲-۲-۷- بسط پرایمری با شناسایی توسط اسپکترومتری جرمی (MS) ۱۴

۲-۲-۸- Pyrosequencing ۱۴
۲-۲-۹- استفاده از فناوری ریز آرایه ۱۵
۲-۲-۱۰- تقویت DNA با دورگه سازی ویژه آللی (DEASH) ۱۶
۲-۲-۱۱- هیبریداسیون ویژه آلل دینامیک (DASH) ۱۶
۲-۲-۱۲- آنالیز هترودوپلکس (HET) ۱۷
۲-۳- بررسی روند تاریخی ژنهای تاثیرگذار بر توده عضلانی گوسفندان ۱۸
۲-۳-۱- لوکوس Callipyge ۱۹
۲-۳-۲- لوکوس rib-eye muscling ۲۰
۲-۳-۳- لوکوس Texel doublemuscling ۲۰
۲-۳-۴- سایر QTL ها برای ترکیبات لاشه در گوسفند ۲۱
۲-۴- فاکتورهای تعیین کننده عملکرد ماهیچه در افراد بالغ ۲۲
۲-۴-۱- حجم و نیروی توده عضلانی ۲۲
۲-۴-۲- نسبت انواع فیبرهای عضلانی ۲۲
۲-۴-۳- بلوغ و افزایش سن ۲۳
۲-۴-۴- تمرین و ورزش ۲۴
۲-۴-۵- وراثت ۲۴
۲-۵- توسعه عضلانی ۲۴
۲-۵-۱- سومیتوژنز ۲۵
۲-۵-۲- فاکتورهای تنظیم کننده میوژنیک ۲۵

۲-۵-۳- شناسایی میوژنیک ۲۶

۲-۵-۴- مهاجرت سلولی ۲۸

۲-۵-۵- تکثیر درمقابل تمایز ۲۸

۲-۵-۶- تنوع انواع فیبر ۲۹

۲-۵-۷- تنظیم و حفظ تنوع انواع و اندازه فیبرها ۳۱

۲-۶- توالی DNA فاکتورهای رونویسی و ساختار کروماتین ۳۲

۲-۶-۱- فاکتورهای تغییر دهنده ساختار کروماتین ۳۲

۲-۶-۲- استیله شدن هیستونها ۳۳

۲-۶-۳- اثر متقابل بین فاکتورهای باند شونده به نقاط مختلف ۳۴

۲-۷- RNA پلیمرازها و کمپلکس اصلی رونویسی ۳۵

۲-۷-۱- RNA پلیمرازI ۳۶

۲-۷-۲- RNA پلیمراز III ۳۷

۲-۷-۳- RNA پلیمراز II ۳۸

۲-۷-۳-۱- گردهمایی مرحله به مرحله و تشکیل کمپلکس رونویسی ۳۸

۲-۷-۳-۲- هولو آنزیم RNA پلیمراز ۴۰

۲-۸- TBP یک فاکتور رونویسی عمومی ۴۰

۲-۹- اعضای خانواده فاکتورهای رونویسی متصل شونده به DNA ۴۱

۲-۹-۱- همئودومن ۴۱

۲-۹-۱-۱- همئوباکس ۴۱

۲-۹-۱-۲- اتصال به DNA توسط موتیف مارپیچ-خم-مارپیچ ۴۲
۲-۹-۲- پروتئین های POU ۴۴
۲-۹-۳- پروتئینهای پاکس(Pax) ۴۹
۲-۹-۴- The Two Cysteine Two Histidine Zinc Finger ۵۱
۲-۹-۴-۱- فاکتورهای رونویسی با The Two Cystein Two Histidine Finger ۵۱
۲-۹-۴-۲- اتصال به DNA به واسطه Two cysteine two Histidine ۵۳
۲-۱۰- ارتباط میان پلی مورفیسم در ژن PIT-1 با صفات اقتصادی ۵۵
۲-۱۱- ساختار پروتئینی PIT-1 ۵۵
۲-۱۲- اشکال مختلف اسپلایسینگ PIT-1 در گونه های مختلف ۵۶
۲-۱۳- نحوه عملکرد ژن POU1F1 ۵۷
۲-۱۴- سوپر فامیلی TGF-βs ۵۸
۲-۱۵- اثرات بیولوژیک TGF-βs ۵۹
۲-۱۵-۱-تنظیم کننده چند منظوره صفات مربوط به رشد و سیستم ایمنی ۵۹
۲-۱۵-۲- اثرات خانواده TGF-βs بر تکثیر و تمایز سلولهای ماهواره ای ۵۹
۲-۱۵-۳- اثرات TGF-βs برماتریکس خارج سلولی و اسکلت سلولی ۶۰
۲-۱۵-۴- اهمیت TGF-βs در کنترل تکثیر سلولی ۶۱
۲-۱۵-۵- اهمیت TGF-βs به عنوان یک عامل سرکوب کننده ایمنی ۶۱
۲-۱۶- تاریخچه ژن GDF-8 ۶۲
۲-۱۷- نامگذاری فنوتیپ ماهیچه مضاعف ۶۲

