شماره ثبت:

دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده دامپزشکی

پایان نامه جهت اخذ درجه دکترای عمومی

دامپزشکی (DVM)

عنوان:

مقایسه ی توالی ژنتیکی ژن BOLA-DRB3 در بین گاوهای سیستانی و هلشتاین

به کوشش:

آرزو سالارپور

استاد راهنما:

دکتر جلیل مهرزاد

دی ماه ۱۳۹۰

بسم الله الرحمن الرحیم

شماره ثبت:

دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده دامپزشکی

پایان نامه جهت اخذ درجه دکترای عمومی

دامپزشکی (DVM)

عنوان:

مقایسه ی توالی ژنتیکی ژن BOLA-DRB3 در بین گاوهای سیستانی و هلشتاین

به کوشش:

آرزو سالارپور

استاد راهنما:

دکتر جلیل مهرزاد

استاد مشاور:

دکتر محمدرضا باسامی

دی ماه ۱۳۹۰

اظهارنامه

اینجانب ..... دانشجوی دوره دکتری/کارشناسی ارشد رشته ..... دانشکده.....
..... دانشگاه فردوسی مشهد نویسنده رساله/پایان نامه.....
..... تحت راهنمایی ..... متعهد می‌شوم:

- تحقیقات در این رساله/پایان نامه توسط اینجانب انجام شده است و از صحت و اصالت برخوردار است.
- در استفاده از نتایج پژوهشهای محققان دیگر به مرجع مورد استفاده استناد شده است.
- مطالب مندرج در رساله/پایان نامه تاکنون توسط خود یا فرد دیگری برای دریافت هیچ نوع مدرک یا امتیازی در هیچ جا ارائه نشده است.
- کلیه حقوق معنوی این اثر متعلق به دانشگاه فردوسی مشهد می‌باشد و مقالات مستخرج با نام « دانشگاه فردوسی مشهد » و یا « Ferdowsi University of Mashhad » به چاپ خواهد رسید.
- حقوق معنوی تمام افرادی که در به دست آمدن نتایج اصلی رساله/پایان نامه تأثیرگذار بوده‌اند در مقالات مستخرج از رساله/ پایان نامه رعایت شده است.
- در کلیه مراحل انجام این رساله/پایان نامه، در مواردی که از موجود زنده (یا بافتهای آنها) استفاده شده است ضوابط و اصول اخلاقی رعایت شده است.
- در کلیه مراحل انجام این رساله/پایان نامه، در مواردی که به حوزه اطلاعات شخصی افراد دسترسی یافته یا استفاده شده است، اصل رازداری، ضوابط و اصول اخلاق انسانی رعایت شده است.

تاریخ و امضای دانشجو

مالکیت نتایج و حق نشر

- کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج، کتاب، برنامه های رایانه‌ای، نرم افزارها و تجهیزات ساخته شده) متعلق به دانشگاه فردوسی مشهد می‌باشد. این مطلب باید به نحو مقتضی در تولیدات علمی مربوطه ذکر شود.
- استفاده از اطلاعات و نتایج موجود در رساله/پایان نامه بدون ذکر مرجع مجاز نمی‌باشد.

به نام خدا

گــواهی اعضای کمیتــه‌ی پایان نامه

مقایسه ی توالی ژنتیکی ژن BOLA-DRB3 در بین گاوهای سیستانی و هلشتاین

به کوشش:

آرزو سالارپور

پایان‌نامه

ارائه شده به تحصیلات تکمیلی دانشگاه فردوسی مشهد به عنوان بخشی

از فعالیت‌های تحصیلی لازم جهت اخذ درجه دکتری حرفه ای دامپزشکی

در رشته‌ی:

دامپزشکی

از دانشگاه فردوسی مشهد

جمهوری اسلامی ایران

این پایان نامه در جلسه مورخ / /۱۳۹۰ با درجه .... با نمره ..... به تصویب هیأت محترم داوران رسید.

استاد راهنما: استاد راهنما: **دکترجلیل مهرزاد** (استادیار گروه پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد)

استاد مشاور: **دکتر محمدرضا باسامی** (استادیارگروه علوم درمانگاهی- بهداشت و پیشگیری بیماری های دامی دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد)

استاد داور: **دکتر حسام دهقانی** (دانشیار گروه علوم پایه دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد)

استاد داور: **دکتر محمدرضا نصیری** (دانشیار گروه آموزشی علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد)

تقدیم به:

آنان که وجودم جز هدیه ی وجودشان نیست

مادرم

سنگ صبوری که الفبای زندگی به من آموخت

پدرم

کوهی استوار و حامی من در تمام طول زندگی

باقدردانی و سپاس از:

جناب آقای دکتر جلیل مهرزاد که راهنمایی این پایان نامه را پذیرفتند.

جناب آقای دکتر محمدرضا باسامی که راهنمای من در تکمیل این پایان نامه بوده اند.

جناب آقای دکتر وهابی که در امر انجام این پایان نامه یاری رساندند.

چکیده

مقایسه ی توالی ژنتیکی ژن BOLA-DRB3 در بین گاوهای سیستانی و هلشتاین

تا کنون اهداف اصلاح نژادی در گاوهای شیری بر افزایش میزان صفات تولیدی تمرکز داشته که این مسئله باعث کاهش مقاومت گاوها به عوامل بیماریزا شده است . ارتقاء مقاومت در دام ها با استفاده از برنامه های اصلاح ژنتیکی قابل حصول می باشد و بدین منظور مهمترین فاکتور ژنتیکی دخیل که تا کنون شناخته شده است محصولات ژنتیکی MHC یا سیستم سازگاری نسجی می باشد که نقش کنترلی آن در مقاومت و پا سخ ایمنی میزبان به بیماری ها به خوبی مشخص شده است . کلاس II مولکول MHC از اجزای مهم سیستم ایمنی است که در پردازش و ارائه ی آنتی ژن ها به سلول های $CD_{4+}T$ و ایجاد پاسخ های ایمنی سلولی و همورال ضروری می باشد . دلیل انتخاب نژاد سیستانی جهت بررسی مولکول MHC در آن، نیز این واقعیت است که این نژاد از نظر ژنتیکی نژاد بی نظیری است که در برابر شرایط نامساعد محیطی ، تغذیه ای و عوامل بیماریزا مقاوم می باشد. برای درک بیشتر مکانیسم مولکولی مقاومت بالای گاوهای سیستانی در برابر عوامل بیماریزا نسبت به گاو های هلشتاین ، در این مطا لعه با استفاده از تکنیک های معمول سلولی، مولکولی و بیوانفورماتیک از جمله PCR و Sequence analysis، توالی نوکلئوتیدی یکی از ژن های کلیدی مولکول MHC-II، BOLA-DRB3.2، در سلول های عرضه کننده ی آنتی ژن گاوهای سیستانی و هلشتاین به منظور مطالعه ی مقایسه ای پلی مورفیسم آن در این دو نژاد با نرم افزار CLC Main workbench version 5.5 بررسی گردید. با استفاده از پرایمر اختصاصی ژن BOLA-DRB3.2 در گاو نژاد سیستانی، انجام PCR بر روی DNA استخراجی از سلول های خونی ۲۰ گاو سیستانی، بررسی توالی محصول ۲۰۲ جفت بازی PCR و مقایسه ی آن ها با گاو هلشتاین مشخص شد که در جایگاه و تعداد جهش های مشاهده شده در دو نژاد تفاوت چندانی وجود ندارد، گرچه نشانه ای از موتاسیون در ژن مورد نظر دیده شد. مقایسه ی پروتئین های احتمالی حاصل از توالی های نوکلئوتیدی در دو نژاد نیز موید شباهت آن ها بود که با توجه به ساختار مشابه ژن BOLA-DRB3.2 در دو نژاد قابل قبول می باشد . لذا این یافته ها فرض اولیه مبنی بر تفاوت ژنتیکی ژن BOLA-DRB3.2 در گاو سیستانی و ارتباط آن با مقاومت بالای این نژاد در برابر بیماری ها را مخدوش می نماید و ذهن را به سمت فرضیه ی دیگری سوق می دهد، که شاید تفاوت در میزان فراوانی آلل های ژن BOLA-DRB3.2 است که عامل مقاومت گاوهای سیستانی در برابر عوامل بیماریزا می باشد که اثبات این موضوع نیازمند مطالعات بیشتر است. همچنین سایر فاکتورهای موثر بر ایمنی از جم له سیستم ایمنی غیر اختصاصی بایست ی مورد بررسی قرار گیرد . در آزمایشگاه های ایمونولوژی و بیوتکنولوژی دانشکده ی دامپزشکی مطالعات عمیق تری بر روی این موضوع در حال انجام است.

کلمات کلیدی: مولکول های MHC، ژن BOLA-DRB3.2، توالی، PCR، گاو سیستانی

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول: مقدمه

مقدمه ۱

فصل دوم: کلیات

خلاصه ای از تاریخچه ی پژوهش بر روی آلل های ژن BOLA-DRB3.2 و ارتباط آن با مقاومت و حساسیت در نژادهای گاو ۵

۲-۱. نژاد سیستانی ۸

۲-۲. مولکول MHC ۹

۲-۳. MHC کلاس II ۱۰

۲-۴. BOLA-DRB3 ۱۲

۲-۵. PCR (Polymerase Chian Reaction) ۱۳

۲-۶. ساخت پرایمر ۱۸

۲-۷. الکتروفورز DNA بر روی ژل آگارز ۱۸

۲-۸. تعیین توالی DNA (DNA Sequencing) ۱۹

فصل سوم: مواد و روش کار

مواد و وسایل مورد نیاز ۲۷

۳-۱. خون گیری ۲۹

۳-۲. استخراج DNA ۲۹

۳-۳. تعیین غلظت DNA ۳۰

۳-۴. PCR ۳۱

۳-۵. الکتروفورز ۳۳

۳-۶. تعیین توالی ۳۵

۳-۷. بررسی و مقایسه ی توالی های نوکلئوتیدی ۳۵
۳-۸. خلاصه ای از مراحل اجرای مطالعه ی حاضر ۳۸

فصل چهارم: نتایج

نتایج ۴۰

فصل پنجم: بحث

بحث ۶۲
پیشنهادها ۶۷

فصل پنجم: منابع و مراجع

منابع و مراجع ۶۹

فهرست جداول

عنوان و شماره **صفحه**

جدول ۳-۴-۱. خصوصیات پرایمرهای BOLA-DRB3.2 جهت استفاده در PCR ۳۲

جدول۳-۴-۲. جزئیات دما و زمان برنامه ی سیکل های مختلف PCR که بر روی نمونه ی DNA گاوهای سیستانی انجام شد ۳۳

جدول ۴-۱. جایگاه های نوکلئوتیدی متغیر به همراه بازهای مربوطه در گاو سیستانی ۴۲

جدول ