Iranian Journal of Animal Science
Vol 47, No 4, Winter 2017 (571-577)
DOI: 10.22059/ijas.2017.141864.653415

علوم دامی ایران
دورۀ ۴۷، شمارۀ ۴، زمستان ۱۳۹۵ (ص ۵۷۷-۵۷۱)

شناسایی چندشکلی تک نوکلئوتیدی در ژن گیرندۀ ملانوکورتین-۱ (MC1R) در گوسفند لری بختیاری

مهدی عابدی ده شیخ[۱] و مصطفی محقق دولت‌آبادی[۲*]
۱ و ۲. دانشجوی کارشناسی ارشد و دانشیار ژنتیک و اصلاح دام، دانشکدۀ کشاورزی، دانشگاه یاسوج
(تاریخ دریافت: ۱۳۹٤/۱۱/۱۲ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۸/۲۱)

چکیده

گیرندۀ ملانوکورتین-۱ که توسط جایگاه گسترش کد می‌شود، نقش مهمی در تنوع رنگ پوشش در دام‌های اهلی بازی می‌کند. در این بررسی، قطعه‌ای به طول۸٤۰ جفت باز از ناحیۀ ´۵ کناری و قسمت اعظم توالی کدکنندۀ ژن *MC1R* گوسفندی در پانزده رأس گوسفند لری بختیاری با فنوتیپ متفاوت تعیین توالی شد. نتایج تعیین توالی شمار هشت چندشکلی تک نوکلئوتیدی را نشان داد که شامل پنج جهش هم‌معنی (c.464G.A, c.557G>C, c.635c>T, c.692C>T and c.932C>T) و سه جهش غیر هم‌معنی (c.128G>C, p.Phe>Tyr, c.638G>A, p.Arg>Gln and c.653G>A, p.Arg>His) بودند. بر پایۀ نتایج به‌دست‌آمده، در میان سه جهش دوم، جهش c.128G>C که منجر به تغییر اسید آمینۀ فنیل آلانین به تیروزین در برگیرندۀ ملانوکورتین-۱ شده می‌تواند بر عملکرد پروتئین مورد نظر نقش مهمی داشته باشد. افزون بر این، این چندشکلی در جایگاه ۱۲۸ تنها در یکی از فنوتیپ‌ها مشاهده شد. اگرچه، دو جهش دیگر در جایگاه‌های ٦۳۸ و ٦۵۳ منجر به تغییر اسیدآمینه شدند ولی این جهش‌ها تأثیری بر عملکرد پروتئین مربوطه نداشتند. بنابراین، نتایج پیشنهاد می‌کند که جهش‌های ژن *MC1R* در گوسفند می‌تواند با رنگ پوشش در گوسفند لری بختیاری در ارتباط باشد.

واژه‌های کلیدی: ژن ملانوکورتین-۱، رنگ پوشش، گوسفند، لری بختیاری.

Identification of single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the ovine melanocortin-1 receptor (*MC1R*) gene in Lori-Bakhtiari sheep

Mehdi Abedi Dehsheikh[1] and Mustafa Muhaghegh-Dolatabady[2*]
1, 2. M.Sc. Student and Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Yasouj University, Yasouj, Iran
(Received: Feb. 1, 2016 - Accepted: Nov. 11, 2016)

ABSTRACT

The melanocortin receptor 1 (MC1R), encoded by extension locus, plays an important role in coat color variation in livestock. In this study, the 840 bp of 5′- flanking region and most part of coding sequence of ovine *MC1R* gene was sequenced in 15 Lori-Bakhtiari sheep with different coat colors. The results showed eight single nucleotide polymorphisms (SNPs): five synonymous mutations (c.464G.A, c.557G>C, c.635c>T, c.692C>T and c.932C>T) and three non-synonymous mutations (c.128G>C, p.Phe>Tyr, c.638G>A, p.Arg>Gln and c.653G>A, p.Arg>His). Based on the results, among the three non-synonymous mutations, the c.128G>C mutation which resulting in the replacement of Phe with Tyr amino acid could affect the functional performance of MC1R protein and this substitution might cause the color variation in this breed. In addition, the c.128G>C was observed in single phenotype. However, the two SNPs at position 638 and 653 led to substitution of two amino acids in MC1R, but these mutations didnot influence on MC1R performance. Therefore, our results suggest that the mutations of ovine *MC1R* gene could be associated with coat color phenotype in Lori-Bakhtiari sheep.

Keywords: Coat color, Lori-Bakhtiari, MC1R gene, sheep.

