ژنتیک نوین
دوره پنجم، شماره ۳، پاییز ۱۳۸۹
صفحه ۸۵-۷۹

شناسایی و تعیین آلل‌های جدید در جایگاه ژنی *BoLA-DRB3.2* گاوهای سیستانی بر اساس روش‌های مولکولی

بلال صادقی*[۱]، محمدرضا نصیری[۲]، مهیار حیدرپور[۳]، فریدون افتخاری شاهرودی[۴]، علیرضا صادقی۵

۴،۳،۲،۱و۵- به ترتیب دانشجوی دکتری ژنتیک و اصلاح نژاد دام، دانشیار، استادیار، استاد گروه علوم دامی و دانشجوی دکتری میکروبیولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: sadeghi.balal@stu-mail.um.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۸۸/۴/۱۰ - تاریخ پذیرش: ۸۹/۸/۹)

چکیده

این مطالعه به منظور شناسایی آلل‌های جدید جایگاه ژنی *BoLA-DRB3.2* در گاو سیستانی انجام شد. بدین منظور از دویست راس گاو نژاد مذکور درایستگاه تحقیقاتی شهرستان زهک، خونگیری به عمل آمد. سپس DNA ژنومی از این نمونه‌ها، استخراج و ناحیه اگزون۲ جایگاه ژنی *BoLA-DRB3* به طول ۲۸٤ جفت باز با روش Hemi-Nested PCR در دو مرحله تکثیر گردید. برای برش آنزیمی قطعات DNA تکثیر یافته نیز از سه آنزیم *RsaI*، *Hae III* و *BstX2I* استفاده شد. بر این اساس در مجموع تعداد ۲٤ آلل در جایگاه ژنی *BoLA-DRB3.2* این نژاد، مورد شناسایی قرار گرفت که وجود ۲۱ آلل آن در مطالعات قبلی بر روی نژادهای دیگر نیز گزارش شده بود. اما پیش از این در مورد سه آلل دیگر ژن *DRB3.2* یعنی *obc، *ibc** و *eac** که به ترتیب با فراوانی۰/۳۳، ۱/۳۳ و ۸/۱ درصد مشاهده شدند گزارشی ثبت نشده بود. پس از توالی‌یابی این آلل‌ها با شماره‌های EU259857،EU259858 و DQ486519 در بانک جهانی ژن (NCBI)، ثبت شده و مورد تایید قرار گرفتند. تحقیق حاضر نشان داد که چند شکلی ژنتیکی بالایی در مکان ژنی *BoLA-DRB3.2* گاو سیستانی وجود دارد. علاوه بر آن، از این آلل‌های جدید می‌توان به عنوان نشانگرهای نژادی اختصاصی نیز استفاده نمود.**

واژه‌های کلیدی

توالی‌یابی،
شناسایی مولکولی،
گاو سیستانی،
BoLA-DRB3.2

مقدمه

امروزه با استفاده از نشانگرهای DNA برای شناسایی ساختار اصلی سیستم‌های توارثی و تنوع ژنتیکی در جوامع مختلف با مطالعه مکان‌های ژنی موجود در سطح ژنوم که اصطلاحا مکان ژنی می‌نامند صورت می‌گیرد (۲). مجموعه ژنی سازگاری بافتی (MHC)[۱] در واقع مکان ژنی کد کننده آنتی‌ژن‌ها و پروتئین‌های سطح لنفوسیت‌ها است که در واکنش‌های

[۱] Major Histocompatability Complex

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1389.5.3.8.3]

دفاعی بدن و شناسایی پروتئین‌های خارجی نقش بسزایی دارد. این سیستم در پرندگان سیستم B، در موش H2، در سگ DLA، در انسان HLA، در خوک SLA، در گوسفند OLA و در گاو *BoLA* نام دارد.

وجود این مکان ژنی با توجه به نقشی که مولکول‌های آن در شناسایی آنتی‌ژن‌های خودی از انواع بیگانه ایفاء می‌کنند، یک نیاز اساسی برای بقای موجود زنده می‌باشد (۲۳). در ابتدا این طور به نظر می‌رسید که مکان ژنی مذکور دارای یک ژن منفرد است که سازگاری بافتی را کنترل می‌نماید، اما رویدادهای نوترکیبی تصادفی که در جریان آمیزش بین نژادهای مختلف به وقوع پیوست، نشان داد که این مکان ژنی از چندین ژن مختلف کاملا نزدیک به هم، تشکیل گردیده است لذا مجموعه سازگاری بافتی نام گرفت. عموما مجموعه سازگاری بافتی از چند شکلی ژنتیکی بالایی برخوردار بوده و شاید پیچیده‌ترین و وسیع‌ترین سیستم ژنتیکی باشد که تاکنون مورد شناسایی قرار گرفته است (۲و۳).

در گاو این مکان ژنی به *BoLA*[1] معروف است و در سه گروه ژنی کلاس‌های یک، دو و سه بر روی بازوی کوتاه کروموزوم شماره ۲۳ قرار می‌گیرد (۸). ژن‌های متعلق به این جایگاه ژنی با تولید گلیکوپروتئین‌های ویژه سطح سلولی، موجب عرضه آنتی‌ژن‌های خارج سلولی به سلول‌های T یاور $CD4^+$[2] و در نهایت آغاز پاسخ سیستم ایمنی بدن می‌شود (۲۲). هر یک از این گروه‌های ژنی دارای ژن‌های متعددی هستند و هر ژن نیز ممکن است چندین آلل داشته باشد. ویژگی‌های دو گروه ژنی I و II این مجموعه تا کنون مورد بررسی قرار گرفته اما نقش ژن‌های گروه III هنوز به خوبی شناخته نشده است (۱۰). از این میان، گروه II خود به دو زیر گروه تقسیم می‌شود که در یک سوم انتهایی طول بازوی کوتاه کروموزوم از یکدیگر جدا شده‌اند. گروه IIa شامل مکان‌های ژنی *DRA*، *DRB1*، *DRB2*، *DRB3*، *DQA*، *DQA2*، *DQB1* و *DQB2* می‌باشد و در زیر گروه IIb نیز مکان‌های ژنی *DYA*، *DYB*، *DIB* و *DOB* وجود دارند. مکان ژنی *DRB3* دارای چند شکلی ژنتیکی بسیار بالایی بوده و در تشکیل شیار اتصال[3] به پپتید شرکت می‌کند (۱۱). چون آلل‌های مختلف سبب ایجاد شیارهای اتصال متفاوتی می‌شوند که هر یک، مختص پپتید ویژه‌ای است، لذا از *DRB3* به عنوان یک ژن معرف یا نشانگر ژنی در ارتباط با بیماری‌ها و صفات ایمونولوژیکی گاو نیز استفاده می‌شود. امروزه در اگزون شماره ۲ این مکان ژنی حدود ۸۸ آلل مختلف شناسایی شده است که بر روی بسیاری از صفات مرتبط با ایمنی دام نظیر میزان سلول‌های سوماتیک موجود در شیر و حتی صفات تولیدی همچون میزان شیر، چربی و پروتئین موثر می‌باشند (۱۶ و ۲۱).

اولین بار در سال ۱۹۹۲روش PCR-RFLP به منظور تشخیص جهش‌ها و آلل‌های مکان ژنی *BoLA-DRB3.2* مورد استفاده قرار گرفت (۲۲). علاوه بر روش فوق از روش توالی‌یابی نیز برای شناسایی آلل‌های این جایگاه ژنی استفاده گردیده و با این روش حدود ۳۰ آلل در این مکان ژنی، تشخیص داده شده است (۳ و ۱۸). تا کنون محققین مختلفی نظیر جیلیسپی و همکاران (۶) در نژاد جرسی، میکو و اندرسون (۱۱) در برخی نژادهای آفریقایی و اروپایی، داموتا و همکاران (۴) در یک نژاد بومی برزیل، جیوام‌باتیستا و همکاران (۷) در یک نژاد بومی آرژانتین، تاکشیما و همکاران (۱۷، ۱۸ و ۱۹) در برخی نژادهای بومی ژاپن، جئونگ و همکاران (۹) در یک نژاد کره‌ای، اودینا و همکاران (۲۰ و ۲۱) در نژادهای بومی روسیه، همچنین د و سینگ (۵) و بهل و همکاران (۱) نیز در نژادهای بومی هندوستان که قرابت بیشتری با نژاد سیستانی دارند، پژوهش‌هایی در این خصوص انجام داده‌اند.

در کشورمان نیز منتظر تربتی و همکاران (۱۲) در نژادهای سرابی و نجدی، نصیری و همکاران (۱٤) در نژاد هلشتاین ایرانی، مسافر و نصیری (۱۳) در نژاد گلپایگانی، پشمی و همکاران (۱۵) نیز در نژاد سرابی بومی ایران به مطالعه تنوع ژنتیکی این جایگاه ژنی پرداخته‌اند. همچنین شریف و همکاران (۱۶)، ارتباط آلل‌های این جایگاه ژنی را با بروز برخی بیماری‌ها و تعداد سلول‌های سوماتیک در نژادهای شیری کانادا مورد مطالعه قرار داده‌اند.

هدف از انجام این پژوهش، بررسی احتمال وجود الگوی جدید در مکان ژنی *BoLA-DRB3.2* گاو سیستانی ایران بود تا بدینوسیله تنوع ژنتیکی آن به صورت اختصاصی مورد مطالعه قرار گیرد.

[1] Bovine Leucocyte Antigen
[2] Cluster of Differentiation 4
[3] Groove Connection

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1389.5.3.8.3]

مواد و روش‌ها

برای انجام این پژوهش از دویست رأس گاو خالص سیستانی موجود در ایستگاه تحقیقاتی گاو سیستانی شهرستان زهک واقع در استان سیستان و بلوچستان استفاده شد. برای نمونه‌گیری از حیوانات به میزان پنج تا ده سی‌سی خون از ورید وداجی گرفته شد و جهت جلوگیری از انعقاد خون از EDTA استفاده گردید. نمونه‌های خون تا زمان انجام آزمایش در فریزر با دمای ۲۰° درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. استخراج DNA از صد میکرولیتر خون با روش بوم و همکاران (۲) صورت پذیرفت و به کمک واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) دو مرحله‌ای، قطعه ۲۸٤ جفت بازی از ژن *BoLA-DRB3.2* تکثیر گردید. بدین منظور در مرحله اول PCR از دو آغازگر HLO30 و HLO31 و در مرحله دوم از دو آغازگر HLO30 و HLO32 (جدول۱) استفاده شد (۲۲).

جدول۱- توالی آغازگرهای مورد استفاده.

آغازگر	توالی آغازگر
HL030	5’-ATCCTCTCTCTGCAGCACATTTCC-3’
HL031	5’-TTTAAATTCGCGCTCACCTCGCCGCT-3’
HL032	5’-TCGCCGCTGCACAGTGAAACTCTC-3’

در هر دو مرحله، واکنش در حجم نهایی بیست میکرولیتر شامل یک واحد تک پلیمراز، دویست میکرومول از هر dNTP، دویست میکرومول $MgCl_2$، ده تا بیست پیکامول مخلوط پرایمرها و ۰/۸ میکرولیتر DNA با غلظت پنجاه تا صد نانوگرم به انجام رسید. در مرحله اول تکثیر، واسرشت DNA با شروع داغ در دمای نود و چهار درجه سانتی‌گراد به مدت سه دقیقه، آغاز گشته و طی ده سیکل بیست و پنج ثانیه در نود و چهار درجه سانتی‌گراد، سی ثانیه در شصت درجه سانتی‌گراد، سی ثانیه در هفتاد و دو درجه سانتی‌گراد ادامه پیدا کرد و سرانجام مرحله تکثیر انتهایی به مدت پنج دقیقه در دمای هفتاد و دو درجه سانتی‌گراد خاتمه یافت (۱۸و۲۲).

در مرحله دوم از سه تا چهار میکرولیتر از محصولات واکنش زنجیره‌ای پلیمراز حاصل از مرحله اول در طی بیست و پنج سیکل چهل ثانیه در دمای نود و چهار درجه سانتی‌گراد، سی ثانیه در شصت و پنج درجه سانتی‌گراد و مرحله تکثیر انتهایی به مدت پنج دقیقه در دمای هفتاد و دو درجه سانتی‌گراد استفاده شد. برای تشخیص محصولات واکنش زنجیره‌ای پلیمراز از ژل آگارز یک درصد با رنگ‌آمیزی اتیدیوم بروماید استفاده گردید. هضم آنزیمی محصولات نیز به کمک سه آنزیم مختلف شامل *Rsa*I، *Hae*III و *Bst*X2I انجام شد. با در نظر گرفتن دمای مطلوب فعالیت آنزیمی در واکنش‌های هضمی برای آنزیم‌های اول و دوم از دمای سی و هفت درجه سانتی‌گراد و برای آنزیم سوم از دمای پنجاه درجه سانتی‌گراد استفاده شد. در ادامه، محصولات هضم شده بر روی ژل پلی‌آکریل‌آمید هشت درصد، الکتروفورز شده و با روش نیترات نقره رنگ‌آمیزی گشت. جهت تعیین طول قطعات حاصل از هضم آنزیمی نمونه‌ها از استانداردهای وزن مولکولی پنجاه جفت باز، pUC19/MspI و *pBR* 322 استفاده گردید (۱٤ و ۱۸).