۲-۱۸- ساختار و عملکرد پروتئین GDF-8 ۶۳

۲-۱۹- جایگاههای اتصال فاکتورهای رونویسی در ناحیه بالادست ژن GDF-8 ۶۵

۲-۲۰- حفاظت نواحی بالادست ژن GDF-8 در طول دوران تکامل ۶۶

۲-۲۱- فعالیت پروموتورژن GDF-8 در سلولهای C2C12 و فیبروبلاست ها ۶۸

۲-۲۲- فاکتورهای MEF2، MyoD و MYF5 موجب القاء پروموتورGDF-8 می شوند ۶۸

۲-۲۳- نقش عملکردی GDF-8 ۶۹

۲-۲۳-۱- تنظیم توده عضلانی توسط GDF-8 ۶۹

۲-۲۳-۲- GDF-8 و کنترل میوژنز سلولهای ماهواره ای ۷۰

۲-۲۳-۳- تاثیر GDF-8 بر کل چربی بدن، بافت آدیپوز عضلانی و تمایز آدیپوژنیک ۷۱

۲-۲۳-۴- کنترل توده استخوانی ۷۲

۲-۲۴- مشخصات فیزیولوژیکی صفت فنوتیپ ماهیچه مضاعف ۷۴

۲-۲۵-کنترل توده عضلات اسکلتی ۷۵

۲-۲۵-۱- مکانیسم هایپتروفی عضلانی ۷۵

۲-۲۵-۲- مکانیسم آتروفی عضلانی ۷۷

فصل سوم: مواد و روش ها

۳-۱- دام مورد آزمایش ۸۰

۳-۲- خونگیری ۸۰

۳-۳- استخراج DNA ۸۱

۳-۴- بررسی DNA استخراجی با الکتروفورز ۸۱
۳-۵- آماده سازی پرایمرها جهت تکثیر دو ناحیه از ژنهای PIT-1 و GDF-8 ۸۳
۳-۶- انجام واکنش زنجیره ای پلیمراز(PCR) ۸۴
۳-۷- الکتروفورز محصولات PCR ۸۴
۳-۸- SSCP توالی های PIT-1 و GDF-8 ۸۶
۳-۸-۱- تهیهٔ ژل پلی‌آکریلامید ٪۱۰ و ٪۱۴ ۸۷
۳-۸-۲- تهیه Stop Solution ۸۸
۳-۸-۳- مراحل تهیه ژل آکریل آمید ۸۸
۳-۸-۴- لود کردن نمونه ها ۸۹
۳-۹- رنگ‌آمیزی به روش نیترات نقره ۹۰
۳-۱۰- داده های مورد استفاده ۹۱
۳-۱۱- تجزیه آماری ژنوتیپ ها و مدل آماری ۹۱

فصل چهارم: نتیجه و بحث

۴-۱- بررسی ژن PIT-1 ۹۳
۴-۱-۱- آزمایش اول: بررسی ساختار ژنتیکی ۹۳
۴-۱-۲- آزمایش دوم: بررسی ارتباط بین ژنوتیپ و افزایش وزن ۹۶
۴-۲- بررسی ژن GDF-8 ۹۹
۴-۲-۱- آزمایش اول: بررسی ساختار ژنتیکی ۹۹