* Corresponding author E-mail: mmuhaghegh@yu.ac.ir Tel: +98 917 3416832

مقدمه

نشخوارکنندگان کوچک، به‌ویژه نژادهای بومی نقش مهمی را در معیشت قسمت شایان توجهی از جمعیت بشر در مناطق استوایی از جنبه‌های اجتماعی و اقتصادی بازی می‌کنند (Mohammadabadi & Sataimokhtari, 2013) و در این میان پشم نقش مهمی دارد. پشم در اغلب گوسفندان ایرانی از نوع ضخیم و مناسب برای قالیبافی بوده و بهترین حالت برای این صفت سفید یکدست (بدون لکه) بودن رنگ پشم است زیرا پشم سفیدرنگ در جریان رنگرزی رنگ را به‌خوبی قبول کرده و رنگ آن ثابت می‌ماند. همچنین ازآنجایی‌که رنگ پشم بر قیمت و درآمد ناشی از پشم تأثیرگذار است، کاهش در آن می‌تواند باعث زیان تولیدکنندگان شود. رنگ پوشش در گوسفند به‌اندازه‌ای مهم است که در بسیاری از موارد تعیین‌کنندهٔ قیمت حیوان در هنگام فروش حیوان است و در صورت وجود رنگ نامطلوب باعث زیان‌های مالی در گله می‌شود (Traore *et al*., 2012). ازاین‌رو، صفت رنگ پشم در گوسفند یک صفت اقتصادی است که به دلیل چندشکلی‌های ایجادشده در ژن‌های کنترل‌کنندهٔ این صفت، رنگ‌های پوشش متفاوتی در حیوانات ایجاد می‌شود. به‌طورکلی چندشکلی تک نوکلئوتیدی نسبت به دیگر نشانگرها از مزایای بیشتری برای بررسی ساختار ژنتیکی صفات و بیماری‌ها، همچنین در بررسی‌های شناسایی ژن بر پایهٔ جمعیت دارد (Schork *et al*., 2000). ژن‌های کنترل‌کنندهٔ رنگ بدن پرشمار بوده و اثر متقابل این ژن‌ها رنگ نهایی را به وجود می‌آورد. به‌طورکلی در پستانداران، رنگ پوشش توسط ۱۲۷ لوکوس و ۸۰۰ آلل متفاوت کنترل می‌شود (Bennett & Lamoreux, 2003) ولی دو ژن آگوتی و گسترش نقش اصلی را در تعیین، تنظیم و کنترل رنگ پوشش بر عهده دارند (Searle, 1968). به‌طورمعمول جایگاه گیرندهٔ ملانوکورتین بر جایگاه آگوتی غالب است و در یک حیوان ژن آگوتی هنگامی بروز می‌کند که ژن گیرندهٔ ملانوکورتین در حالت مغلوب خود باشد. تنوع در صفت رنگ پوشش ناشی از حضور، توزیع و فعالیت‌های بیوشیمیایی ملانوسیت‌ها در ساخت (سنتز) دو نوع متفاوت ملانین (یوملانین و فی‌ملانین) است (Fontanesi *et al*., 2009) که هر دو ژن آگوتی و گسترش در این فرآیند دخیل هستند. لوکوس گسترش گیرنده‌هایی به‌نام گیرندهٔ ملاکورتین-۱[1] کد می‌کند که عضوی از بزرگ خانوادهٔ گیرنده‌های متصل به پروتئین G است و حاوی هفت ناحیهٔ غشایی است که با هورمون MSH فعال می‌شود (Long *et al*., 2006). گیرندهٔ ملاکورنین-۱ در حالت طبیعی با متصل شدن به α-MSH فعال و سبب افزایش سطح cAMPدرون‌یاخته‌ای و بالا رفتن فعالیت آنزیم پروتئین کیناز می‌شود که در چرخهٔ فعالیتی آن‌ها یوملانین ساخته می‌شود، درصورتی‌که گیرندهٔ ملانوکورتین-۱ به آگوتی متصل شود فی‌ملانین تولید می‌شود. از سوی دیگر گیرندهٔ ملانوگورتین-۱ از راه تنظیم فعالیت تایروزیناز تولید رنگ را کنترل می‌کند (Schibler *et al*., 1998). در نهایت رنگیزه‌های یوملانین و فی‌ملانین تولیدی به ترتیب رنگ‌های پوشش سیاه/قهوه‌ای و قرمز/زرد را باعث می‌شوند (Abdel-Malek, 2001). در بسیاری از پستانداران، افزایش عملکرد گیرندهٔ ملانوکورتین-۱، در ارتباط با افزایش در تولید یوملانین است و کاهش عملکرد گیرندهٔ ملانوکورتین-۱در آن‌ها باعث ایجاد رنگ پوشش سفید می‌شود (Long *et al*., 2006). ساختار ژن گیرندهٔ ملانوکورتین-۱ در همهٔ پستانداران همسان بوده و جهش در نواحی ۲ و ۳ می‌تواند باعث تغییرپذیری‌هایی در رنگ حیوان شود (Klungland & Vage, 2000). این ژن در گوسفند ۱۰۴۵ جفت باز داشته که شامل ۹۵۴ جفت باز در ناحیهٔ کدکنندهٔ، ۳۵جفت باز در ناحیهٔ ´۵ و ۵۸ جفت باز در ناحیهٔ´۳ است (Hepp *et al*., 2012). در بررسی‌های مختلف تأثیر ژن ملانوکورتین-۱ بر رنگ پوشش بیشتر گونه‌های مختلف حیوانی ارزیابی‌شده و چندشکلی‌های مختلف در نواحی کدکننده و غیرکدکنندهٔ این ژن شناسایی شده است که بعضی از جهش‌ها به‌صورت مستقیم یا غیرمستقیم در گونه‌ها مانند گوسفند (Fontanesi *et al*., 2011; vage eat al., 2003,)، بز

1. Melanocortin -1 receptor

(Javanmard *et al*., 2015) اسب (Marklund *et al*., 1996)، خوک (Liu *et al*.,2016) گاومیش (Chen *et al*., 2009) و خرگوش (Fontanesi *et al*., 2006) بر ایجاد تنوع رنگی در پوشش اثر گذاشته‌اند.

ازآنجایی‌که به‌طورمعمول جهش در این ژن منجر به بروز فنوتیپ‌های سیاه می‌شود، اما رنگ پسندیده در صنایع مربوط به پشم، سفید خالص است و وجود لکهٔ سیاه در این نژاد باعث کاهش ارزش پشم آن می‌شود، شاید بتوان در این نژاد رنگ‌های پسندیده را از راه شناسایی اصول ژنتیکی رنگ پشم بهبود بخشید. بنابراین، هدف از انجام این بررسی شناسایی چندشکلی ژن گیرندهٔ ملانوکورتین- ۱ در گوسفند نژاد لری بختیاری با رنگ‌های متفاوت بود که تاکنون هیچ گزارشی پیرامون آن یافت نشده است.

مواد و روش‌ها

در این بررسی از شمار پانزده رأس گوسفند نژاد لری بختیاری پرورش‌یافته در ایستگاه تحقیقاتی مرکز تحقیقات کشاورزی شهرکرد با ترکیب رنگی زیر استفاده شد: سه رأس گوسفند بسیار سفید، نمونه‌های قنقر قشقه (فنوتیپ به‌طورکلی رنگی همراه با لکه‌های سفید) سه رأس، نمونه‌های قنقر پیسه (فنوتیپ سفید همراه با لکه‌های رنگی پراکنده) سه رأس، نمونه‌های کبود پیسه (فنوتیپ سفید همراه با لکه‌های کبود پراکنده) سه رأس و نمونه‌های سفید لکه‌دار سه رأس. در این تحقیق سعی شده است همهٔ حیوانات انتخاب‌شدهٔ بالغ باشند تا تغییر رنگ، مرتبط با سن به کمینه برسد. با استفاده از ونوجکت‌های ۳ میلی‌لیتری (حاوی EDTA) از رگ وداجی این گوسفندان خون‌گیری به عمل آمد. با استفاده از کیت آکوآپرب استخراج DNA انجام و میزان کیفی و کمی آن با استفاده از ژل آگاروز ۰/۸ درصد بررسی شد. بر پایهٔ جهش‌های گزارش‌شده در ژن گیرندهٔ ملانوکورتین-۱ در نژادهای مختلف گوسفند و با استفاده از توالی نوکلئوتیدی ژن گیرندهٔ ملانوکورتین (Gen bank access number: Z31369.1) یک جفت آغازگر جدید توسط نرم‌افزار primer3 (https://frodo.wi.mit.edu/primer3) طراحی و در شرکت تکاپوزیست ایران ساخت شد. از آغازگرهای F: 5´-GAGAGCAAGCACCCTTTCCT-3´ و R: 5´-GAGAGTCCTGTGATTCCCCT-3´ قطعه‌ای به طول ۸۴۰ باز (۳۵۴ الی ۱۱۹۴) افزایش شد. انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز به کمک کیت لیوفیلیزه بایونیر (BiONEER) انجام گرفت که غلظت نهایی مواد در ۲۵ میکرولیتر عبارت بودند از: یک واحد آنزیم DNA پلی مراز Taq، ۲۰۰ میکرومول از هر dNTP، ۲۰۰ میلی‌مول Mgcl2، ۱۰ پیکومول از هر آغازگر، ۵۰ نانوگرم DNA و بافر استاندارد. با استفاده از دستگاه ترموسایکلر (BIORAD مدل MJ Mini) برنامهٔ گرمایی بهینه برای افزایش قطعهٔ مورد نظر به دست آمد. شرایط واکنش PCR شامل ۹۴ درجهٔ سلسیوس به مدت پنج دقیقه برای واسرشتگی اولیه، به همراه ۳۵ چرخه با ۹۴ درجهٔ سلسیوس به مدت ۴۵ ثانیه برای واسرشتگی ثانویه، ۶۳ درجهٔ سلسیوس به مدت ۴۵ ثانیه برای مرحلهٔ اتصال آغازگر، ۷۲ درجهٔ سلسیوس به مدت ۴۵ ثانیه برای گسترش آغازگر و مرحلهٔ گسترش نهایی در ۷۲ درجهٔ سلسیوس به مدت سه دقیقه بود. پس از انجام این مراحل محصولات PCR در دو تکرار تعیین توالی شد و سپس نتایج با استفاده از نرم‌افزارهای Gene Ranner، MEGA 6 و پایگاه داده‌ای SIFT تجزیه شدند. در آغاز با استفاده از نرم‌افزار Gene Runner آغاز و پایان نمونه‌های DNA خود را نسبت به نمونهٔ عادی موجود در NCBI پیدا کرده و سپس توالی پانزده نمونه در نرم‌افزار MEGA6.0 با استفاده از رویهٔ W (ClustalW) با نمونهٔ عادی در پایگاه داده‌ای NCBI هم‌ردیف شدند. پس از هم‌ردیفی، جهش‌ها شناسایی شده و جایگاه این جهش‌ها در توالی DNA و پروتئین این ژن مشخص شد. در نهایت در صورت تغییر اسیدآمینه با استفاده از پایگاه داده‌ای SIFT تأثیر این تغییر بر عملکرد پروتئین بررسی شد. نمونه‌های مورد تجزیهٔ یک توالی به اندازهٔ ۸۴۰bp بودند که به‌طورمعمول در توالی‌یابی‌ها حدود ۵۰-۴۰ نوکلئوتید از آغاز و انتهای توالی‌ها در نظر گرفته نمی‌شود.