پس از بررسی این آلل‌ها بر اساس روش مبتنی بر PCR-RFLP، نسبت به شناسایی الگوهای جدید اقدام به عمل آمد. از هضم محصولات PCR با هر یک از سه آنزیم اندونوکلئاز RsaI، HaeIII و BstX2I ممکن است الگوهای متفاوتی حاصل شود که هر الگو با یک حرف مشخص می‌گردد. با کنار هم قرار گرفتن سه الگوی برش یک محصول با سه آنزیم، ترکیب خاصی حاصل می‌شود که بر اساس قرارداد ارائه شده از سوی انجمن بین المللی نامگذاری *BoLA* به صورت یک آلل دو رقمی نمایش داده می‌شود.

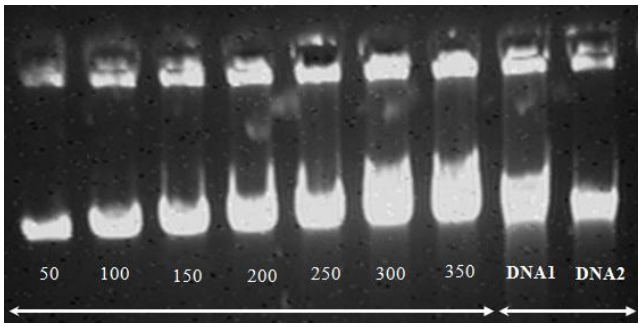
به دنبال خالص سازی فراورده‌های واکنش زنجیره‌ای پلیمراز، به منظور اطمینان از صحت وجود آلل‌های جدید در محصولات تکثیر شده از روش توالی‌یابی استفاده شد. بدین منظور، حجم صد میکرولیتر از محصولات خالص‌سازی شده واکنش زنجیره‌ای پلیمراز به همراه پنجاه میکرولیتر از هر یک از رشته آغازگرهای رفت و برگشت مورد استفاده جهت واکنش زنجیره‌ای پلیمراز که قبلا با غلظت ده پیکامولار آماده شده بودند، استفاده گردید (۱۷ و ۲۱).

پس از توالی‌یابی، توسط نرم افزار Primer Premier 5 ناحیه مورد نظر، شناسایی و با استفاده از ابزار BLAST و رویه blastn در پایگاه NCBI جهت تعیین شباهت توالی‌ها استفاده شد (۱۱ و ۲۳).

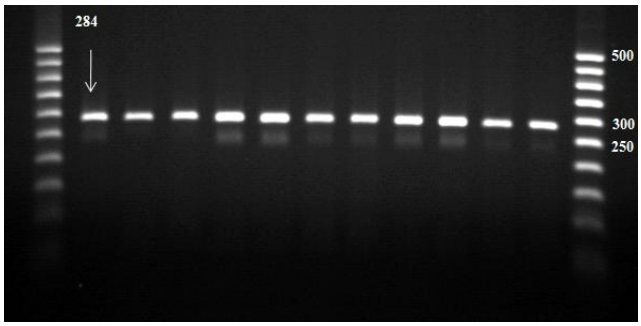
[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1389.5.3.8.3]

نتایج و بحث

در نتیجه استخراج DNA به روش ایزوتیوسیونات گوانیدین سیلیکاژل (۲)، مولکول‌های بزرگی به طول تقریبی پنجاه تا شصت هزار جفت باز، حاصل شد که بر روی ژل آگارز یک درصد همسطح با DNA λ (به طول ٤٨٧٠٢ جفت باز) حرکت نموده و هیچ‌گونه باند پخشی بر روی ژل آگارز تولید نکردند که خود نشانگر سالم بودن مولکول‌های DNA و عدم ایجاد شکستگی در آنها بود. همچنین درخشندگی و شفافیت باندهای مذکور نشان دهنده غلظت بالای DNA در محلول استخراج شده بود. اندازه‌گیری میزان DNA به روش مقایسه‌ای با استفاده از DNA λ نشان داد که در هر میکرولیتر از محلول نهایی استخراج، حدود بیست تا هشتاد نانوگرم و به طور متوسط تقریبا پنجاه نانوگرم DNA وجود دارد (شکل۱). شکل۲، الکتروفورز محصولات واکنش زنجیره‌ای پلیمراز را بر روی ژل آگارز نشان می‌دهد که در آن، استاندارد وزن مولکولی استفاده شده، صحت تکثیر قطعه ٢٨٤ جفت بازی از اگزون۲ ژن BoLA-DRB3 را تأیید می‌کند.



شکل۱- مقایسه غلظت ۲ نمونه DNA استخراج شده با DNA λ.



شکل۲- نتیجه الکتروفورز قطعه ٢٨٤ جفت بازی اگزون۲ جایگاه ژنی *BoLA-DRB3* در ژل آگارز ۱/۵ درصد.

بر پایه نتایج حاصل از نرم‌افزار Arlequin 2.00 مشخص شد در گاوهای سیستانی مورد مطالعه پنج آلل ٣٤*، ٨*، ١٥*، ٢١* و ١١*٢.*BoLA-DRB3* به ترتیب با فراوانی‌های ١٩/٣٣، ١٧/٣٣، ١٥/٦٧، ١١/٣٣ و ٧/٣٣ درصد دارای بیشترین فراوانی در این جمعیت هستند. آلل‌های ٢٢*، ١٣* و obc* نیز کمترین فراوانی را در نژاد مورد بررسی دارا بودند.

بررسی نتایج هضم محصولات واکنش زنجیره‌ای پلیمراز منجر به شناسایی سه آلل جدید در این نژاد گردید (شکل۳). بهره‌گیری از ترکیب ویژه الگوهای باندی حاصل از هضم به وسیله آنزیم‌های مورد استفاده در کنار یکدیگر، سبب تعیین این ژنوتیپ‌ها شد.

نتایج تعیین توالی این سه آلل جدید نیز در جدول ۲ نشان داده شده است. بعد از تحلیل توالی‌های به دست آمده در بانک جهانی ژن با استفاده از ابزار BLAST مشخص شد که توالی‌های حاصل، همپوشانی مناسبی با نمونه‌های ثبت شده در بانک داده‌های این پایگاه دارند و نهایتا آلل‌های جدید *obc**، *ibc** و *eac** *DRB3.2* به ترتیب با فراونی۰/۳۳، ۱/۳۳ و ۸/۱ درصد و با شماره‌های EU259858، EU259857 و DQ486519 در بانک جهانی ژن (NCBI)، ثبت شده و مورد تایید قرار گرفتند.

بر اساس مطالعات انجام گرفته در نژاد جیر[4] (بومی کشور برزیل)، تعداد ۱۷ آلل در این مکان ژنی شناسایی شد که دو آلل ۲۰* و ٦* دارای بیشترین فراوانی بودند (٤). همچنین در نژادهای مونگولین[5] و سیاه روسیه به ترتیب ۱۷ و ۲۱ آلل در مکان ژنی مذکور با بیشترین فراوانی در آلل‌های ۷* و ۲۲* گزارش شده است (۲۰ و ۲۱). در نژادهای شورت‌هورن[6] و جرسی ژاپنی نیز به ترتیب آلل ۸* و آلل‌های ۷*، ٦*، ١٧*و ٤٩* بیشرین فراوانی را داشتند (۱۷ و ۱۹). همچنین در پژوهش دیگری از بین چهار نژاد گاو ژاپنی، بیشترین تعداد آلل در نژاد سیاه با ۲۳ آلل و کمترین تعداد در نژاد جرسی با ١٤ آلل گزارش گردید (۱۹). نتایج این تحقیقات نشان می‌دهد که در مکان ژنی *BoLA-DRB3.2* چندشکلی بسیار بالایی وجود دارد. همچنین تعداد و فراوانی آلل‌ها در این مکان ژنی از نژادی به نژاد دیگر، متفاوت است. به عنوان نمونه برخی از

[4] Gir
[5] Mongolian
[6] Shorthorn

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1389.5.3.8.3]

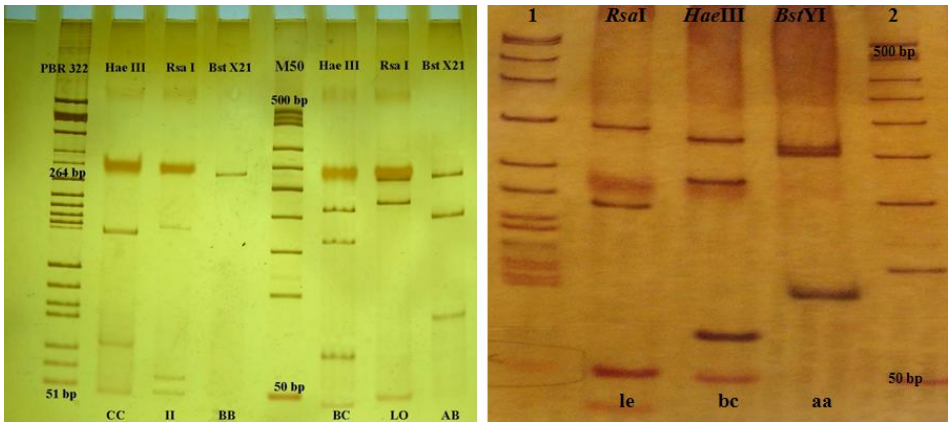
آلل‌های مذکور تا کنون صرفا در یک نژاد خاص دیده شده و یا در نژادهای مختلف دارای فراوانی‌های متفاوتی بوده‌اند.

نصیری و همکاران (١٤) در هلشتاین ایرانی برای این مکان ژنی ٢٧ آلل با فراوانی‌های متفاوت تعیین نمودند که آلل‌های ٨* و ٢٤* به ترتیب با ٢٦/٦ و ١٩/٦ درصد، بیشترین فراوانی را داشتند. منتظر تربتی و همکاران (١٢) با مطالعه بر روی گاوهای سرابی و نجدی آلل‌های ٥٢*، ١١* و ٢٣* را در نژاد سرابی و آلل‌های ٢٤*، ١٤* و ٢٣* را در نژاد نجدی دارای بیشترین فراوانی گزارش کردند. مسافر و همکاران (١٣) نیز از میان ١٩ آلل شناسایی شده در جمعیت گاوهای گلپایگانی، آلل‌های ١٦* و ٧* را به ترتیب با فراوانی ١٤ و ١١ درصد به عنوان آلل‌های دارای بیشترین و کمترین فراوانی معرفی نمودند. این نتایج نشان می‌دهد که جایگاه مورد بحث درگاوهای بومی ایران نیز از تنوع و چند شکلی ژنتیکی بالایی برخوردار است.

همچنین دِ و سینگ (٥)، موفق به شناسایی ٢٢ آلل در گاوهای بومی هندوستان (*Bos Indicus*) گردیدند که در بین آنها سه آلل ٤٨٠١*، ٤٩٠١* و ٥٠٠١* قبلا در هیچ‌کدام از نژادهای اروپایی و آفریقایی گزارش نشده بود. بهل و همکاران (١) نیز در نژاد کانکریج[٧] (یکی از نژادهای بومی هندوستان) ٢٤ آلل را با فراوانی ١ تا ٢٢ درصد شناسایی کردند که دو آلل ٣٤* و ١٥* دارای فراوانی بیشتری بودند. علاوه بر این، آنها سه آلل جدید نیز شناسایی نمودند که تا قبل از آن گزارش نشده بود. از مقایسه نتایج به دست آمده در مورد نژادهای بومی هندوستان، با نژاد سیستانی می‌توان مطابقت بالایی بین آنها مشاهده نمود. آلل‌های شماره ٣٤* و ١٥* در این نژادها فراوانی بالایی داشته و علاوه بر این، بر اساس نتایج به دست آمده احتمالا در مقایسه با نژادهای دیگر، آلل‌های ناشناخته بیشتری در مکان ژنی مذکور خواهند داشت.

در مجموع نتایج این پژوهش نشان داد که گاوهای سیستانی در این مکان ژنی از چند شکلی ژنتیکی بالایی برخوردارند که در نوع و وفور تعدادی از این آلل‌ها مشابه هیچ‌یک از نژادهای دیگر نبوده و از آنجا که وجود آلل‌های جدید شناسایی شده در این پژوهش، هنوز در نژادهای دیگر گزارش نشده است لذا می‌توان از آنها به عنوان نشانگر ژنتیکی برای نژاد سیستانی استفاده نمود.