۴-۲-۲- آزمایش دوم: بررسی ارتباط بین ژنوتیپ و افزایش وزن ۱۰۱

۴-۳- نتیجه گیری کلی و پیشنهادات ۱۰۴

منابع ۱۰۵

فهرست اشکال

۲-۱- مراحل توسعه بافت عضلانی ۲۶

۲-۲- سطوح ساختار کروماتین در حالت فعال و غیر فعال DNA ۳۲

۲-۳- کمپلکس SWI/SNF ۳۳

۲-۴- دمتیلاسیون لایزین در موقعیت ۹ در هیستون H3 ۳۴

۲-۵- عوامل کنترل رونویسی ژنهای کد کننده hsp70 و Metallothionein ۳۵

۲-۶- رونویسی در Acanthamoeba توسط RNA پلیمرازI ۳۷

۲-۷- اتصال فاکتورها به ژن 5srRNA ۳۸

۲-۸- فعالیت هلیکازی و کینازی فاکتور TFIIH ۴۰

۲-۹- ساختار نعل اسبی TBP که توسط اشعه X شناسائی شده است ۴۲

۲-۱۰- ۴ ناحیه آلفا- هلیکس (I-IV) شناسائی شده توسط اسپکتروسکوپی NMR ۴۳

۲-۱۱- موتیف helix-turn-helix ۴۳

۲-۱۲- اتصال دومین های POU-S و POU-H به ساختار DNA دو رشته ای ۴۶

۲-۱۳- اتصال Oct-1 به توالی PORE ۴۸

۲-۱۴- ساختار فاکتور Pax پستانداران ۵۰

۲-۱۵- نمایش شماتیک موتیف Zinc Finger ۵۲
۲-۱۶- موتیف Zinc Finger در پروتئین Kuppel ۵۳
۲-۱۷- ساختار موتیف Zinc Finger ۵۴
۲-۱۸- اتصال اختصاصی به DNA توسط فاکتور رونویسی Drosophila krox-20 ۵۴
۲-۱۹- اثرات اصلی بیولوژیک خانواده TGF-βs ۶۰
۲-۲۰- مسیرهای سیگنال دهی درگیر در هایپرترفی عضلانی ۷۸
۲-۲۱- روش عملکرد IGF-I ۸۰
۲-۲۲- مسیرهای سیگنال دهی درگیر در آتروفی عضلانی ۸۱
۳-۱- مقایسه DNA استخراج شده با λDNA ۸۳
۳-۲- مولکول اتیدیوم بروماید ۸۴
۳-۳- نحوه قرارگیری مولکول اتیدیوم بروماید در درون دو رشته DNA ۸۴
۴-۱- محصولات PCR (قطعه۱۵۰جفت بازی) با نشانگر وزنی M100bp ۹۳
۴-۲- سه ژنوتیپ به دست آمده ژن pit-1 بر اساس روش SSCP ۹۳
۴-۳- محصولات PCR (قطعه۲۹۲جفت بازی) با نشانگر وزنی M100bp ۹۹
۴-۴- سه ژنوتیپ به دست آمده ژن GDF-8 بر اساس روش SSCP ۹۹

فهرست جداول

۲-۱- روشهای شناسائی جهشهای نقطه ای	۶
۲-۲- پروتئینهای تنظیم رونویسی شامل Cys2 – His2 Zinc Finger	۵۲
۳-۱- توالی پرایمری طراحی شده برای ژنهای pit-1 و GDF-8	۸۴
۳-۲- برنامه حرارتی PCR برای ژنهای pit-1 و GDF-8	۸۶
۴-۱- تست کای اسکور، تعداد و فراوانی ژنوتیپهای ژن pit-1	۹۴
۴-۲- هتروزیگوسیتی و فراوانی آللی ژن pit-1 در گوسفندان نژاد بلوچی	۹۶
۴-۳- میانگین حداقل مربعات و اشتباه معیار افزایش وزن روزانه ژنوتیپهای pit-1	۹۷
۴-۴- آزمون استیودنت ژنوتیپهای ژن pit-1 از تولد تا سه ماهگی	۹۷
۴-۵- آزمون استیودنت برای اثر متقابل Sex × pit-1	۹۸
۴-۶- آزمون استیودنت برای اثر اصلی تیپ تولد	۹۸
۴-۷- تست کای اسکور، تعداد و فراوانی ژنوتیپهای ژن GDF-8	۱۰۰
۴-۸- هتروزیگوسیتی و فراوانی آللی ژن GDF-8 در گوسفندان نژاد بلوچی	۱۰۱
۴-۹- میانگین حداقل مربعات و اشتباه معیار افزایش وزن روزانه ژنوتیپهای GDF-8	۱۰۲
۴-۱۰- آزمون استیودنت ژنوتیپهای ژن GDF-8 از تولد تا سه ماهگی	۱۰۲
۴-۱۱- آزمون استیودنت برای اثر متقابل Sex× GDF-8	۱۰۳

علائم و اختصارات

APEX	Arrayed primer extension
ARMS	Amplification refractory mutation system
ASA	Allele-specific amplification
ASP	Allele-specific PCR
ASPE	Allele-specific primer extension
ATP	Adenosine 5′- triphosphate
bFGF	basic Fibroblast Growth Factor
BMP	Bone Morphogenic Protein
BMSCs	Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem cells
CCM	Chemical Cleavage Method
CDK	Cell Division Protein Kinase
CF	Cross-linking Factor
DEASH	DNA Enrichment by Allele-Specific Hybridization
DGGE	Denaturing Gradient Gel Electrophoresis
DM	Double Muscling
ECM	Extracellular Matrix
EDTA	Etilen diamid tetra acetic acid
ERK1/2	Extracellular Signal Regulated Kinase 1/2
FG	Fast-twitch Glycolytic
FOG	Fast-twitch Oxidative Glycolytic
GAPDH	Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase
GDF-8	Growth and Differentiation factor-8
GH	Growth Hormone

GHRH-R	Growth Hormone Releasing Hormone Receptor
GsK 3β	Glycogen Synthase Kinase 3β
HET	Heteroduplex analysis
HGF	Hepatocyte Growth Factor
HLH	Helix-Loop-Helix
HPLC	High-performance Liquid Chromatography
JNK	Jun N-Terminal Kinase
LTBP-1	Latent TGF-β binding protein
MDE	Mutation Detection Enhancement
MHC	Major Histocompatibility Complex
MPC	Myogenic Precursor Cells
MRF	Muscle-specific Regulatory Factor
MS	Mass spectrometer
mTOR	mammalian Target Of Rapamycin
PASA	PCR amplification of specific alleles
PCR	Polymerase Chain Reaction
PDGF	Platelet Derived Growth Factor
PRL	Prolactine
PTT	Protein Truncation Test
QTL	Quantitative trait locus
RGD	Arg-Gly-Asp
SNP	Single nucleotide polymorphism
SO	Slow-twitch Oxidative
SSCP	Single Strand Conformation Polymorphism
TGF-β	Transforming growth factor- β
TGGE	Temperature Gradient Gel Electrophoresis
TSH	Thyroid-Stimulating Hormone
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor

۱-۱- اهمیت اصلاح دام

علم اصلاح نژادعبارت است از تغییر میانگین یک یا چند صفت در یک اجتماع در جهت مطلوب و با صرف کمترین هزینه و وقت ممکن. هدف اصلاح نژاد، افزایش فراوانی ژن‌های خوب در یک اجتماع است. زیرا تنها راهی که برای تغییر میانگین ارزش اصلاحی اجتماع وجود دارد همین راه است. بنابراین هدف اصلی اصلاح دام بالابردن کمیت و کیفیت تولیدات دامی است.

۱-۲- اهمیت ژنتیک مولکولی

مصرف روز افزون مواد پروتئینی در دنیا، ضرورت تلاش برای افزایش تولید، شناسایی منابع مهم و ارزشیابی کیفیت غذایی پروتئین‌های مختلف را توجیه می‌نماید. در گذشته، انسان بدون داشتن اطلاعاتی در زمینه عوامل بوجود آمدن صفات، و فقط بر مبنای فنوتیپ فرد و یا حداکثر خویشاوندان او به انتخاب درمورد صفات مختلف مبادرت کرده است. در حالیکه برآورد صحیح ارزش اصلاحی یک فرد موقعی امکانپذیر است که تعداد رکوردهای زیادی از آن فرد و خویشاوندان او در دسترس باشد که فراهم آوردن آنها و تامین شرایط یکسان اگر ناممکن نباشد، زمان و هزینه زیادی رامی‌طلبد. اما در سالهای اخیر روشهای ژنتیک مولکولی، ابزار دقیق و قدرتمندی را در اختیار اصلاح‌گران قرار داده است(۳۶). استفاده از تکنیکهای ژنتیک مولکولی از طریق انتخاب صحیح افراد، باعث افزایش پیشرفت ژنتیکی می‌شود. از اینرو کاربرد تکنولوژی تعیین ژنوتیپ برای ژنهای مهم اقتصادی لازم به نظر می‌رسد(۸۳). تکنولوژی DNA شامل تعداد زیادی از روشهای تحقیقاتی استفاده شده برای مطالعهٔ بیولوژی سلولی و مولکولی موجودات زنده است (۱۶).

تعیین ژنوتیپ براساس خود DNA هزینه‌های برنامه‌های اصلاح نژادی را کاهش داده و باعث کاهش فاصله بین نسلی می‌گردد. بنابراین استفاده از تکنولوژی DNA برای بهبود کیفیت و کمیت تولیدات دامی بسیار کارآمد بنظر می‌رسد (۱۰).