نتایج و بحث

از شمار پانزده نمونهٔ DNA توالی‌یابی‌شدهٔ گوسفندان

لری بختیاری برای تجزیهٔ چندشکلی، دو نمونهٔ تک‌شکل (مونومورف) و سیزده نمونهٔ چندشکلی تک نوکلئوتیدی داشتند. در این قطعهٔ افزایش‌شده از ژن ملانوکورتین-۱ گوسفند، شمار هشت چندشکلی تک نوکلئوتیدی شناسایی شدند، به ترتیب عبارت‌اند از: ۵۱G>A، ۱۲۸T>A، ۱۴۴G>C، ۲۲۲C>T، ۲۷۹C>T، ۵۱۹C>T، ۶۳۸G>A، ۶۵۳G>A. شمارهٔ جایگاه‌ها بر پایهٔ شمارهٔ نوکلئوتیدی ژن در توالی ثبت‌شده در NCBI با شمارهٔ دسترسیZ31369.1 است. این هشت جهش‌های شناسایی‌شده در قطعهٔ افزایش‌شده از ژن MC1R، شمار هشت تک‌جور (هاپلوتایپ) در حیوان‌های مورد بررسی آشکار ساخت که عبارت‌اند از: تک‌جور نوع اول: GTCCCCGG، تک‌جور نوع دوم: ATCTTCGG، تک‌جور نوع سوم: GTGCCCAG، تک‌جور نوع چهارم: ATCTTTGG، تک‌جور نوع پنجم: GTGCCCGA، تک‌جور نوع ششم: GTCCCCAG، تک‌جور نوع هفتم: ATCTTTGA، تک‌جور نوع هشتم: GACCCCGG. فراوانی این تک‌جورها به ترتیب عبارت‌اند از: ۴۶، ۷/۷، ۷/۷، ۷/۷، ۷/۷، ۷/۷، ۷/۷ و ۷/۷.

در جایگاه‌های ۴۶۴G>A، ۵۵۷G>C، ۶۳۵C>T، ۶۹۲C>T و ۹۳۲C>T تغییر نوکلئوتیدی هم‌معنی[1] رخ داده، به‌طوری‌که این جهش‌ها تغییری در توالی پروتئینی این ژن ایجاد نکرد (شکل ۱).

در تحقیقی همسان Deng *et al.* (2009) جهش c.144G>C را در گوسفند بلک بوند[2] و نانپینگ[3] شناسایی کردند، این جهش تغییری در توالی پروتئینی ژن MC1R نداشت. در بررسی دیگری، چندشکلی تک نوکلئوتیدی c.429C>T در گوسفندان ایتالیایی مشاهده شد که این جهش نیز هم‌معنی بوده و تغییری بر توالی پروتئینی این ژن نداشت (Fontanesi *et al.*, 2010). همچنین در تحقیق همسان دیگری، با تعیین توالی کل منطقهٔ کدکنندهٔ ژن MC1R در بز پنج نوع جهش مشاهده شد که یک نوع از آن (c.183C>T) جهشی هم‌معنی بود که تغییر اسیدآمینه‌ای را در پی نداشت (Fontanesi *et al.*, 2009).

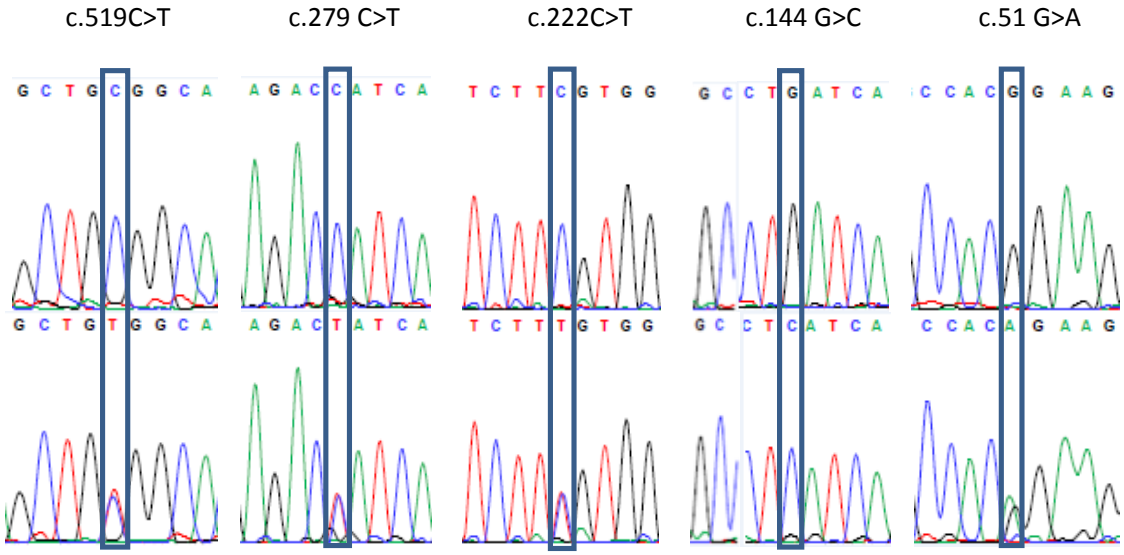
در جایگاه ۱۲۸T>A، نوکلئوتید A جایگزین نوکلئوتید T شده است (شکل۲) و این جابه‌جایی منجر به تغییر اسیدآمینه F (فنیل آلانین) در موقعیت ۴۳ به اسیدآمینهٔ Y (تایروزین) شده است (p.F43Y). بررسی تأثیر تغییر اسیدآمینه روی عملکرد پروتئین با استفاده از پایگاه SIFT نشان داد که این تغییر (در مقیاس ۰/۰۱) می‌تواند تأثیر معنی‌داری بر عملکرد پروتئین گیرندهٔ ملاکورتین-۱ داشته باشد. به‌طورکلی، گیرندهٔ ملانوکورتین در حالت طبیعی با متصل شدن به α-MSH فعال و منجر به ساخت رنگ‌دانهٔ یوملانین می‌شود و این رنگ‌دانه باعث تولید رنگ‌های سیاه/ قهوه‌ای می‌شود. با توجه به مشاهدهٔ این جهش تنها در فنوتیپ قنقرقشقه (پوشش کامل رنگی با لکه‌های سفید) در این بررسی، به نظر می‌رسد یکی از اثرگذاری‌های این جهش جلوگیری از عملکرد عادی گیرندهٔ ملانوکورتین بوده که باعث ایجاد لکه‌های سفید در این فنوتیپ شده است.

در بررسی همسان در گوسفندان نروژی دالا[4] جهش c.218T>A که منجر به تغییر اسیدآمینهٔ M (متیونین) در موقعیت ۷۳ به اسیدآمینهٔ K (لایزین) و همچنین جهش c.361G >A که باعث جابجایی اسیدآمینهٔ آسپارتیک در موقعیت ۱۲۱ به اسید آسپارژین شده‌اند در منطقهٔ کدکنندهٔ MC1R شناسایی شدند (Vage *et al.*, 1999). در این بررسی هر دو جهش منجر به تغییر پروتئین شده و با رنگ پوشش سیاه نیز در ارتباط بودند. این نتایج در گوسفندان نژاد کوریدال[5] ، داماراَ[6] ، بلک مرینو[7]، بلک کاستلانا[8] و قره‌گل[9] تکرار شد (Royo *et al.*, 2008). در پژوهش دیگری ضمن تأیید این نتایج، جهش c.199C>T را در موقعیت ۶۷ ژن MC1R در گوسفند وال‌دل‌بلیک[10] شناسایی کردند، منجر به تغییر

1. Synonymous
2. Black-boned
3. Nanping
4. Dala
5. Corriedale
6. Damara
7. Black Merino
8. Black Castellana
9. Karakul
10. Valle del Belice

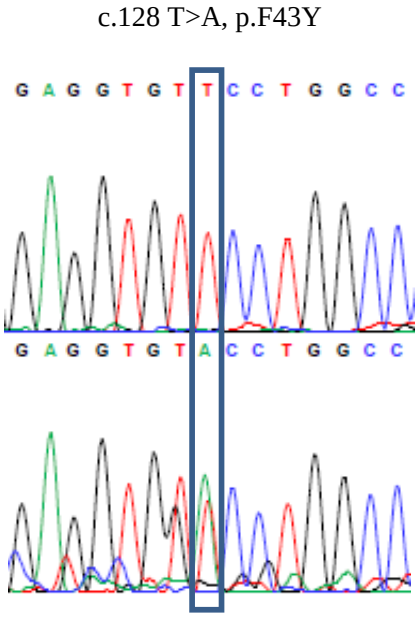
اسیدآمینه آرژنین به سیستئین ولی بر پایهٔ گزارش آنان، این جهش ارتباطی با رنگ پوشش در این نژاد نداشت (Fontanesi *et al*., 2010). در بررسی همسان دیگری همین نتایج در نژادهای گوسفند چینی تکرار شد (Yang *et al*., 2014).

در این بررسی دو جایگزینی دیگر در جایگاه‌های ۶۳۸ و ۶۵۳ مشاهده شد. در جهش ۶۳۸G>A، اسیدآمینهٔ R (آرژنین) در موقعیت ۲۱۳ به اسیدآمینهٔ Q (گلوتامین) تغییر یافته بود (P.R213Q) درحالی‌که در جهش ۶۵۳G>A اسیدآمینهٔ R (آرژنین) در موقعیت ۲۱۸ با اسیدآمینهٔ H (هیستیدین) جابه‌جا شده بود (P.R218H) (شکل۳).



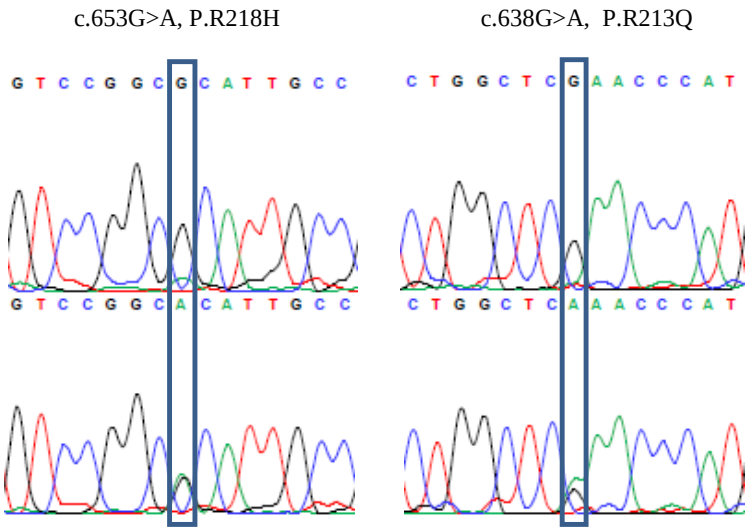
شکل ۱. جهش‌های هم‌معنی برای جایگاه‌های ۵۱، ۱۴۴، ۲۲۲، ۲۷۹ و ۵۱۹ در ژن *MC1R*

Figure 1. Synonymous mutations at positions 51, 144, 122, 279 and 519 in *MC1R* gene



شکل ۲. چندشکلی شناسایی‌شده برای جایگاه ۱۲۸ در ناحیهٔ کدکنندهٔ ژن MC1R

Figure 2. Identified SNP at position 128 in the coding sequence of ovine *MC1R* gene



