تحقیقات تولیدات دامی
سال اول/ شماره دوم/ تابستان ۱۳۹۱ (۸ -۱)

چندشکلی اگزون ۲ ژن *MHC- DRB3* در بز سرخ جبال بارز

محمدرضا محمدآبادی[۱*]، کبری دست‌افکن[۲]

۱- دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان و ۲- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۷/۱۲- تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۵/۱۰)

چکیده

بز سرخ جبال‌بارز با جمعیتی بالغ بر ۴۵۰ هزار رأس در منطقه جیرفت و کهنوج پرورش می‌یابد و با تولید کرک، گوشت قرمز و محصولات لبنی از منابع درآمد مهم عشایر و دامداران محسوب می‌شود. در این پژوهش که به منظور بررسی چند شکلی ژن GOLA-DRB3 با استفاده از PCR-REFLP در این دام‌ها صورت گرفت از ۱۰۰ بز به صورت تصادفی و انفرادی خونگیری شد. سپس DNA نمونه‌های خون دام‌ها با استفاده از کیت استاندارد استخراج و تعیین کمیت و کیفیت شد. ناحیه اگزون ۲ جایگاه GOLA-DRB3 به طول ۲۸۵bp با روش Heminested-PCR در دو مرحله تکثیر و محصول PCR توسط آنزیم *TaqI* برش داده شد. محصولات هضم شده توسط الکتروفورز با ژل اکریل آمید۱۰٪ یا ژل ۲٪ و رنگ آمیزی اتیدیوم بروماید آشکار شد. نتایج هضم محصولات PCR با آنزیم *Taq*I شامل دو قطعه bp۱۶۳ و bp ۱۲۲ (الگوی هضمی T) یا قطعه هضم نشده bp ۲۸۵ (الگوی هضمی T) بود. جمعیت از لحاظ ژن GOLA-DRB3 انحراف از تعادل هاردی- واینبرگ نشان نداد (P<۰/۰۵). شاخص شانون، شاخص نیی، هتروزایگوسیتی مشاهده شده و هتروزایگوسیتی مورد انتظار به ترتیب ۰/۶۹، ۰/۵۰، ۰/۵۲ و ۰/۵۰ محاسبه شد. نتایج نشان داد که جمعیت مورد مطالعه تنوع ژنتیکی خوبی دارد و کارایی نشانگر GOLA-DRB3 جهت تعیین تنوع ژنتیکی خوب است. با استفاده از نتایج این پژوهش و پژوهش های قبلی و با در دست داشتن رکوردها و اطلاعات کمی جایگاه در این جمعیت، می‌توان شناسایی و تعیین محل جایگاه‌های مؤثر بر صفات کمی را انجام داد.

واژه‌های کلیدی: بز سرخ جبال‌بارز، ژن GOLA-DRB3، PCR-REFLP

*نویسندهٔ مسئول: mmohammadabadi@yahoo.ca

مقدمه

جمعیت بز سرخ جبال‌بارز در شهرستان‌های جیرفت و کهنوج قریب ۱۵۰ هزار رأس تخمین زده شده و در یک طیف رنگی قرمز تا قهوه‌ای دیده می‌شوند. رنگ غالب این حیوان قرمز است (Msoffe *et al*., 2005). این بزها برای تولید کرک، گوشت و شیر نگهداری می‌شوند. امروزه سرمایه گذاری عظیمی برای متنوع کردن محصولات کشاورزی به کمک صنعت کرک در اتحادیه اروپا انجام شده و کرک از این لحاظ وضعیت خوبی دارد (Herrmann and Wortmann, 1997). توفیق برنامه‌های اصلاح‌نژادی بستگی به میزان تنوع ژنتیکی موجود در جمعیت دارد (Moore *et al*., 1991). تخمین دقیق تنوع ژنتیکی در داخل گونه‌های حیوانی یک گام بنیادی جهت ذخیره منابع ژنتیکی است (Mohammadi *et al*., 2009). امروزه جهت بررسی‌های ژنتیکی جمعیت‌ها و حیوانات حفاظت شده، از نشانگرهای مولکولی DNA استفاده می‌شود و میزان چند شکلی بدست آمده از این نشانگرهای ژنتیکی که تحت تاثیر محیط نیز قرار نمی‌گیرد، یکی از پارامترهای قابل ارزیابی برای مطالعه جمعیت‌ها محسوب می‌شود (Baghizadeh *et al*., 2009). عدم نیاز به سرمایه زیاد، تولید گوشت کم چرب، نیاز کم به جایگاه و تجهیزات، تولید مناسب شیر، بالا بودن نسبت دوقلوزایی، مصرف غذای کم، هضم آسان شیر بز، ایجاد اشتغال و کمک به اقتصاد خانواده و تأمین درآمد ثابت از محاسن پرورش بز محسوب می‌شوند (Abbaszadeh *et al*., 2011). کمپلکس اصلی سازگاری بافتی[1] (MHC) کلاستر بزرگی از ژن‌های به هم پیوسته است که نقش تنظیمی را در سیستم ایمنی بازی می‌کند. سه ژن DRB به نام‌های DRBP1، DRB2 و DRB3 گزارش شده است. DRBP1 یک ژن کاذب است و DRB2 در سطح خیلی پائینی بیان می‌شود، در حالی که DRB3 بیان بالایی دارد و فوق‌العاده چند شکل است (Miretti *et al*., 2001; Van Oorschot *et al*., 1994; Wang *et al*., 2007). زیرگروه DR مولکول‌های MHC به عنوان یکی از پروتئین‌های اصلی کلاس II در سطح سلول‌های بز شناخته شده است (Ruzina *et al*., 2010; Amills *et al*., 1995). برخی آزمایش‌ها ارتباط بین کمپلکس اصلی سازگاری بافتی حیوان و مقاومت نسبت به بیماری‌ها نظیر حساسیت در برابر بیماری تورم مفصل همراه با آنسفالیت نشان می‌دهند (Davies and Andersson, 1996; Dietz and Cohen, 1997; Ruff *et al*., 2003). در خصوص بررسی چند شکلی این ژن و ارتباط آن با خصوصیات تولیدی نظیر کرک در بزهای چینی و نیز بز رائینی گزارش‌های متعددی وجود دارد (Abbaszadeh *et al*., 2011; Wang *et al*., 2007). این تحقیق با هدف بررسی چند شکلی ژن GoLA-DRB3 در بز سرخ جبال‌بارز با استفاده از روش PCR-RFLP صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

از ۱۰۰ بز به صورت تصادفی و انفرادی خونگیری شد. سپس DNA نمونه‌های خون دام‌ها با استفاده از کیت استاندارد استخراج و تعیین کمیت و کیفیت شد. ناحیه اگزون ۲ جایگاه GoLA-DRB3 به طول ۲۸۵bp با روش Heminested-PCR در دو مرحله تکثیر شد. آغازگرهای مورد استفاده عبارت بودند از:

5′-TATCCCGTCTCTGCAGCACATTTC-3′ آغازگر رفت (DRB 1.1)،

5′-TCGCCGCTGCACACTGAAACTCTC-3′ (DRB 1.2) (آغازگر برگشت مرحله یک) و

5′-CGTACCCAGAGTGAGTGAAGGTATC-3′ (GIO).

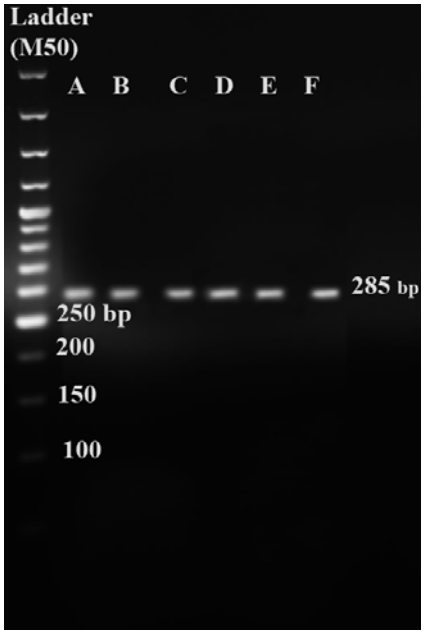
DRB 1.1 (آغازگر برگشت مرحله دو) در اولین اینترون و دومین اگزون قرار گرفته است، درحالی که DRB1.2 مکمل انتهای′3 اگزون ۲ می باشد. آغازگر GIO یک ناحیه اینترونی است که ۲۰۰bp پایین دست انتهای ′3 اگزون ۲ است. آغازگرهای GIO و DRB 1.1 در مرحله اول PCR استفاده شدند، در حالی که ترکیب آغازگرهای DRB1.2 و DRB1.1 در مرحله دوم PCR استفاده شد. در مرحله اول، دمای واسرشت سازی ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ دقیقه و طی ۱۰ سیکل؛ ۲۵ ثانیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۳۰ ثانیه در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد، ۳۰ ثانیه در دمای۷۲ درجه سانتی‌گراد و مرحلهٔ تکثیر انتهایی ۵ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد انجام شد.

