دراسة الترانسفيرين وراثياً في الأغنام العواسية

بشار فالح زغير

قسم الثروة الحيوانية – كلية الزراعة – جامعة البصرة

مجلة البصرة للعلوم الزراعية العدد(2) المجلد 28 لسنة 2015

الخلاصة

أجريت هذه الدراسة في مختبر الهندسة الوراثية التابع إلى كلية الزراعة، جامعة البصرة بعد جمع عينات من الدم من كلية الزراعة، جامعة القادسية لغرض دراسة بروتين الترانسفيرين وراثيا وهو بروتين ينقل الحديد إلى الدم وذلك باستخدام تقنية الهجرة الكهربائية بهلام متعدد الأكريلاميد بجهاز الترحيل الكهربائي العمودي. تم سحب عينات من الدم من الأغنام العواسية بواقع 57 حيوان لغرض دراسة ظاهرة التشكل الوراثي لهذا البروتين وتحديد التراكيب الوراثية له من خلال عدد الأليلات التي يتم الحصول عليها. بينت النتائج وجود ستة تراكيب وراثية لهذا البروتين كان منها ثلاثة تراكيب وراثية متماثلة وهي AA ، BB و CC وثلاثة تراكيب وراثية غير متماثلة وهي AB ، AC و BC طبقاً لحركتها في الوسط القاعدي ناتجة من وجود ثلاثة أليلات (A و B و C). أظهر تكرار الأليل A أعلى قيمة (0.377) مقارنة بالأليل B (0.369) يليها الأليل C (0.254). في حين كان تكرار التركيب الوراثي AB (0.263) أعلى قيمة مقارنة بالتركيب الوراثي BB (0.211) يليها التركيب الوراثي AC، AA، CC و BC إذ كان تكرارها (0.175، 0.158، 0.140 و 0.053) على التوالي .

الكلمات الدالة: الترحيل الكهربائي، الترانسفيرين، الأغنام العواسي، التشكل الوراثي، الدم.

المقدمة

يعد الترانسفيرين (Transferrin) من البروتينات السكرية التي تربط الحديد في بلازما الدم والتي لها دور في ضبط مستوى الحديد في السوائل الحيوية [12] . يتكون هذا البروتين بحدود 700 حامض أميني وبوزن جزيئي مقداره 80 كيلو دالتون [2]. يلعب عنصر الحديد دور مهم ورئيسي في تركيب خضاب الدم (Hemoglobin) وبشكل رئيسي كريات الدم الحمر، بالإضافة لدوره في عملية التمثيل الغذائي [24]. كذلك خلال فترة الحمل ونمو الجنين والولادة [32]. نظراً لتعدد الأشكال الوراثية لكثير من البروتينات ودورها المهم المرتبط بكثير من الصفات الإنتاجية فقد تم استخدامها بشكل كبير في تحسين الحيوان وتوصيف العشائر الحيوانية ودراسة صفاتها [13]. ويعد التنوع الوراثي ذا أهمية كبيرة في تحسين الصفات الاقتصادية والتكيف السريع مع التغيرات المحتملة في أهداف التربية [7] ، كما أنه مهم لفهم تطور السلالات والتمايز بين السلالات من خلال الجينات [10] و[8]. وتعد العوامل البيئية من الأمور المهمة في تغيير تكرار الجين لهذا البروتين وذلك حسب السلالات والتوزيع الجغرافي [19]. أجريت العديد من الدراسات حول تعدد الأشكال الوراثية لبروتين الترانسفيرين في العديد من الدول

وعلى مختلف أنواع الحيوانات كما في الأغنام والماعز في الصين واليابان والأرجنتين ونيجيريا [25]، [16]، [3] و [11] .

بدأت دراسة التشكل الوراثي لهذا البروتين من قبل Smithies and Salisbury [29] ، إذ يتميز هذا البروتين باحتوائه على العديد من التراكيب الوراثية وذلك لاحتوائه على العديد من الأليلات .

وجد أليلين فقط لهذا البروتين في الأغنام الكندية (E , D) من قبل Roberts *et al* [28]، في حين وجد Weimer *et al* [33] في أغنام الرومني البرازيلية و Missohou *et al* [23] أربعة أليلات (A, B, C, D) حصل الثاني من خلالها سبعة تراكيب وراثية عند دراسته لثلاثة سلالات من أغنام غرب أفريقيا. ووجد جايد وآخرون [1] أربعة أليلات (A, B, D, M) تشكل منها ثمانية تراكيب وراثية عند دراستهم لسلالة الأغنام العرابية في العراق.