شکل ۳. جهش‌های غیر هم‌معنی شناسایی‌شده در موقعیت‌های ۶۳۸ و ۶۵۳ در ژن MC1R

Figure 3. Non-synonymous mutations at positions 638 and 653 in the *MC1R* gene

بررسی تأثیر تغییر اسیدآمینه روی عملکرد پروتئین با استفاده از پایگاه SIFT نشان داد که این تغییرپذیری‌ها تأثیر معنی‌داری بر عملکرد پروتئین گیرندهٔ ملاکورتین-۱ ندارند. همسان این جهش‌ها در ژن گیرندهٔ ملانوکورتین-۱ موش گزارش شد (Goncalves *et al*., 2012). آنان برای بررسی دلیل تنوع رنگ، همهٔ ناحیهٔ کدکنندهٔ این ژن را (شامل ۱۲۵۰ جفت باز و بخش‌های مجاور ´۳ و ´۵) در موش توالی‌یابی و گزارش کردند که باوجود تغییر۲۰ آمینواسید در این توالی در اثر وقوع چندشکلی‌های تک نوکلئوتیدی، اما این تغییرگذاری‌ها ارتباطی با فنوتیپ نداشته چون در عملکرد پروتئین تغییری ایجاد نشده بود. اما در پژوهشی دیگر جهش‌های تک‌نوکلئوتیدی نواحی مختلف ژن *MC1R* را در فنوتیپ‌های متفاوت گوسفندان نژاد کارنیجل بررسی و انواع تک‌جور را معرفی کرد (Fontanesi *et al*., 2012). مجموعه‌ای از جهش‌های ایجادشده در توالی باعث ایجاد تک‌جور در هر حیوان می‌شود که برای ژن *MC1R* در این بررسی مجموع چهار تک‌جور گزارش شده است که فروانی یکی از این تک‌جورها در گوسفندان با رنگ سفید و لکه‌های سیاه در قسمت سر و سطح بدن بیشتر بود (Fontanesi *et al*., 2012).

نتیجه‌گیری کلی

ازآنجاکه صفت رنگ پوشش تحت تأثیر شمار زیادی ژن است و سازوکار تولید رنگ و ایجاد فنوتیپ‌ها بسیار پیچیده بوده و ژن MCIR به تنهایی تعیین‌کنندهٔ فنوتیپ حیوان نیست به همین دلیل برای درک سازوکار تعیین رنگ، ژن‌های دیگر را نیز باید مورد توجه قرار داد. با توجه به دستاوردهای این پژوهش، ژن گیرندهٔ ملانوکورتین در این نژاد بی‌تأثیر نیست که نیازمند بررسی‌های تکمیلی است.

REFERENCES

1. Abdel-Malek, Z. A. (2001). Melanocortin Receptors: Their functions and regulation by physiological agonists and antagonists. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 58, 434-441.
2. Bennett, D. C. & Lamoreux, M. L. (2003). The Color Loci of Mice-A Genetic Century. *Pigment Cell Society*, 16, 333-344.
3. Chen, S. Y., Huang, Yi., Qing, Z., Fontanesi, L., Yong-Gang, Y. & Ping Liu, Y. (2009). Sequence characterization of the MC1R gene in Yak (*Poephagus grunniens*) breeds with different coat colors. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 861046
4. Deng, W. D., Shu, W., Yang, S. L., Shi, X. W. & Mao, H. M. (2009). Pigmentation in Black-boned sheep (*Ovis aries*): association with polymorphism of the MC1R gene. *Molecular Biology Reports*, 36, 431-436.

