

بررسی چندشکلی اگزون دو ژن BoLA-DRB3 در جمعیت گاومیش

استان خوزستان با استفاده از روش PCR-RFLP

سمیه رحیم‌نهاد^{۱*}، جمال فیاضی^۲، خلیل میرزاده^۲، محمدتقی بیگی‌نصیری^۳،
هدایت ا...روشنفکر^۴

۱- دانشجوی دکتری ژنتیک و اصلاح دام، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان
۲، ۳ و ۴- به ترتیب استادیار، دانشیار و استاد دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه
کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: s.rahimnahal@yahoo.com

(تاریخ دریافت: ۹۱/۴/۳۱ - تاریخ پذیرش: ۹۱/۱۱/۲۴)

چکیده

واژه‌های کلیدی

پلی‌مورفیسم
ژن MHC
PBR
گاومیش

جایگاه ژنی مجموعه سازگاری بافتی (MHC) کد کننده آنتی‌ژن‌ها و پروتئین‌های سطح
لوکوسیت‌ها است که در واکنش‌های دفاعی بدن و شناسایی پروتئین‌های خارجی نقش دارند.
در گاو این جایگاه ژنی به نام بولا معروف است که در سه دسته ژنی به نام‌های کلاس I، کلاس II
و کلاس III بر روی بازوی کوتاه کروموزوم ۲۳ گاو ترتیب یافته‌اند، هر یک از این کلاس‌های
ژنی دارای مجموعه جایگاه‌های ژنی متعدد و مختلف است و هر جایگاه می‌تواند تا بیش از ده‌ها
آلل را شامل شود. هدف از این پژوهش، بررسی چندشکلی اگزون ۲ جایگاه ژنی
BoLA-DRB3 در جمعیت گاومیش استان خوزستان است. در این پژوهش از روش پی.سی.آر
دو مرحله‌ای (Heminested-PCR) برای تکثیر این اگزون استفاده شد. خونگیری از ۸۰ رأس
گاومیش از شهرستان‌های استان صورت گرفت. واکنش دو مرحله‌ای زنجیره‌ای پلیمرز جهت
تکثیر قطعه ۲۸۴ جفت بازی از اگزون ۲ ژن MHC با استفاده از آغازگرهای اختصاصی این ژن
انجام شد. قطعه تکثیر شده به وسیله آنزیم‌های برشی *HaeIII* و *RsaI* مورد تیمار قرار گرفت.
نتایج حاصل از این پژوهش با استفاده از آنزیم برشی *HaeIII*، نه الگوی برشی را در این جایگاه
ژنی نشان داد که الگوهای برشی a و b به ترتیب با فراوانی ۳۴/۳۷ و ۲۳/۷۵ درصد بیشترین
فراوانی آللی را به خود اختصاص دادند و ۱۷ ترکیب ژنتیکی شناسایی شد. آنزیم برشی *RsaI*،
تعداد ده الگوی برشی را نشان داد که الگوهای برشی g و b به ترتیب با فراوانی ۳۰ و ۲۰ درصد
بیشترین فراوانی آللی را به خود اختصاص دادند با استفاده از این آنزیم نیز ۱۷ ترکیب ژنتیک
شناسایی شد. آزمون کای مربع نشان داد که جمعیت مورد بررسی، در حالت تعادل
هاردی-وینبرگ قرار دارد. در پژوهش حاضر سطح بسیار بالایی از پلی‌مورفیسم در جمعیت
گاومیش استان خوزستان مشاهده شد.

مقدمه

تمایز در عملکرد میان افراد نژادها، لاین‌ها، جمعیت‌ها و سویه‌ها به لحاظ ژنتیک مورد نظر متخصصین اصلاح نژاد است. پلی‌مورفیک بودن و توارث‌پذیر بودن این تغییرها در سطح مولکول دی.ان.ای به کمک روش‌های جدید شناسایی و منجر به معرفی نشانگرهای ژنتیک جدیدی گشته که مرتبط با صفات تولیدی و ایمنی است. بنابراین کمپلکس اصلی سازگاری بافتی (MHC) یا آنتی‌ژن لوکوسیت گاوی (BoLA) به علت ارتباط آن با ایمنی دام، مورد توجه قرار گرفته است (Pashmi et al., 2004).

نقش اولیه جایگاه ژنی مجموعه سازگاری بافتی (MHC) کد کننده آنتی‌ژن‌ها و پروتئین‌های سطح لوکوسیت‌ها است که در واکنش‌های دفاعی بدن و شناسایی پروتئین‌های خارجی دخالت دارند. در واقع ژن‌های MHC، مولکولهای MHC را رمزدهی کرده و این مولکول‌ها از نظر توانایی اتصال به پپتیدهای آنتی‌ژن با هم تفاوت دارند.

در گاو MHC را مجموعه آنتی‌ژن‌های لنفوسیتی گاو می‌نامند و آنرا بصورت BoLA نشان می‌دهند، در BoLA لوکوس‌های کلاس I، کلاس II و کلاس III را شناسایی کرده‌اند که بر بازوی کوتاه کروموزوم شماره ۲۳ واقع شده است (Mohammadabadi and Sulimova., 2004; Lewin et al., 1999; Andersson and Davies., 1994). که بطور وسیعی به عنوان نشانگر در مقابل با بیماری‌های مختلف و صفات ایمونولوژیک مورد ارزیابی قرار می‌گیرند (Maillard et al., 2003). آلل‌های BoLA-DRB3 در بیشتر صفات مربوط به ایمنی، تعداد سلول‌های سوماتیک و وقوع ورم پستان موثر هستند. ارتباط بین BoLA و بعضی از بیماری‌ها در گاو گزارش شده است (Dietz et al., 1997). در گزارشی دیگر همچنین نشان داده شد که الگوی از ژن BoLA-DRB3 با مقاومت دام به ورم پستان ناشی از استافیلوکوکوس آئروس ارتباط دارد (Dietz et al., 1997). در یک پژوهش دیگر پژوهشگران، به بررسی همبستگی بین پلی‌مورفیسم ژن BoLA-DRB3 و سلول‌های سوماتیک شیر، تولید شیر روزانه، چربی شیر و درصد پروتئین شیر در گاوهای نژاد جرزی پرداختند. از لحاظ آماری بین عوامل مورد تجزیه (فصل، مرحله شیردهی و گاو) همبستگی مهمی دیده شد. در این پژوهش همچنین اثر ژنوتیپ DRB3 برش

داده شده با آنزیم برشی *HaeIII* بر تولید شیر، چربی و درصد پروتئین شیر بررسی شد که این ژنوتیپ نقش مهمی بر این صفات نداشت (از لحاظ آماری بی‌معنی). نتایج بدست آمده از این پژوهش، BoLA-DRB3 را به یک عنوان نشانگر کاندید برای SCC و گاوهای شیری مستعد و مقاوم در برابر ورم پستان معرفی می‌کند (Wojdak-Maksymiec et al., 2007). همچنین ارتباط بین بعضی از آلل‌ها و بالا بودن تعداد سلول‌های سوماتیک و نیز حساس بودن بعضی از دام‌های حاوی آلل‌های خاص به ورم پستان گزارش شده است (Dietz et al., 1997). بسیاری از پژوهش‌ها نشان می‌دهند که پلی‌مورفیسم مولکول‌های کلاس دو ژن *Bola* بطور ویژه مسئول پاسخ ایمنی هستند و نقش ویژه‌ای در مقاومت به اختلال در خودایمنی مزمن به عنوان رماتیسم مفاصل، دیابت وابسته به انسولین (Schukken et al., 2003)، بیماری‌های عفونی مثل پوسته پوسته شدن‌های سل مانند و مالاریا (Sharif et al., 1998) و ملانوم و تومورهای بدخیم دارند (et al., 1993; Lunden; De et al., 2002). خسروی (۱۳۸۶)، به منظور محاسبه فراوانی آللی مکان ژنی BoLA-DRB3.2 در جمعیت‌های مختلف هلشتاین، از دو گله هلشتاین داخل کشور (مزرعه نمونه آستان قدس و دشت مغان) خونگیری کردند. نتایج نشان داد که فراوانی آللی در سیستم BoLA-DRB3.2 به نژاد بستگی دارد. از طرف دیگر اختلاف کمی بین جمعیت‌های مختلف هلشتاین مشاهده شد (Khosravi, 2006). گروهی از پژوهشگران، سطح بالایی از پلی‌مورفیسم را در ژن BoLA-DRB3.2 در یک جمعیت گاوی گزارش کردند (Behl et al., 2007).