ووجد كل من Marek Kmiec [22] و Ghatak [18] و Yadav *et al* [34] خمسة أليلات A, B, C, D, E حصل الأول من خلالها على خمسة عشر تركيب وراثي لهذا البروتين في سلالة أغنام الصوف الطويل البولندية، وحصل الثاني على ستة تراكيب وراثية لسلالة أغنام Muzaffarnagri البنغال الغربية (الهند) في حين حصل الأخير على تسعة تراكيب وراثية لأغنام Garole الهندية. كما وجد Steppa *et al* [30] ستة أليلات لسلالة أغنام المرينو البولونية.

عندها بدأ الباحثون بدراسة العلاقة بين هذه التشكلات الوراثية وبعض الصفات الإنتاجية للحيوانات كعلاقة هذا البروتين بنمو الحملان [26] ، [22] و [34]. والوزن عند الميلاد ومعدل الزيادة الوزنية [27] ، [9] و [15]. وإنتاج الصوف [14] والأداء التناسلي [33] و [30].

لذلك هدفت هذه الدراسة إلى تحديد الأشكال الوراثية الخاصة بهذا البروتين في سلالة أغنام العواسي العراقية والكشف عن الأليلات المكونة لها لعدم وجود دراسة سابقة حول هذا الموضوع ولتكون مقدمة لدراسة علاقة هذه الأليلات بالصفات الإنتاجية .

المواد وطرائق العمل

سحب 57 عينة دم من الأغنام العواسية من الحقل الحيواني التابع إلى قسم الثروة الحيوانية في كلية الزراعة بجامعة القادسية، حيث أخذ 3 مل/دم من كل حيوان ثم فصلت العينات بجهاز الطرد المركزي على 2500 دورة / دقيقة للحصول على المصل.

أجري الترحيل الكهربائي باستخدام هلام متعدد الأكريلاميد Poly Acrylamide Gel Electrophoresis (PAGE) حسب AOAC [5] بعد إجراء بعض التحويرات عليها باستخدام جهاز الترحيل الكهربائي العمودي Vertical electrophoresis المجهز من قبل شركة Clever Scientific البريطانية. حضرت محاليل هلام الفصل (Separation gel) وهلام التركيز (Staking gel) لغرض فصل بروتينات الدم وكما موضح في الجدول (1) .

وضع 3 مايكروليتر من كل عينة دم في كل حفرة بعد تخفيفه بالمحلول المخفف، ثبتت قوة التيار على 90 فولت لمدة نصف ساعة بعدها رفعت قوة التيار إلى 250 فولت لغاية نهاية التجربة بحدود 4–5 ساعات.

صبغ الهلام بصبغة Coomassi Brilliant Blue لمدة 1–2 ساعة بعدها أزيلة الصبغة بمحلول 7% حامض الخليك

التحليل الإحصائي:

حسب تكرار التراكيب الوراثية بطريقة العد المباشر، ولحساب تكرار الجين استخدمت المعادلة التالية:

$$q_{A1} = \frac{2NA1A1+NA1A2+NA1A3+\cdots+NA1An}{2N}$$

حيث يمثل:

q_{A1} = تكرار الأليل الأول .

N_{A1A1}=عدد الأفراد الأصيلة (المتماثلة) لهذا الأليل.

$N_{A1A2}+N_{A1A2}+N_{A1A3}+\ldots+N_{A1An}$=عدد الأفراد الخليطة (غير المتماثلة) لهذا الأليل.

N = العدد الكلي للحيوانات قيد الدراسة.

وهكذا لبقية الأليلات q_{A2} و q_{A3} .

جدول (1) نظام الترحيل الكهربائي لبروتين الترانسفيرين في دم الأغنام العواسية .

رقم المحلول	كمية المحلول / 100 مل	هلام الفصل 15 %	هلام التركيز 6 %	المحلول المنظم
		كمية المحلول في الخليط	كمية المحلول في الخليط	
1	أكريلأمايد 48.0 غم مثلين بز أكريلأمايد 1.2 غم	14 ml	1.5 ml	ترس 22.0 غم
2	ترس 9.0 غم حامض الستريك 2.0 غم تيميد 260 µl	11 ml	1.5 ml	حامض البوريك 4.0 غم
3	بيرسلفات الأمونيوم 30 مل / 50 ملغ	11 ml	9 ml	يكمل الحجم إلى 2.5 لتر ماء مقطر
4	ماء مقطر	8 ml	6 ml	

النتائج والمناقشة

بينت النتائج وجود ظاهرة التشكل الوراثي لبروتين الترانسفيرين في سلالة أغنام العواسي العراقية من خلال الحصول على أكثر من تركيب وراثي (جدول 2).

تتفق هذه النتيجة مع الكثير من الباحثين الذين أشاروا إلى وجود ظاهرة التشكل الوراثي لهذا البروتين في الحيوان حيث وجدت هذه الظاهرة في الأغنام [18] و [34] والماعز [17] و [4] والأبقار [29] كذلك في الجاموس [31]. وحتى في الإنسان [20] والحيوانات المختبرية الفئران [21] و الأرانب [3].

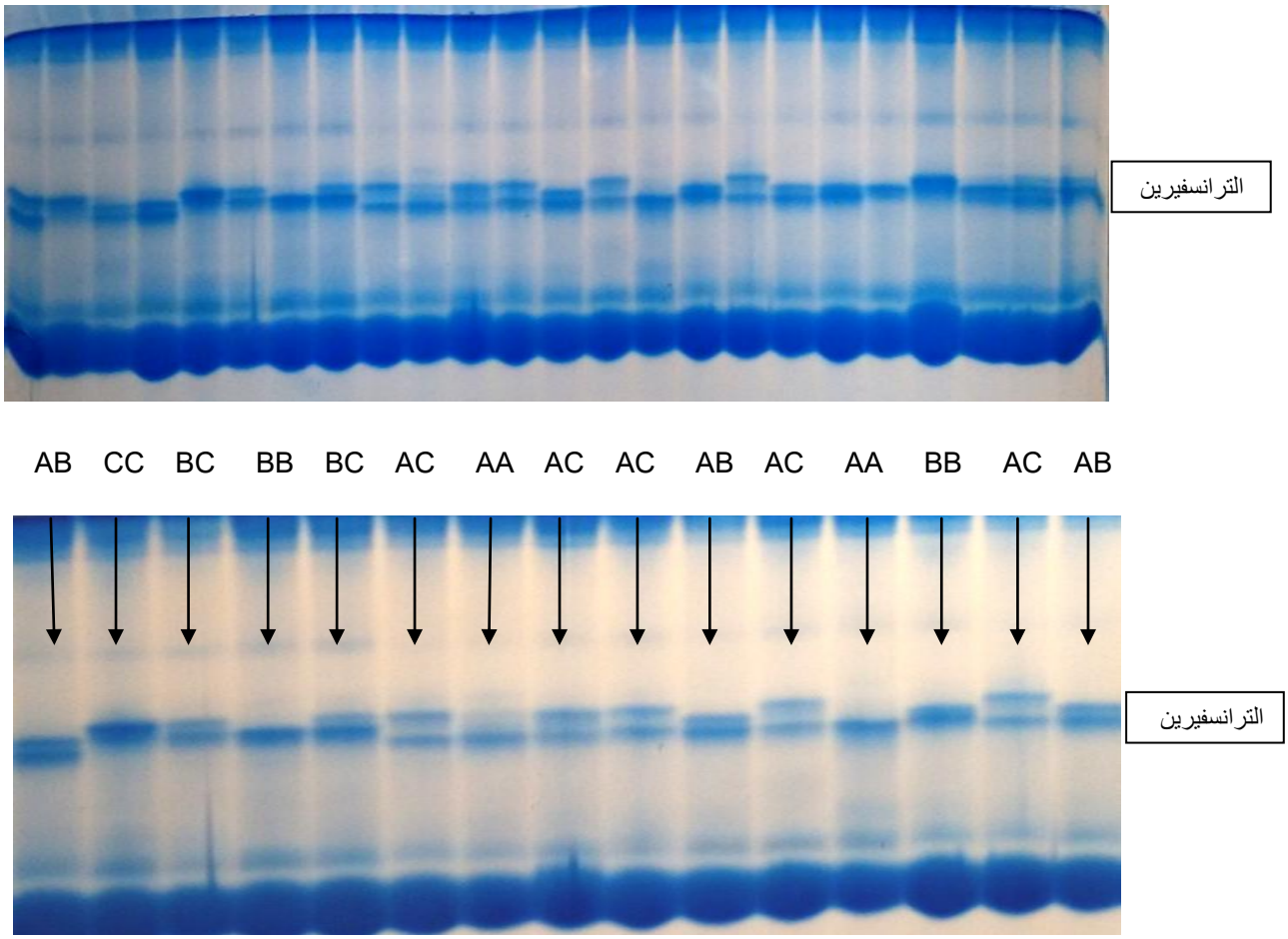
جدول (2) تكرار التراكيب الوراثية وتكرار الجين حسب التراكيب الوراثية لبروتين الترانسفيرين في الأغنام العواسية.

التركيب الوراثي	المشاهد		المتوقع		تكرار التركيب الوراثي (%)	X^2	تكرار الأليل		
	العدد	تكرار التركيب الوراثي	العدد	تكرار التركيب الوراثي			A	B	C
AA	9	0.158	7.991	0.140	15.789	13.822	0.377	0.369	0.254
BB	12	0.211	7.620	0.134	21.053				
CC	8	0.140	3.593	0.063	14.035				
AB	15	0.263	15.982	0.280	26.315				
AC	10	0.175	11.035	0.194	17.544				
BC	3	0.053	10.779	0.189	5.263				

تم الكشف عن ستة تراكيب وراثية لهذا البروتين وهي AA، AB، AC، BB، BC و CC طبقاً لهجرتها في مجال الترحيل الكهربائي في الوسط القاعدي (شكل 1)، ناتجة من وجود ثلاثة أليلات (A، B و C). كان منها ثلاثة تراكيب وراثية متماثلة (AA، BB و CC) وثلاثة تراكيب وراثية غير متماثلة (AB، AC و BC).

من خلال الجدول (2) نلاحظ أن النسبة المؤوية لتراكيب الوراثية المتماثلة و التراكيب الوراثية غير المتماثلة مساوية إلى النصف تقريباً (50.877 و 49.122) على التوالي مع تفوق بسيط للتراكيب الوراثية المتماثلة وقد أعزيه ذلك إلى التربية الداخلية لكون الحيوانات قيد الدراسة أخذت من موقع بحثي.

ولإثبات ذلك ولبيان إتزان العشيرة تم حساب قيمة مربع كاي حسب المعادلة $X^2 = \frac{(o+E)2}{E}$ حيث تمثل O عدد البيانات المشاهدة بينما تمثل E عدد البيانات المتوقعة، إذ بينت النتائج أن قيمة مربع كاي كانت مرتفعة (13.822) مما يدل على أن العشيرة غير متزنة أي أن مقدار التربية الداخلية بها عالي وقد يعود سبب ذلك إلى وجود بعض العوامل المؤثرة في تكرار الجين .



شكل (2،1) التشكل الوراثي لبروتين الترانسفيرين بهلام متعدد الأكريلامايد في دم الأغنام العواسية بطريقة الترحيل الكهربائي العمودي.

من خلال الشكل 1، 2 نلاحظ التراكيب الوراثية لبروتين الترانسفيرين وفيها نلاحظ وجود التراكيب وراثية المتماثلة وغير المتماثلة اعتماداً على وجود حزمة واحدة أو حزمتين لكل عينة وكذلك نلاحظ الاختلاف في توزيع هذه الحزم والذي يؤدي إلى تعدد التراكيب الوراثية لهذا البروتين اعتمادا على موقع الحزم. هذا ما أكدته البحوث بالإشارة إلى وجود التركيب الوراثي المتماثل من خلال وجود حزمة واحدة والتركيب الوراثي الخليط من خلال وجود حزمتين [6]. تتفق نتائج هذه الدراسة مع الكثير من الدراسات والتي أشارت إلى وجود التراكيب الوراثية المتماثلة والتراكيب الوراثية غير المتماثلة [28] ، [30] و [34].

الاستنتاجات

تشكل بروتين الترانسفيرين وراثياً في دم الأغنام العواسية أسوة ببقية السلالات الأخرى وتم الحصول على ستة تراكيب وراثية يمكن الاستفادة منها في عمليات الانتخاب والتحسين الوراثي ولتكون بداية لدراسة العلاقة بين هذه التراكيب الوراثية والصفات الإنتاجية والفسلجية الأخرى للأغنام العواسية في العراق وبالتالي تحسين الصفات المدروسة والذي ينعكس ايجابياً في تحسين واقع الثروة الحيوانية في العراق وتطورها.