5. Fontanesi, L., Tazzoli, M., Beretti, F. & Russo, V. (2006). Mutations in the melanocortin 1 receptor (MC1R) gene are associated with coat colours in the domestic rabbit (Oryctolagus cuniculus). *Animal genetics*, *37*(5), 489-493.
6. Fontanesi, L., Beretti, F., Riggio, V., Dall'Olio, S., Gonzalez, E. G. & Finocchiaro, R. (2009). Missense and nonsense mutations in melanocortin 1 Receptor (MC1R) gene of different goat breeds: association with red and black coat colour phenotypes but with unexpected evidences. *Bio Med Central Genetics*, 10, 47.
7. Fontanesi, L., Beretti, F., Riggio, V., Calascibetta, D., Russo, V. & Portolano, B. (2010). Sequence characterization of the melanocortin 1 receptor (MC1R) gene in sheep with different coat colors and identification of the putative e allele at the ovine extension locus. *Small Ruminant Research*, 91, 200-207.
8. Fontanesi, L., Dall'Olio, S., Beretti, F., Portolano, B. & Russo, V. (2011). Coat Colours in the Massese sheep breed are associated with mutations in The Agouti signaling protein (ASIP) and melanocortin 1 receptor (MCIR) genes. *The Animal Consortium*, 5, 8-17.
9. Fontanesia, L., Rustempa, A., Brkab, M. & Russoa, V. (2012) Analysis of polymorphisms in the agouti signaling protein (ASIP) and melanocortin 1 receptor (MC1R) genes and association with coat colours in two Pramenka sheep types. *Small Ruminant Research*, 97:37-45
10. Goncalves, G. L., Hoekstra, H. E. & Freitas, T. R. (2012). Striking coat colour variation in tuco-tucos (Rodentia: Ctenomyidae): a role for the melanocortin-1 receptor?. *Biological Journal of the Linnean Society*, 105(3), 665-680.
11. Hepp, D., Gonçalves, G. L., Moreira, G. R., Freitas, T. R., Martins, C. T., Weimer, T. A. & Passos, D. T. (2012). Identification of the e allele at the Extension locus (MC1R) in Brazilian Creole sheep and its role in wool color variation. *Genetics and Molecular Research*, 11(3), 2997-3006.
12. Javanmard, A., Arafnajad, B., Arpanahi, R. A. & Moradi, M. H. (2015). Polymorphisms in Melanocorn Receptor 1 Gene in Goat Breeds: A window for coat color controlling mechanism. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, *5*(4), 889-895.
13. Klungland, H. & Vage, D. I. (2000). Molecular genetics of pigmentation in domestic animals. *Current Genomics*, 1(3), 223-242.
14. Long Wu, Z., Li, X. L., Liu, Y. Q., Gong, Y. F., Liu, Z. Z., Wang, X. J., Xin, T. R. & Ji, Q. (2006). The red head and neck of Boer goats may be controlled by recessive allele of the MC1R gene. *Animal Research*, 55, 313-322.
15. Liu, R., Jin, L., Long, K., Chai, J., Ma, J., Tang, Q., Tian, S., Hu, Y., Lin, L., Wang, X. & Jiang, A. (2016). Detection of genetic diversity and selection at the coding region of the melanocortin receptor 1 (MC1R) gene in Tibetan pigs and Landrace pigs. *Gene*, 575(2), 537-542.
16. Marklund, L., Moller, M. J., Sandberg, K. & Andersson, L., 1996. A missense mutation in the gene for melanocyte-stimulating hormone receptor (MCIR) is associated with the chestnut coat color in horses. *Mammalian Genome*, 7(12), 895-899.
17. Mohammadabadi, M. R. & Sataimokhtari, R. (2013) Estimation of (Co) variance components of ewe productivity traits in kermani sheep. *Slovak Journal of Animal Science*, 46, 45-51.
18. Royo, L. J., Alvarez, I., Arranz, J. J., Fernandez, I., Rodriguez, A., Perez-Pardal, L. & Goyache, F. (2008). Differences in the expression of the ASIP gene are involved in the recessive black coat colour pattern in sheep: evidence from the rare Xalda sheep breed. *Animal genetics*, 39(3), 290-293.
19. Searle, A. G. (1968). Comparative genetics of coat colour in mammals. *Mammalian Genome*, 19(1), 394-397.
20. Schibler, L., Vaiman, D., Oustry, A., Giraud-Delville, C. & Cribiu, E. P. (1998). Comparative gene mapping: A Fine-Scale survey of chromosome rearrangements between ruminants and humans. *Genome Research*, 8, 901-915.
21. Schork, N. J., Fallin, D. & Lanchbury, S. (2000) Single nucleotide polymorphisms and the future of genetic epidemiology. *Clinical Genetics*, 58, 250-264
22. Traore, A., Royo, L. J., Kabore, A., Perez-Pardal, L., Alvarez, I., Fernandez, I. & Goyache, F. (2012). Allelic and genotypic frequencies of ASIP and MC1R genes in four West African sheep populations. *African Journal of Biotechnology*, 11(78), 14287-14291.
23. Vage, D. I., Klungland, H., Lu, D. & Cone, R. D. (1999). Molecular and pharmacological characterization of dominant black coat color in sheep. *Mammalian Genome*, 10, 39-43.
24. Vage, D. I., Fleet, M. R., Ponz, R., Olsen, R. T., Monteagudo, L. V., Tejedor, M. T. & Klungland, H. (2003). Mapping and characterization of the dominant black colour locus in sheep. *Pigment Cell Research*, 16(6), 693-697.
25. Yang, G. L., Fu, D. L., Lang, X., Yan, Y. F. & Luo, Y. Z. (2014). Genetic variation of 5 SNPs of MC1R gene in Chinese indigenous sheep breeds. *Russian Journal of Genetics*, 50(10), 1048-1059.