بطور کلی ارتباط ژن MHC با صفاتی نظیر مقاومت در برابر بیماری‌ها به‌ویژه بیماری ورم‌پستان و سرطان خون، سلول‌های سوماتیک و میزان تولید و درصد چربی شیر در پژوهش‌های اخیر صورت گرفته است و سطوح بالای پلی‌مورفیسم در این ژن گزارش شده است. هدف ما از این پژوهش بررسی سطح پلی‌مورفیسم ناحیه آگزون ۲ جایگاه ژنی BoLA-DRB3 در جمعیت گاو میش استان خوزستان بود که با توجه به سایر نتایج بدست آمده از بررسی سطح بالای پلی‌مورفیسم در این جایگاه ژنی توسط بیشتر پژوهشگران در دام‌های مختلف، انتظار می‌رود که با سطح بسیار بالایی از پلی‌مورفیسم در این جمعیت روبرو شویم.

مواد و روش‌ها

در این آزمایش از ۸۰ رأس گاومیش شهرستان‌های شادگان، دزفول، سوسنگرد، شوشتر و اهواز خونگیری صورت گرفت. خونگیری از ورید و داج گردن به میزان ۳ تا ۵ سی‌سی در لوله‌های خلا دار حاوی ماده ضد انعقاد EDTA انجام گرفت. استخراج دی.ان.ای از خون کامل با استفاده از کیت DAAtom DNAPrep 100 صورت گرفت.

برای تکثیر قطعه ۲۸۴ جفت بازی اگزون ۲ از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز دو مرحله‌ای (Heminested-PCR) طبق روش ونایچ و همکاران (۱۹۹۲) استفاده شد.

در مرحله اول واکنش از آغازگرهای

HLO30 (5'-ATCCTCTCTCTGCAGCACTTTCC-3')

HLO31 (5'-TTTAAATTCGCGCTCACCTCGCCGCT-3')

در مرحله دوم واکنش از آغازگرهای

HLO30 (5'-ATCCTCTCTCTGCAGCACTTTCC-3')

HLO32 (5'-TCGCCGCTGCACAGTGAAGTCTC-3')

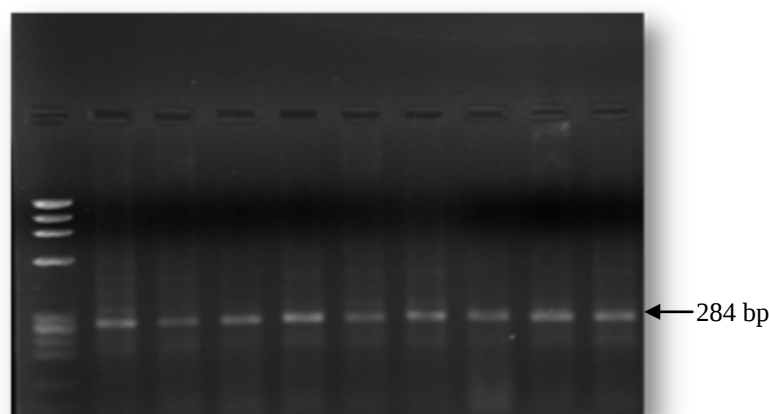
استفاده شد. همانطور که انتظار می‌رفت قطعه ۲۸۴ جفت بازی از ژن BoLA-DRB3 با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز دو مرحله‌ای تکثیر شد. جهت تایید اندازه قطعه حاصله از سایز مارکر IX استفاده و نمونه‌ها بر روی ژل آگارز ۱/۲ درصد بررسی شدند. بعد از تکثیر قطعه ژن مورد نظر جهت بررسی پلی مورفیسم این ژن از روش هضم آنزیمی با آنزیم‌های معرفی شده در مقالات استفاده شد. هضم آنزیمی با استفاده از آنزیم‌های برشی *HaeIII* و *RsaI* در حجم ۳۰ میکرولیتر با ترکیب: ۱۵ میکرولیتر محصول پی.سی.آر، دو میکرولیتر بافر 10 x، ۱ میکرولیتر آنزیم (۱۰ یونیت / میکرولیتر از هر آنزیم بصورت جداگانه) صورت گرفت. پس از اتمام مراحل هضم برای دیدن قطعات از ژل پلی آکرل آمید ۸ درصد و رنگ آمیزی با نیترا ت نقره استفاده شد. آنزیم *HaeIII* یک توالی ۴ نوکلئوتیدی GGCC را در محل اتصال C و G می‌شکند و آنزیم برشی *RsaI* نیز یک توالی ۴ نوکلئوتیدی GTAC در محل اتصال T و A می‌شکند.

نتایج و بحث

ایمنی‌شناسی یا ایمنولوژی علمی است که دفاع و مقاومت در

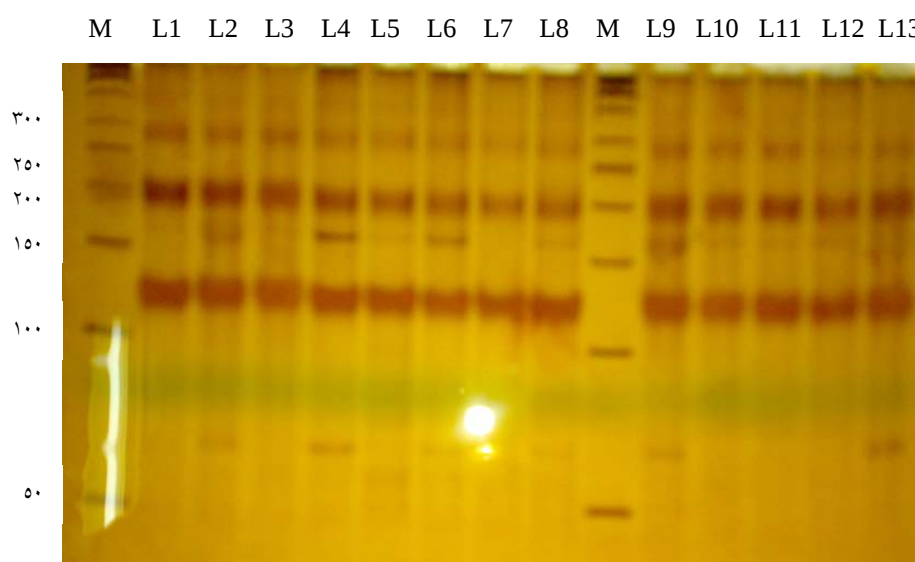
مقابل بیماری‌ها از یک سو و فعالیت‌های هموستازی و مراقبتی سیستم ایمنی از سوی دیگر، در آن مورد بررسی قرار می‌گیرد. مجموعه سازگاری بافتی (MHC) شامل دو زیر گروه از مولکول‌های فعال ایمنولوژیک به نام کلاس I و کلاس II است. آنتی‌ژن‌های MHC کلاس I بر روی همه سلول‌های هسته‌دار بدن ظاهر می‌شوند در حالی که آنتی‌ژن‌های کلاس II تنها بر روی برخی از سلول‌ها از جمله ماکروفاژها، سلول‌های دندریتیک، سلول‌های مشتق از بورس (B) و سلول‌های فعال شده مشتق از تیموس پدیدار می‌شوند. همه این سلول‌ها با سیستم ایمنی در ارتباط هستند. مولکول‌های CD4 و CD8 بر سطح زیر گروه‌های مختلفی از سلول‌های T بروز می‌کنند و همراه با پذیرنده آنتی‌ژنی، در شناسایی آنتی‌ژن شرکت می‌کنند، به عبارتی دیگر مولکول‌های CD4 و CD8 «پذیرنده‌های کمکی» سلول T به شمار می‌آیند. مولکول CD4 به طور انتخابی به مولکول MHC کلاس II و مولکول‌های CD8 به مولکول MHC کلاس I متصل می‌شوند. به همین دلیل است که سلول‌های CD4⁺ T فقط پپتیدهای عرضه شده توسط مولکول‌های MHC کلاس II را شناسایی می‌کنند، در حالی که سلول‌های CD8⁺ T قادر به شناسایی پپتیدهای عرضه شده در کنار مولکول‌های MHC کلاس I هستند. بیشتر سلول‌های CD4⁺ T نقش یابری (کمکی) و سلول‌های CD8⁺ T نقش سلول‌کشی (سایتولیتیک) دارند (Piertney and Oliver., 2006).

هدف ما از این پژوهش بررسی جایگاه ژنی BoLA-DRB3 در جمعیت گاومیش بومی استان خوزستان بود. بر اساس آغازگرهای مورد استفاده قطعه ۲۸۴ جفت بازی از اگزون ۲ ژن MHC با استفاده از روش Heminested-PCR تکثیر شد (تصویر ۱). پس از هضم توسط آنزیم برشی *HaeIII* تعداد ۹ الگوی برشی در جایگاه ژنی BoLA-DRB3 (تصویر ۲ و ۳) و پس از هضم توسط آنزیم برشی *RsaI* تعداد ۱۰ الگوی برشی در این جایگاه ژنی در این پژوهش شناسایی شد (جدول ۱). نتایج این پژوهش نشان داد که اگزون ۲ این جایگاه ژنی در گاومیش‌های بومی استان خوزستان به شدت پلی مورفیک است. بعد از هضم آنزیمی فرآورده‌های واکنش زنجیره‌ای پلیمراز و شناسایی آلل‌های مربوط به ژن مورد نظر با استفاده از نرم‌افزار ARLEQUIN Ver 3.01 و دستگاه UV DOC ترکیب‌های ژنوتیپی کل جمعیت مورد بررسی



شکل ۱- محصولات واکنش زنجیره‌ای پلیمرز دو مرحله‌ای (قطعه ۲۸۴ جفت بازی) نه نمونه بر روی ژل آگارز ۱/۲ درصد M: سایز مارکر 1X.

Figure 1- polymerase chain reaction products (284 bp fragment) on agarose gel 1/2% M: size marker 1X.

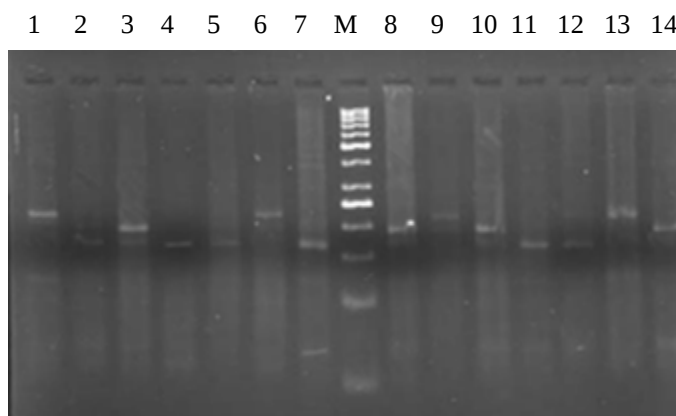


شکل ۲- محصولات واکنش زنجیره‌ای پلیمرز دو مرحله‌ای (قطعه ۲۸۴ جفت بازی) ۱۳ نمونه هضم شده با استفاده از آنزیم برشی *HaeIII* بر روی ژل پلی‌اکریل آمید ۸ درصد (M: سایز مارکر 50bp).

Figure 2- polymerase chain reaction products (284 bp fragment) was digested with *HaeIII* restriction enzyme on polyacrylamide gel 8% (M: size marker 50 bp).

رأس) بیشتر از درصد حیوانات هتروزیگوت (۴۳/۷۵ درصد یا ۳۵ رأس) است. این نتایج با نتایج احمد و عثمان (۲۰۰۶) که به بررسی پلی‌مورفیسم ژن BoLA-DRB3 بر روی گاو میش‌های مصری با استفاده از آنزیم برشی *HaeIII* پرداختند و در پژوهش‌های خود درصد حیوانات هتروزیگوت (۹۰ درصد) را بیشتر از حیوانات هتروزیگوت (۱۰ درصد) گزارش کردند مطابقت داشت (Ahmed and Othman., 2006) و همچنین با

شناسایی شدند. همچنین درصد هتروزیگوسیتی و هموزیگوسیتی با استفاده از نرم‌افزار ARLEQUIN Ver 3.01 محاسبه شد. برای تعیین میزان هتروزیگوسیتی و هموزیگوسیتی در این جمعیت از روش جاثو و تامپسون (۱۹۹۲) و ویگنتون و همکاران (۲۰۰۵) استفاده شد. در این پژوهش با استفاده از آنزیم برشی *HaeIII* تعداد ۱۷ ترکیب ژنتیک با فراوانی متفاوت شناسایی شدند که نتایج نشان می‌دهند درصد حیوانات هتروزیگوت ۵۶/۲۵ (۴۵



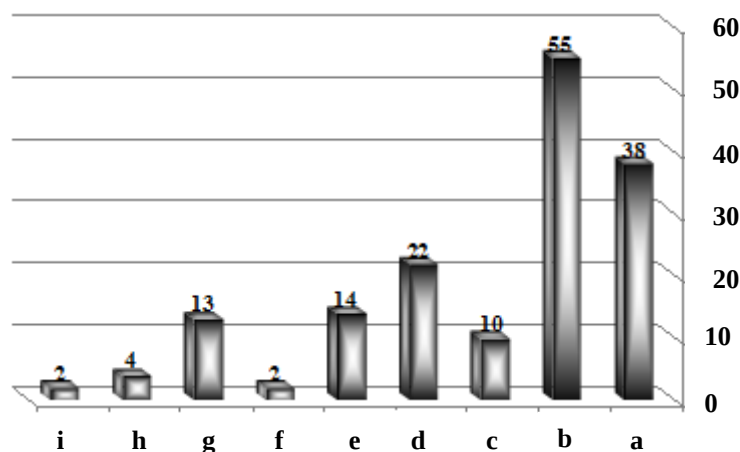
شکل ۳- محصولات واکنش زنجیره‌ای پلیمرز دو مرحله‌ای (قطعه ۲۸۴ جفت بازی) هضم شده ۱۴ نمونه گاومیش با استفاده از آنزیم برشی *HaeIII* بر روی ژل آگارز متافر ۲/۵ درصد (M: سایز مارکر 50 bp)

Figure 3- polymerase chain reaction products (284 bp fragment) was digested with *HaeIII* restriction enzyme on metafer agarose gel 2/5% (M: size marker 50 bp).

پایین بودن خطر وقوع جفت ماندگی و پایین بودن خطر وقوع کیست تخمدانی و ورم پستان موثر هستند (Lewin, 1996; Sharif et al., 1998). در یک پژوهش پژوهشگران پلی مورفسم ژن MHC را در گاوهای نژاد گیر که بخوبی با شرایط آب و هوایی گرم برزیل آداپته شده‌اند را با بیماری ورم پستان مورد بررسی قرار دادند. نتایج این پژوهش نشان داد که آنتی ژن لنفوسیتی گاوی (BoLA) ژن MHC با مقاومت در برابر بیماری ورم پستان همبستگی دارد (Mota et al., 2002). در یک بررسی تنوع ژنتیک ژن BoLA-DRB3 را در ۱۲۰ حیوان از نژاد گاو یاروسلاول روسی را مورد بررسی قرار دادند. آنها در نتایج خود فراوانی حیواناتی که ناقل آلل‌های مقاومت به سرطان خون بودند برابر ۳۵ درصد و حیواناتی که هر دو آلل‌شان از آلل‌های ایجاد کننده مقاومت (هموزیگوت) بود را برابر ۱۱/۶ درصد گزارش کردند. بنابراین، این پژوهشگران دریافتند که این نژاد ارزش بالایی در گزینش و کارهای عملی دارد، چرا که آلل‌های با ارزشی از ژن BoLA-DRB3 را حمل می‌کند که ایجاد کننده مقاومت به سرطان خون هستند (Mohammadabadi and Sulimova., 2004).

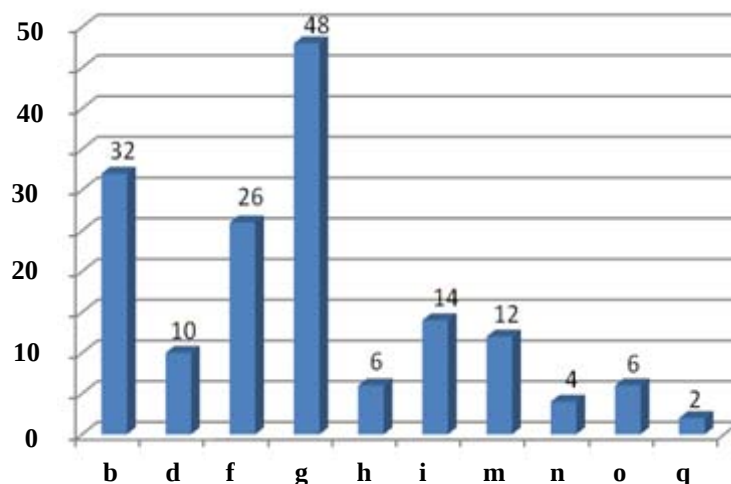
حیوانات بومی به عنوان سرمایه ملی و ذخایر استراتژیک کشور محسوب می‌شوند و حفظ و تکثیر آنها از ارزش و اهمیت بسیاری برخوردار است. در حوزه ژنتیک و اصلاح، اطلاع از ساختار ژنتیک جمعیت‌ها می‌تواند کمک بزرگی برای برنامه‌ریزی جهت طرح‌های اصلاح نژادی و حفظ ذخایر ژنتیک باشد. در سال‌های