المصادر

1- جايد، طالب أحمد ، يوسف، منتهى يعقوب ، زغير، بشار فالح و عويد، جعفر محمد .(2011). التشكل الوراثي لبروتين ناقل الحديد إلى الدم (الترانسفيرين) في الأغنام العرابية. مجلة ديالى للعلوم الزراعية ، 3 (2) : 69-76.

2- Aisen, P.; Leibman, A. and Zweier, J. (1978). Stoichiometric and site characteristics of the binding of iron to human transferrin. *J. Biol. Chem.* 253 (6): 1930–7.

3- Akinyemi, M. O. and Salako, A. E.(2012). Genetic relationship among Nigerian indigenous sheep populations using blood protein polymorphism. Agr. Sci. Tech., (2). 107-112.

4- Akinyemi, M. O.; Osaiyuwu, O. H.; Olaniyi, A. A. and Bello, A. D.(2014). Frequencies of the Transferrin Allele and Genotypes in Red Sokoto Goats of Nigeria. J. of Veterinary Advances 4(3): 413-417.

5- A.O.A.C.(1990). Official Methods of Analysis of the AOAC, 15th ed. Association of Official Analytical Chemist, Arlington, VA, USA.

6-Ashton,G.C.(1958).Further Gglobulin phenotypes in sheep. Nature, Lond., 182: 1101-1102.

7- Baker, C. A. and Manuel, C.(1980). Chemical classification of cattle. Blood groups. Anim. Blood Groups Biochem. Genet., 11: 127-150.

8- Bennewitz, J. and Meuwissen, T.H.(2005). A novel method for the estimation of the relative importance of breeds in order to conserve total genetic variance. Genet. Sel. Evol., 37: 315-337.

9- Bildik, A. and Yur, F.(1999). Investigation of Relationship Between Transferrin and Birth Weight and Live Weight Gain in Lambs. Tr. J. of Veterinary and Animal Sciences, 23: 43-48.

10- Blott, S. C.; Williams, J. L. and Haley,C.S.(1998). Genetic relationships among European cattle breeds. Anim. Genet., 29: 273-282.

11-Chen, C.R.; Yang, Z. P.; Jr, D.J.; Qu, D.Y.; Li, Y. L.; Mao, Y. J. and Huang, D.L. (2009). Analysis of genetic polymorphism in six meat sheep breeds and genetic distance between them. Czech J. Anim. Sci., 54(10): 461-467.

12-Crichton, R. R. and Charloteaux,W. M. (1987). Iron transport and storage. Eur. J. Biochem. 164 (3): 485–506.

13- Dally, M. R.; Hohenboken, W.; Thomas, D. L. and Craig, A. M.(1980). Relationships between hemoglobin type and reproduction, lamb, wool and milk production and health-related traits in crossbred cwes. Journal of Animal Science, 50,418-427.

14- Dellal, G.(2001). The Relationships Between Transferrin (Tf) Types and Some Wool Characteristics in Akkaraman and Anatolian Merino Ewes. Turk J. Vet. Anim. Sci., 25: 135-138.

15- Dellal, G.(2002). Effects of Environmental and Hereditary Factors on Lamb Production Traits in White Karaman and Anatolian Merino Ewes. Turk J. Vet. Anim. Sci., 26: 581-586.

16-Deza, C.G.; Perez, C.N.; Gardenal, L.; Varela, M.; Villar, S.; Rubiales, and Barioglio, C .(2000). Protein polymorphism in native goats from Central Argentina. Small Rum. Res., 35: 195-201.

17- Elmaci, C.(1998). Transferrin (Beta-Globulin) Polymorphism in Angora Goat. Tr. J. of Veterinary and Animal Sciences, 22: 321–323.

18- Ghatak, S .(2001). Haemoglobin and Transferrin polymorphism in four breeds of sheep and their association with certain economic traits. M.V.Sc. Thesis submitted to W. B. U. A. F. Sc., West Bengal.

19- Guney, O.; Ozuyanik, O.; Torun, O.; Gorgulu, M. and Darcan, N. (2003). Relationship between some polymorphic parameters and performances in Damascus goats. Pakistan J. Biol. Sci., 6(8): 738-740

20- Jinhi, A. and Rose, M. J. (1993). Origin of a Soluble Truncated Transferrin Receptor. Blood, 81(9) 2442-2451.

21- Kazuo, M.; Hatao kato, H.; Kimiyuki, T. and Tosihide, Y. (1975). Geographical Distribution Of Twelve Transferrin Alleles In Black Rats Of Asia And Oceania . National Institute of Genetics, Mishima, Japan 79: 295-304 .

22- Marek Kmiec .(1999). Transferrin Polymorphism versus Growth Rate in Lambs, Polish Long-wool Sheep. Arch. Tierz., Dummerstorf, 42 (5):469-479.

23-Missohou, A.; Nguyen, T.C. ; Sow, R. and Gueye, A.(1999). Blood polymorphism in West African breeds of sheep . Tropical Animal Health and Production . 31(3), 175-179.

24- Mullallya, A. M.; Vogelsangb, G. B. and Moliterno, A. R.(2004). Wasted sheep and premature infants: the role of trace metals in hematopoiesis. Blood Rev., 18: 227–234.

25- Nozawa, K.; Shinjo, A. and Shotake, T. (1978). Population genetic of farm animals. III. Blood protein variation in the meat goat in Okinawa Island of Japan. S. Z. Tierz ucht. Zuchtgsbiol., 95: 60-67.

26- Pasdar, M.; Makarechian, M. and Farid, A.(1976).A note on the association between transferrin types and some productive traits in Iranian sheep. Anim. Prod., Edinburgh 22: 122-125.

27- Rahman, M.F. and Konuk, T. (1977). A note on transferrin genotypes and their relationship with weight gain in sheep. Animal Production. 25: 99-101.

28- Roberts, P. R.; Nash, D. J. and Keiss, R.E.(1980). Transferrin polymorphism in bighorn sheep, Ovis canadensis, in Colorado. Western North American Naturalist.

29- Smithies, D.C. and Salisbury, G.W.(1959). Distribution and inherited variations in the serum proteins of cattle. Genetics., 43: 374-385.

30- Steppa, R.; Losarz , P.; Strojna, A. and Stanisz, M.(2007). Transferrin genotypes as genetic markers of lifetime prolificacy of ewes in a flock of prolific sheep. ANNALES Universities Mariae curie – Skłodowskalublin Polonia., 25: 55-62.

31- Tan, S. K.; Gan, Y.Y. and Jainudeen, M. R.(1980). Biochemical Polymorphisms in the Malaysian Water Buffaloes. Pertanika, 3: 103-112.

32- Tapiero, H.; Gate, L. and Tew, K. D.(2001). Iron deficiencies and requirements. Biomed. Pharmacother. 55: 324-32.

33- Weimer, T.A.; Helena, M.; Franco, P. and Moraes, C.F. (1984). Hemoglobin and transferrin types in Corriedale and Romney-Marsh sheep in Brazil. Rev. Brazil Genet. 2: 287-297.

34- Yadav, D. K.; Taraphder, S.; Dhara, K. C.; Batabyal, S.; Samanta, I. and Mitra,M. (2012). Association of

transferrin polymorphism with different economic traits of Garole sheep. International Journal of Livestock Production, 3(1): 6-11 .
35- Zaragoza, P.; Arana, A.; Rodellar , C.; Zarazaga, I. and Amorena, B.(1990). Blood biochemical polymorphisms in rabbits II. Genetic variation and distance among populations of Spanish wild rabbits and relationships with other rabbit populations. Options Mediterranean's – Series Seminaries., 8: 53-56.

Genetic Study Of Awassi Sheep Transferrin

Bashar Falih Zaqeer

Animal Production Department – College of Agriculture – Basrah University

www.alhamad.bashar@yahoo.com

Basrah J. Agric. Sci. (2) 28 , 2015

Abstract

The present study was conducted to the Laboratory of Genetic Engineering College of Agriculture, University of Basrah. After collecting blood samples from Animal Farm, College of Agriculture, University of Qadisiyah. The aim was to study of protein transferrin genetically by using vertical polyacrylamide gel electrophoresis. Blood samples of 57 Awassi sheep were used to identify transferrin genotypes. The results showed the presence of six genotypes of this protein, of three genotypes homozygous AA, BB and CC and three genotypes are heterozygous (AB, AC and BC) according to the presence of three alleles (A, B and C).The results showed the high frequency of allele A compared to alleles B and C (0.377, 0.369 and 0.254), respectively. While the frequency of AB (0.263) was higher than the value BB (0.211). followed by AC, AA, CC and BC (0.175, 0.158, 0.140 and 0.053), respectively.

.Key words: electrophoresis, transferrin, Awasi sheep, polymorphism, blood