[7] Kankrej



شکل٣- الگوی باندی آلل‌های جدید شناسایی شده با سه آنزیم مختلف بروی ژل پلی آکریل آمید. سمت راست الگوی جدید eac (استانداردهای وزن مولکولی پنجاه جفت باز و pUC19/MspI)، سمت چپ الگوهای جدید ibc و obc (استانداردهای وزن مولکولی پنجاه جفت باز و *PBR* 322).

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1389.5.3.8.3]

جدول۲- نتایج تعیین توالی سه آلل جدید شناسایی شده در جایگاه ژنی BoLA-DRB3.2 گاو نژاد سیستانی ایران

**eac*						
1	CGAGTGTCAT	TTCTTCAACG	GGACCGAGCG	GGTGCGGTTG	CTGGACAGAC	ACTTCTATAA
61	TGGAGAAGAG	TACGTGCGCT	TCGACAGCGA	CTGGGGCGAG	TACCGGGCGG	TGACCGAGCT
121	GGGCGGCCG	TCCGCCGAGC	ACTGGAACAG	CCAGAAGGAG	ATCCTGGAGC	GGAGGCGGGC
181	CGAGGTGGAC	AGGGTGTGCA	GACACAACTA	CGGGGTCGGT	GAGAGTTTCA	CTGTGCAGCG
**ibc*						
1	GATCTGAGGA	AAAAAGCTAG	TGCAAAAAGA	TTCCTCTCCC	CATACCTCCA	CGCCGATGGC
61	ACCGTAAGGT	GCGTTCGTCC	AGCTCCTTAC	ATTTGCTTGT	TTCCAGTTGG	CTAATTTCGT
121	GAGAATTTCA	GTAAGCAAAA	TCCTCGGAGG	TTCGGCCGCG	ATCCTGATGC	CAGGAAAGAA
181	GTCACTCAAG	GTGCAGGAGA	CGGCGTCGTC	TGTCTACCAC	GTCATCGAGG	GCTCAGGGCA
241	CAGCCTCATT					
**obc*						
1	TTTGAGAAGG	AGAGCTATGT	AACAAGAGCA	GGACTCTCCC	CGACCGCACG	CCGTATGGTC
61	ACCGTAAGAG	CTGCGCTTCG	GACAAGCCCG	TTGGGACTAC	GTTGTGGTCC	AGAAGGGCTA
121	AATTTCGGCG	AGAATTCCAC	TTAAGCAAAA	TCCTCGGAGG	ATTCGGACGC	GATACTGATG
181	CCAGGAAAGA	AGTCACTCAA	GGTGCAGGAG	ACGGCGTCGG	CTGTCTACCA	CGTCAGTCGA
241	GGGCTCAGGG					

منابع

1. Behl JD, Verma NK, Behl R, Mukesh M and Ahlawat SPS (2007) Characterization of genetic polymorphism of the bovine lymphocyte antigen DRB3.2 locus in Kankrej cattle (Bos indicus). Journal of Dairy Science, 90: 2997–3001.
2. Boom R, Sol CJA, Salimans MMM, Jasen CL, WertheimVan Dillen PME and Van Der Noordaa J (1990) Rapid and simple method for purification of nucleic acids. Journal of Clinical Microbiology, 28(3): 495-503.
3. Bradley DG, Mac Hugh DE, Cunningham P and Loftus RT (1996) Mitochondrial diversity and the origins of African and European cattle. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 93: 5131-5135.
4. Da Mota AF, Gabriel JE, Martinez ML and Coutinho LL (2002) Distribution of bovine lymphocyte antigen (BoLA-DRB3) alleles in Brazilian dairy Gir cattle (*Bos indicus*). European Journal of Immunogenetics, 29: 223-227.
5. De S and Singh RK (2006) Identification of new MHC-DRB3 alleles from Indian (Bos indicus) cattle. Animal Genetics, 37: 595–607.
6. Gilliespie BE, Jayarao BM, Dowlen HH and Oliver SP (1999) Analysis and frequency of bovine lymphocyte antigen DRB3.2 alleles in Jersey cows. Journal of Dairy Science, 82: 2049-2053.
7. Giovambattista G, Golijow CD, Dulout FN and Lojo MM (1996) Gene frequencies of DRB3.2 locus of Argentine Creole cattle. Animal Genetic, 27: 55-56.
8. Hall SJG and Bradley DG (1995) Conserving livestock breed biodiversity. Trends in Ecology and Evolution, 10: 267-270.
9. Jeong HJ, Bhuiyan MSA, Lee JS, Yu SL, Sang BC, Yoon D, Jeon JT and Lee JH (2007) Characterization of BoLA-DRB3.2 alleles in Hanwoo (Korean cattle) by sequence based typing (SBT). Asian Australin Jornal of Animal Science, 20(12): 1791-1797.
10. Mac Hugh DE, Loftus RT, Cunningham P and Bradley DG (1998) Genetic structure of seven European cattle breeds assessed using 20 microsatellite markers. Animal Genetic, 29: 333-340.
11. Mikko S and Andersson L (1995) Extensive MHC class II DRB3 diversity in African and European cattle. Immunogenetics, 42(5): 408-413.
12. Montazer Torbati F, Eftekhari Shahroudi F, Nassiry MR, Safarnezhad A, Montazer Torbati MB (2004) Frequency of bovine lymphocyte antigen DRB3.2 alleles in Sarabi cows. Iranian Journal of Biotechnology, 2 (2): 101-105.
13. Mosafer J and Nassiry MR (2005) Identification of bovine lymphocyte antigen DRB3.2 alleles in Iranian Golpayegani cattle by DNA test. Asian Australian Journal of Animal Science, 18: 1691–1695.
14. Nassiry MR, Eftekhari shahroudi F, Mosafer J, Mohammadi A and Manshad E (2005) Analysis and frequency of bovine lymphocyte antigen (BoLA-DRB3) alleles in Iranian Holstein cattle. Journal of Animal Genetic, 41(6): 817-822.
15. Pashmi M, Ghorashi SA, Salehi AR, Moini M, Javanmard A, Qanbari S and Yadranji Aghdam S (2006) Polymorphism of bovine lymphocyte antigen DRB3.2 alleles in Iranian native Sarabi cows. Asian Australin Jornal of Animal Science, 19(5): 775-783.
16. Sharif S, Mallard BA, Wilkie BN, Sargeant JM, Scott HM, Dekkers JCM and Leslie KE (1998) Associations of the bovine major histocompatibility complex DRB3 (BoLA-DRB3) alleles with occurrence of disease and milk somatic cell score in Canadian dairy cattle. Animal Genetic, 29: 185-193.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1389.5.3.8.3]

17. Takeshima S, Nakai Y, Ohta M and Aida Y (2002) Characterization of DRB3 alleles in the MHC of Japanese Shorthorn cattle by polymerase chain reaction sequence based typing. Journal of Dairy Science, 85: 1630-1632.
18. Takeshima SN, Ikegami M, Morita M, Nakai Y and Aida Y (2001) Identification of new cattle BoLA-DRB3 alleles by sequence-based typing. Immunogenetics, 53: 74-81.
19. Takeshima S, Saitou N, Morita M, Inoko H and Aida Y (2003) The diversity of bovine MHC class II DRB3 genes in Japanese Black, Japanese Shorthorn, Jersey and Holstein cattle in Japan. Genetic, 316: 111-118.
20. Udina IG, Karamysheva EE and Sulimova GE (1998) Comparative analysis of Ayrshire and Black pied cattle breeds by histocompatibility markers. Russian Journal of Genetics, 34(12): 1421-1427.
21. Udina IG, Karamysheva EE, Turkova SO, Orlova AR and Sulimova GE (2003) Genetic mechanisms of resistance and susceptibility to leukemia in Ayrshire and Black pied cattle breeds determined by allelic distribution of gene BoLA-DRB3. Russian Journal of Genetics, 39(3): 306-317.
22. Van Eijk MJ, Stewart Haynes JA and Lewin HA (1992) Extensive polymorphism of the BoLA-DRB3 gene distinguished by PCR-RFLP. Journal of Animal Genetic, 23(6): 483-496.
Williams JKG, Rubelik AR, Livak KJ, Rafalski JA and Tingley SV (1990) DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acid Research, 18: 6531-6535.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1389.5.3.8.3]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1389.5.3.8.3]
[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]