استفاده از آنزیم برشی *RsaI* تعداد ۱۷ ترکیب ژنتیک (ژنوتیپ) شناسایی شد که درصد ژنوتیپ‌های هتروزیگوت (۶۲/۵ درصد) بیشتر از ژنوتیپ‌های هموزیگوت (۳۷/۵ درصد) است. به منظور بررسی تعادل هاردی-وینبرگ در جمعیت مورد بررسی از آزمون کای مربع استفاده شد. نتایج این پژوهش با نتایج محمدآبادی و افیموونا (۱۳۸۳) که با استفاده از آنزیم‌های برشی *HaeIII* و *RsaI* به بررسی پلی مورفسم این جایگاه ژنی بر روی نژاد گاو یاروسلاول روسی پرداختند مطابقت داشت (Mohammadabadi and Sulimova., 2004). نتایج آزمون کای مربع نشان می‌دهد که جمعیت مورد بررسی در حالت تعادل هاردی-وینبرگ قرار دارد (در سطح ۹۵ درصد) و هیچ‌گونه انتخابی در رابطه با ژن MHC در این جمعیت انجام نشده است. در جدول ۱ توزیع فراوانی آلل‌ها در جمعیت مورد بررسی بر اساس درصد نشان داده شده است. نتایج این پژوهش همچنین نشان داد که الگوهای برشی a و b (در نتایج حاصل از آنزیم برشی *HaeIII*) نسبت به سایر قطعات هضم شده با این آنزیم بیشترین فراوانی را در جمعیت دارا هستند و در نتایج حاصل از آنزیم دیگر (*RsaI*) الگوهای g و b بیشترین فراوانی را دارا بودند. با توجه به پژوهش‌های انجام شده در این زمینه و معرفی هر کدام از آلل‌های این جایگاه ژنی، ما در نتایج خود با سطح بالای پلی مورفسم روبرو شدیم که بر اساس گزارش‌های سایر پژوهشگران این الگوهای برشی a و b و d در نتایج حاصل از آنزیم برشی *HaeIII* و b در آنزیم برشی *RsaI* در



نمودار ۱- تراکم آلل‌ها در کل جمعیت مورد بررسی با استفاده از آنزیم *HaeIII*

Diagram 1- Allele densities in the population with the *HaeIII* restriction enzyme.



نمودار ۲- تراکم آلل‌ها در کل جمعیت مورد مطالعه با استفاده از آنزیم *RsaI*

Diagram 2- Allele densities in the population with the *RsaI* restriction enzyme.

هستند جهت بررسی چندشکلی جایگاه ژنی BoLA-DRB3 استفاده کردیم این در صورتی است که این دام در شرایط کاملاً سنتی پرورش یافته و توانسته خود را در برابر انواع بیماری‌ها مقاوم کرده و با شرایط آب و هوایی گرم و مرطوب خوزستان وفق دهد. از آنجایی که ما در این پژوهش با چندشکلی بسیار بالای این جایگاه ژنی مواجه شدیم پس بر این موضوع تأکید می‌شود که این حیوانات یک منبع ژنتیک بسیار مهم محسوب می‌شوند که تحت اثر هیچ‌گونه انتخاب و یا عوامل برهم زننده تعادل قرار نگرفته‌اند. در نتیجه می‌توان جایگاه ژنی

آخر، شناخت از MHC حیوانات اهلی افزایش چشمگیری داشته است. با اینکه پژوهش‌های بسیاری در جهت تعیین لوکوس‌های MHC به انجام رسیده است، هنوز کارهای انجام نشده بسیاری وجود دارد. آنچه که در حرفه دامپزشکی بسیار مورد توجه قرار گرفته است، اهمیت بالقوه پیوستگی مولکول‌های MHC با بیماری‌ها است. در دامپزشکی بمنظور حذف استعداد حیوان در برابر ابتلا به برخی از بیماری‌ها، نژادگیری انتخابی واقعاً امکان‌پذیر است. ما در این بررسی از یک جمعیت ۸۰ رأسی گاومیش که نماینده جامعه گاومیش‌های بومی استان خوزستان

جدول ۱- توزیع فراوانی آلل‌ها در جمعیت مورد مطالعه (بر اساس درصد).

Table 1- Allele frequency in the population (by percentage).

<i>RsaI</i>	b	d	f	g	h	i	m	n	o	q
فراوانی آللی	20	6/25	16/25	30	3/75	8/75	7/5	2/5	3/75	1/25
<i>HaeIII</i>	a	b	c	d	e	f	g	h	i	
فراوانی آللی	23/75	34/37	6/25	13/75	8/75	1/25	8/13	2/5	1/25	

بردن ایمنی و مقاومت دام‌های وارداتی پرتولید و حساس به بیماری‌ها در نظر گرفت.

BoLA-DRB3 را در این جمعیت گاو میش به عنوان یک شاخص انتخاب و یک نشانگر ژنتیک معرفی کرد و از آن در جهت بالا

منابع

- Ahmed S, Othman E. 2006. The Characterization of HaeIII Patterns in the Second Exon of the Buffalo MHC Class II DRB Gen. *Biotechnology* 5 (4) 514-516.
- Andersson L, Davies CL, 1994. The major Histocompatibility complex. In: Goddeeris BM, Morrison WI., *Cell-Mdiated Immunity in Ruminants*. London: CRC Press, pp: 37-62.
- Behl JD, Verma N K, Behl R, Mkesh M. 2007. Characterization of Genetic Polymorphism of the Bovine Lymphocyte Antigen DRB3.2 Locus in Kankrej Cattle (*Bos indicus*). *J. Dairy Science*, 90: 2997-3001.
- De S, Singh RK, Butchaiah G. 2002. MHC-DRB exon 2 allele polymorphism in Indian river buffalo (*Bubalus bubalis*). *Animal Genetics*. 33:215-219.
- Dietz AB, and et al. 1997. Genetic association of bovine lymphocyte antigen DRB3 alleles with immunological traits of Holstein cattle. *J. Dairy Sci*. 80:400-405.
- Dietz AB, and et al. 1997. Bovine Lymphocyte antigen class II alleles as risk factors for high somatic cell counts in milk of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci*. 40:406-412.
- Guo SW, Thompson EA. 1992. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles. *Biometrics* 48, 361-372.
- Khosravi M. 2006. Investigation of allelic frequency of exon 2 BoLA-DRB3 locus among populations of Holstein. 5th Iranian Biotechnology Congress. Iran, Tehran. (In Farsi with English abstract).
- Lewin HA. 1996. Genetic organization, Polymorphism. And function of the bovine major histocompatibility Complex Region of Domestic Animal Species. CRC Press, Boca Raton. FL.
- Lewin HA, Russell GC, Glass EJ. 1999. Comparative organization and function of the major histocompatibility complex of domesticatd cattle. *Immunol. Rev.*, 167: 145-158.
- Lunden A, Andersson-Eklund L, Andersson L. 1993. Lack of association between bovine major histocompatibility complex class II polymorphism and production traits., *Journal of Dairy Science.*, 76:843-852.
- Maillard JC, Berthie D, Chantal I, Thevenon S, Sidibe I, Stachurski F, Elsen JM. 2003. Sele ction assisted by a BoLA-DR/DQ haplotype against susceptibility to bovine dermatophilosis. *Gen. Sel. Evol.*, 35: 193-200.
- Mohammadabadi MR, Sulimova GE. 2004. Diversity of BoLA-DRB3 alleles in Russian Yaroslavl cattle (*Bos taurus*) by PCR-RFLP. The First Congress on Animal and Aquatic Sciences. Iran, Tehran. (In Farsi with English abstract) .
- Mota AF, Gabriel JE, Martinez ML, Coutinho LL. 2002. Distribution of bovine lamphocyte antigen (BoLA-DRB) alleles in Brazilian dairy Gir cattle (*Bos indicus*). Blackwell Science Ltd, *European Journal of Immunogenetics* 29, 223-227.
- Pashmi M, Salehi AR, Ghorashi SA, Mollasalehi MR, Javanmard A, Ghanbari S, Salehi Tabar R. 2004. BoLA-DRB3 Polymorphism by PCR-RFLP in Iranian Holestein Cattel. The First Congress on Animal & Aquatic Sciences. Iran, Tehran. (In Farsi with English abstract).
- Piertney SB and Oliver MK. 2006. The evolutionary ecology of the major histocompatibility complex. *Heredity* 96:7-21.
- Schukken YH, Wilson DJ, Welcome F, Garrison-Tikofsky L, Gonzalez RN. 2003. Monitoring udder health and milk quality using somatic cell counts. *Veterinary Research.*, 34:579-596
- Sharif S, Mallard BA, Wilkie BN, Sargeant JM, Scott HM, Dekkers JC M, 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. *Anim. Genet.*, 29: 185-193.
- Sharif S, Mallard BA, Wilkie BN, Sargeant JM, Scott HM, Dekkers JC M, Leslie KE. 1998. Associations of the bovine major histocompatibility complex DRB3 (BoLA-DRB3) alleles with production

traits in Canadian dairy cattle. Anim. Genet. 30:157-160.

20. Van Eijk MJT, Stewart-Haynes JA, Lewin HA. 1992. Extensive polymorphism of the BoLA-DRB3 genes distinguished by PCR-RFLP. Anim. Genet., 23: 363-367.

21. Wigginton JE, Cutler DJ, Abecasis GR. 2005. A

note on exact tests of Hardy-Weinberg equilibrium. Am. J. Hum. Genet. 76:887-883.

22. Wojdak-Maksymiec K, Kmiec I, Kowalewska-Luczak I, Warliniski M. 2007. DRB3 Gen Polymorphism and Somatic Cell Count in Milk of Jersey Cows. Journal of Animal and Veterinary Advances 6 (8): 1006-1011.