۱-۳- اهمیت بررسی ژنهای POU1F1 و GDF-8

فاکتور رونویسی PIT-1 (به شکل POU1F1 یا GHF-1 هم شناخته میشود) ازاعضای خانواده بزرگ POU (POU1F1،OCT1،OCT2 و UNC86) میباشد. این پروتئین در اصل فاکتور ویژه رونویسی برای بافت هیپوفیز قدامی است که در درجه اول یک نقش بسیارحیاتی درتنظیم رونویسی ژنهای هورمون رشد(GH) و پرولاکتین(PRL) و درسطوح پائین ترفعالسازی زیرواحدβ ژن هورمون آزادکننده تیروئید(TSH-β)، خود ژنPOU1F1 و ژن گیرنده هورمون آزادکننده هورمون رشد(GHRH-R) را برعهده دارد. به علاوه، این ژن درتمایز، تکثیر و نیز بقای سلولهای سوماتوتروپ، لاکتوتروپ وتیروتروپ هم نقش مهمی را برعهده دارد(۱۸۳ و ۲۸۴).

ژنPOU1F1 درگاو و گوسفند روی کروموزوم شماره ۱ واقع شده است(1q21-22). تاکنون ۱۸ نوع جهش مختلف برای این ژن شناسائی شده است که اولین آن درسال۱۹۹۲ درانسان شناسائی شد.

انواع این جهشها به طورکلی برای ٦ اگزون و٤ اینترون مشاهده شده است. این جهشهای خاص درانسان باکمبود ترشح CPHD (GH / PRL / TSH) و نقص تکاملی هیپوفیز همراه بود(۲۲۸).

فاکتوررشد تمایزیβ[1] دربرگیرنده یک گروه بزرگ ازفاکتورهای ترشحی رشد وتمایز است که نقش مهمی را درتنظیم، توسعه وهموستازی بافتها ایفا میکنند. یکی ازاعضای مهم این خانواده میواستاتین میباشد که به شکل ویژه ای درعضلات اسکلتی درحال توسعه و بالغ تضاهر مییابد و عملکردش به صورت تنظیم کننده منفی می باشد. امروزه میدانیم که موتاسیون در ژن میواستاتین به عنوان مسئول ایجاد

1. Transforming growth factor- β (TGF-β)

ماهیچه مضاعف[1](DM) درگاو محسوب میشود(۲۷). درواقع درگاو فقدان عملکرد میواستاتین با فنوتیپ ماهیچه مضاعف دربسیاری از نژادهای اروپائی دررابطه است، اما درعمل فنوتیپ DM هیچ ارتباطی با مضاعف شدن ماهیچه ها ندارد؛ بلکه تاثیراصلی آن برروی افزایش تعداد فیبرهای عضلانی[2] و طول فیبرها[3] به ویژه پیش از تولد میباشد، به طوری که گوساله های DM دربدو تولد دارای تعداد فیبرهای عضلانی به میزان دوبرابر گوساله های معمولی میباشند(۷۰). لوکوس *mh* به شکل تنگاتنگی بامارکرهای موجود درنواحی خاصی ازانتهای دیستال کروموزوم ۲ گاوی که تقریبا باهمان نواحی درانسان هم متناظراست(2q32)، دزارتباط میباشد. شباهت موقعیت نقشه ژنی میواستاتین با لوکوس *mh* بین گاوهای آبی بلژیکی[4] وموشهای دچار فقدان عملکرد میواستاتین[5]، میواستاتین را به عنوان ژن کاندید برای لوکوس *mh* معرفی کرد. ژن میواستاتین درگاو نزدیک سانترومر کرومزوم ۲ بوده (2q11) بوده و ۶۶۶۰bp طول دارد(۲۸۱).

۱-۴- اهداف تحقیق

۱- شناسایی و تعیین آللهای جایگاه ژنی PIT-1 و GDF-8

۲- بررسی ومقایسه فراوانیهای ژنوتیپی

۳- بهینه کردن رژیم PCR جهت تکثیرجایگاههای ژنی PIT-1 و GDF-8

٤- استفاده ازمارکرهای این ژنها جهت اصلاح نژادگوسفند بلوچی

۵- بررسی نوع رابطه ژنوتیپهای این ژنها با افزایش وزن روزانه گوسفند بلوچی

٦- ایجاد فرصتی درآینده جهت مطالعات QTL برروی صفات مربوط به تولید گوشت

1. double muscling
2. hyperplasia
3. hypertrophy
4. Belgian Blue
5. null