[1] - Major histocompatibility complex

در مرحله دوم طی ۲۵ سیکل؛ ۴۰ ثانیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد،۳۰ ثانیه در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد، ۳۰ ثانیه در دمای۷۲ درجه سانتی‌گراد و مرحله تکثیر انتهایی ۵ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. پس از تکثیر قطعه مورد نظر با استفاده از آنزیم *Taq*I هضم طبق دستورالعمل شرکت فرمنتاز صورت گرفت. در تیوب‌های ۰/۲ میلی‌لیتری، ده میکرولیتر محصول PCR ریخته، سپس روی یک تیوب ۱/۵ میلی‌لیتری علامت *Taq*I را زده و کلیه مواد لازم شامل ۱ میکرولیتر آنزیم، دو میکرولیتر بافر و ۱۸ میکرولیتر آب استریل به ازای هر نمونه داخل آن ریخته و بعد ۲۱ میکرولیتر از آن، داخل هر یک از میکروتیوب‌ها ریخته شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۱۶-۱۰ ساعت داخل بن ماری در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. نمونه‌های هضمی (۵ میکرولیتر)، به علاوه بافر Lodding dye 6X روی ژل آگارز ۲ درصد الکتروفورز شد. پس از اتمام الکتروفورز، ژل با اتیدیوم بروماید رنگ آمیزی شد، سپس ژل تحت نور ماوراء بنفش بررسی شد. برای خواندن آلل‌ها، ژل رنگ آمیزی شده اسکن شد و برای محاسبه اندازه باندها از نرم افزار OnedScan استفاده شد. بعد از مشخص کردن ژنوتیپ افراد، با نرم افزار POPGENE فراوانی‌های ژنی و ژنوتیپی و شاخص‌های جمعیتی نظیر شانون، نئی، هتروزیگوتی و غیره محاسبه شد و تعادل هاردی وینبرگ نیز بررسی شد.

نتایج و بحث

DNAهای استخراج شده توسط الکتروفورز با ژل آگارز یک درصد و رنگ آمیزی اتیدیوم بروماید تست شد، کیفیت DNA نیز با مشاهده شکل باندها معلوم شد. وجود باندهای کاملاً واضح و بدون کمترین کشیدگی حاکی از بهترین کیفیت بود. عدم وجود کشیدگی در فاصله بین چاهک و باند حاکی از عدم آلودگی پروتئینی در نمونه ها و عدم وجود باند اضافی در پایین ژل و در فاصله ای زیاد از باند اصلی نشان دهنده عدم وجود ناخالصی مربوط به RNA در نمونه‌ها بود. همچنین نتایج جذب نوری نمونه‌ها در دستگاه اسپکتروفتومتر نیز، غلظت مطلوب DNAهای استخراجی را تایید کرد، زیرا نسبت A260/A280 بین ۲-۱/۸ بود. همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده می شود، فقط یک باند ۲۸۵ bp به دست آمد. نتایج حاصل از PCR با نتایج Sun and Yuan (2004)، Sheikh *et al.* (2006)، Amills *et al.*(1995 and 1996)، Li and Zhao (2005)، Bahaaldini (2008) و Ahmed and Othman (2006) مطابقت دارد.

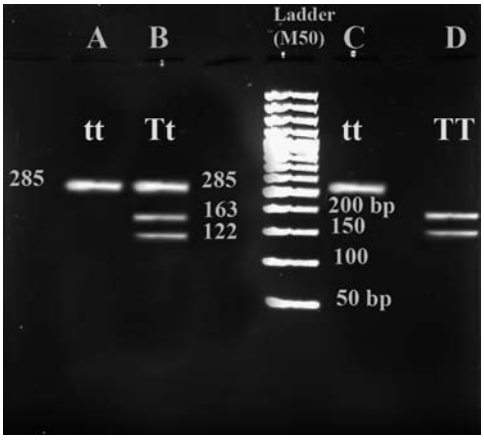


شکل ۱- نتایج PCR روی ژل آگارز ۱ درصد. (M50) نشانگر اندازه و A تا G حیوانات مورد مطالعه هستند.
Fig. 1. PCR products on 1% agarose gel. M50 is size marker and A to G are studied animals

شکل ۲- ارتباطات آغازگرها
Fig. 2. Relationship between primers

در پژوهشی Amills *et al.* (1995) نشان دادند، ارتباط نزدیکی بین چند شکلی تفاوت طول قطعات هضم شده (RFLP) و جایگزینی اسیدهای آمینه در موقعیت‌های مورد انتظار وجود دارد، که در شکل گیری ناحیه تشخیصی آنتی‌ژنی (ARS)، در مولکول DR مؤثر است. این نتایج پیشنهاد می‌کند کهPCR-RFLP ممکن است در مطالعه ژن DRB3 بز و جایگزینی اسیدآمینه مرتبط در ARS در مولکول DR با مقاومت به بیماری ورم پستان مفید باشد. همچنین در این تحقیق همانند تحقیق Sheikh *et al.* (2006) و Bahaaldini (2008) از Nested-PRC استفاده شد، زیرا Amills *et al.* (1995) بیان کردند که ارتباط نزدیکی بین حضور جایگاه‌های هضمی *Taq*I و *Pst* I و جایگزینی اسید آمینه به ترتیب در موقعیت‌های ۴۰ و ۷۸ وجود دارد که پیشنهاد کردند Nested PCR امکان بررسی بهتر *Pst*I RFLP و *Taq*I RFLP در دومین اگزون ژن DRB3 کلاس دو MHC بز را فراهم می‌سازد. لازم به ذکر است که *Pst*I RFLP در گوسفند، گاو، بز و خوک وجود دارد، در حالی که *Taq*I RFLP تنها در بز وجود دارد.

از مهمترین خصوصیات یک نشانگر مولکولی تعداد آلل، فراوانی آللی، تعداد آلل‌های مؤثر، هتروزیگوسیتی و محتوای اطلاعاتی چند شکل (PIC) آن نشانگر است. در این تحقیق دو آلل (T و t) و سه ژنوتیپ (TT، Tt و tt) در *Taq*I RFLP ژن GOLA-DRB3 بز سرخ جبال‌بارز مشاهده شد. به عبارت دیگر دو الگوی هضمی وجود دارد (شکل ۳): الگوی هضمی T با اندازه قطعات bp ۱۶۳ و ۱۲۲bp و الگوی هضمی t با قطعه هضم نشده pb ۲۸۵. در ژنوتیپ TT در هر دو رشته همولوگ سایت برش وجود دارد، در ژنوتیپ Tt در یک رشته سایت برش وجود دارد و در ژنوتیپ tt در هیچ یک از دو رشته سایت برش وجود ندارد. چند شکلی موجود در نتیجه حضور سایت چند شکل، در موقعیت ۱۲۲ قطعه مورد نظر است. نتایج این تحقیق درخصوص تعداد آلل‌های مشاهده شده و تعداد ژنوتیپ‌ها با نتایج Sheikh *et al.* (2006)، Ahmed and Othman (2006) و Bahaaldini (2008) مطابقت کامل دارد.



شکل ۳- الکتروفورز محصولات هضم شده با آنزیم *Taq*I روی ژل آکریل آمید ۱۰ درصد. (M50) نشانگر اندازه و A تا G حیوانات مورد مطالعه هستند.
Fig. 3. Electrophoresis of digested products with *Taq*I on 10% acrylamide gel. M50 is size marker and A to G are studied animals.

جدول ۱- مقایسه نتایج پژوهش‌های مختلف برای *Taq*I RFLP

Table 1. Comparison of results of different researches for *Taq*I RFLP

	Allele frequency of T	Allele frequency of t	Genotype frequency of Tt
Current study	0.68	0.32	0.44
Ahmed and Othman, 2006	0.60	0.40	0.61
Amills *et al*., 1995	0.65	0.35	--------
Sheikh *et al*., 2006	0.41	0.59	0.61
Bahaadini, 1387	0.53	0.47	0.57
Abbaszadeh *et al*., 1390	0.58	0.42	0.55
Baghizadeh *et al*., 2009	0.68	0.32	0.44

یکی دیگر از معیارهای چند شکلی تعداد آلل مؤثر است که با استفاده از نرم افزار POPGENE محاسبه شد.

در این نژاد تعداد آلل واقعی (na) برابر ۲ و تعداد آلل مؤثر (ne) مساوی ۱/۹۹۲۸ به دست آمد. فراوانی ژنوتیپ‌های TT, Tt و tt به ترتیب ۰/۲۷، ۰/۵۲ و ۰/۲۱ (جدول ۱) و فراوانی آلل‌های T و t به ترتیب ۰/۵۳ و ۰/۴۷ محاسبه شد.

نتایج پژوهش حاضر با نتایج Amills *et al*. (1995)، Bahaaldini (2008) و Ahmed and Othman (2006) هماهنگی کامل و با نتایج Sheikh *et al*. (2006) نیز مشابهت زیادی دارد. ولی آنچه مشهود است این که، در همه پژوهش‌های ذکر شده و همچنین این پژوهش، فراوانی آلل t نسبتاً بالا است (جدول ۱). افزایش جزیی هتروزیگوت‌ها سبب افزایش سهم آلل t شده است.

به منظور بررسی تعادل هاردی-وینبرگ در جایگاه مورد مطالعه در این جمعیت از دو آزمون کای اسکور (x^2) و جی اسکور (G^2) استفاده شد، البته باید توجه داشت که آزمون جی اسکور (G^2) نسبت به کای اسکور (x^2) حساس‌تر است. براساس آزمون کای اسکور (X^2) و جی اسکور (G^2) جمعیت از لحاظ ژن GoLA-DRB3b انحراف از تعادل هاردی-واینبرگ را نشان نداد ($P<0.05$). این امر می‌تواند به این دلیل باشد که نیروهای بر هم زننده تعادل وجود ندارند یا این که وجود دارند ولی طوری عمل می‌کنند که اثر همدیگر را خنثی می‌کنند که برآیند آن وجود تعادل هاردی-وینبرگ می‌شود. از آنجایی که جایگاه‌های RFLP دارای چند شکلی بالائی هستند و شاخص شانون بیانگر میزان تنوع ژنتیکی در هر جمعیت است، بنابراین در این مطالعه اقدام به محاسبه شاخص شانون (I) شد (جدول ۲).

جدول ۲- تنوع درون جمعیتی برای ژن GoLA-DRB3

Table 2. Intra-population diversity for GoLA-DRB3

	*Taq*I RFLP
Observed hemozygosity	0.48
Observed heterozygosity	0.52
Expected hemozygosity	0.4993
Expected heterozygosity	0.5007
Nei's index	0.4982
Average hemozygosity	0.4982
Shanon index	0.6913

تنوع درون جمعیتی با تعیین معیارهائی همچون هتروزیگوسیتی مشاهده شده (H_O)، هتروزیگوسیتی مورد انتظار (H_E) و هتروزیگوسیتی مورد انتظار نا اریب یا شاخص نئی ($H_{E\ Nei}$) مورد بررسی قرار گرفت (Nei, 1978). تعیین این مقادیر برای جایگاه GoLA-DEB3 در این جمعیت با استفاده از نرم افزار POPGENE انجام گرفت که نتایج در جدول ۲ نشان داده شده است.

با توجه به مقدار متوسط هتروزیگوسیتی، می‌توان بیان کرد که سطح تنوع ژنتیکی این جایگاه متوسط به بالا است، که این امر هم با فراوانی بالای هتروزیگوت‌ها (۰/۵۲) نسبت به هموزیگوت‌ها همخوانی دارد. به طوری که بر اساس تعریف چند شکلی می‌توان نشانگر تکثیر یافته را چند شکل در نظر گرفت.

نتایج این پژوهش بسیار نزدیک به نتایج Abbaszadeh *et al*. (2011)، که چند شکلی جایگاه GoLA-DEB3 در بزهای ندوشن ایران را بررسی کرده‌اند و نتایج Baghizadeh *et al*. (2009)، که چند شکلی جایگاه GoLA-DEB3 در بزهای کرکی راینی را مطالعه کرده‌اند بود که منطقی به نظر می‌رسد، چرا که نژاد مورد مطالعه و دو نژاد دیگر نژادهایی هستند که در یک نوع منطقه آب و هوایی پرورش یافته‌اند و می‌بایست از نظر فیزیولوژیکی و

سیستم ایمنی یکسان باشند تا بتوانند با این شرایط آب و هوایی سازگار شوند.

نتیجه گیری

با توجه به تعداد آلل های مشاهده شده و مؤثر در جایگاه مورد بررسی برای جمعیت و همچنین نتایج به دست آمده از تحلیل محتوای اطلاعاتی چند شکل استنباط می‌شود که چندشکلی و کارایی آغازگرهای مورد بررسی خوب بوده و می توان از این آغازگرها در مطالعات بعدی استفاده کرد. همان طور که ملاحظه می‌شود میانگین هتروزایگوسیتی مشاهده شده ۰/۴۹۸۲ است، که متوسط به بالا است. شاخص هتروزیگوسیتی نئی برای بزهای سرخ جبال بارز برابر ۰/۴۹۸۲ شد که این مقدار برای این جایگاه دو آللی بالا است و بیانگر تنوع ژنتیکی خوبی است، چرا که شاخص هتروزیگوسیتی یکی از شاخص‌های مهم در تعیین تنوع ژنتیکی است و همیشه مورد توجه اصلاحگران دام است. با توجه به نتایج حاصله کارایی نشانگر GOLA-DBR3 جهت تعیین تنوع ژنتیکی انکار ناپذیر است. با تلفیق نتایج این پژوهش و پژوهش های قبلی می توان با در دست داشتن رکوردها و اطلاعات کمی جایگاه در این جمعیت، در جهت شناسایی و تعیین محل جایگاه‌های مؤثر بر صفات کمی استفاده کرد.

فهرست منابع

Abbaszadeh Mehrabadi A., Mohammadabadi M.R., Esmailizadeh K. A. and Alinaghizadeh R. 2011. Polymorphism studying Exon 2 of GoLA-DRB3 gene in Nadoushan Goat using PCR-RFLP. Animal Science Researches of Iran, 3: 274-279. (In Farsi).

Ahmed S. and Othman E. 2006. A PCR-RFLP method for the analysis of Egyptian goat MHC class II DRB gene. Biotechnology, 5: 58-61.

Amills M., Francino O. and Sanchez A. 1995. Nested PCR allows the characterization of *Taq*I and *Pst*I RFLPs in the second exon of thecaprine MHC class II DRB gene. Vet. Immunol. Immunopathol. 48, 313-321.

Amills M., Francino O. and Sanchez A. 1996. A PCR-RFLP typing method for the caprine MHC class II DRB gene. VeteriImmunology and Immunopathology, 55: 255.

Baghizadeh A., Bahaaddini M., Mohamadabadi M. R., and Askari N. 2009. Allelic Variations in Exon 2 of Caprine MHC Class II DRB3 Gene in Raeini Cashmere Goat. American-Eurasian Journal of Agriculture and Environmental Science, 6: 454-459.

Bahaaldini M. 2008. Polymorphism studying Exon 2 of GoLA-DRB3 gene in Raini Cashmere Goat using PCR-RFLP. MSc dissertation, Zabol University, Zabol, Iran. (In Farsi).

Davies C. J. and Andersson L. 1997. Nomenclature for the factors of the BoLA system. 1996: report of the ISAG BoLA Nomenclature Committee. Animal Genetics, 28: 159–168.

Dietz A. B. and Cohen N. D. 1997. Timms and Kehrli M. E., Bovine Lymphocyte Antigen Class II Alleles as Risk Factors for High Somatic Cell Counts in Milkof Lactating . Dairy Cows. J Dairy Sci, 80: 406–412

Herrmann S. and Wortmann F.J. 1997. Opportunities for the simultaneous estimation of essential fleece parameterrs in raw cashmere fleeces. Livestock Production Science, 48:1-12

Li, M. and Zhao S. 2005. Allelic variations in exon 2 of caprine MHC class II DRB3 gene in Chinese indigenous goats. Small Ruminant Research, 66: 236–243.

Miretti M. M., Ferro J. A. , Lara M. A. and Contel E. P. B. 2001. Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) in Exon 2 of the BoLA-DRB3 Gene in South American Cattle. Biochemical Genetics, 39: 311-324

Mohammadi A., Nassiry M. R., Mosafer J., Mohammadabadi M. R. and Sulimova G. E. 2009. Distribution of BoLA-DRB3 Allelic Frequencies and Identification of a New Allele in the Iranian Cattle Breed Sistani (Bos indicus). Russian Journal of Genetics, 45: 198–202.

Moore S.S., Sargeant L. L., King T. J., Mattick J. S., Georges M. and Hatzel D. J. S. 1991. The conservation of dinucleotide microsatellites among mammalian genomes allows the use of heterologous RCR primer pairs in closely related species. Genomics, 10: 654-660.

Msoffe P. L., Mtaambo M. M. A., Minga U. M., Juul-Madsen H. R. and Gwakisa P. S. 2005. Genetic structure among the local chicken ecotypes of Tanzania based on microsatellite DNA typing. African Journal of biotechnology, 4: 768-771.

Nei M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. Genetics, 89: 583-590

Ruff G., U. Sattler, Martinez D., Maillard J., Chartier C., Saitbekova N., Glowatzki M. and Gaillard C. 2003. Association studies using random and candidate microsatellite loci in two infectious goat diseases. Genetic Selection, 35: 113–119.

Ruzina M. N., Shtyfurko T. A., Mohammadabadi M. R., Gendzhieva O. B., Tsendsuren T. and

Sulimova G. E. 2010. Polymorphism of the BoLA_DRB3 Gene in the Mongolian, Kalmyk and Yakut Cattle Breeds. Russian Journal of Genetics, 46 (4): 456–463.

Sheikh F. D., Bhattacharya T. K., Kumar P. and Sharma A. 2006. DRB3.2 gene polymorphism and its association with pashmina production in Changthangi goat. Journal compilation, 271-276.

Sun D. 2004. Polymorphism analysis of the GOLA-DRB3 gene digested with *Hae*III in Mongolian goat and Kazakh goat. College of Animal Science and Technology, China Agricultural University

Sun D. and Yuan Z. 2004. Polymorphisms of the Second Exon of MHC-DRB Gene in Chinese Local Sheep and Goat. Biochemical Genetics, 42: 385-390.

Van Oorschot R. A. H., Maddox J. F., Adams L. J. and Fabb S. A. 1994. Characterization and evolution of ovine MHC class II DQB sequence polymorphism. Animal Genetics, 25: 417.

Wang K., Sun D. X. and Zhang Y. 2007. Identification of genetic variations of exon 2 of BoLA-DQB gene in five Chinese yellow cattle breeds. International Journal of Immunogenetics, 34: 115–118.

Polymorphism of the second exon of *MHC-DRB3* gene in Jabal-Barez Red goat

M. R. Mohammadabadi[1*], K. Dastafkan[2]

1. Associate Professor of Animal Science Department, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman and 2. MSc Student of Animal Science Department, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman

(Received: 4-10-2011- Accepted: 31-7-2012)

Abstract

More than 450000 Jabalbarez Red Goat are breeding in the cities of Jiroft and Kahnooj and produce cashmere, meat and dairy products. In this study which was carried out to analyse the polymorphism of GoLA-DRB3 gene in Jabalbarez Red goat using PCR-RELP, blood samples were randomly and individually taken from 100 goats. Then DNA was extracted from blood samples using DIAtom DNA prep Kit and its quantities and qualities were determined. Exon 2 of DRB 3.2 gene encompassing 285 bp amplified with heminested-PCR method in two rounds and PCR products were digested into fragments at 122bp and 163bp (T restriction pattern) or an undigested fragment at 285bp (t restriction patten). The Population was hardy-Weinberg equilibrium ($P<0.05$). Shanon Index, Nei index, observed heterozygosity and expected heterozygosity were calculated 0.69, 0.50, 0.52 and 0.50 respectively. Results show that the studied population has good genetic diversity, and the efficiency of GOLA-DRB3 marker for determination of genetic diversity is good. By using the results of this study and previous studies and the application of quantitative records and information for locus of this population, loci affecting quantitative traits can be detected.

Keywords: GoLA-DRB3 gene, Jabalbarez Red goat, PCR-RFLP

[*] Corresponding author: mmohammadabadi@yahoo.ca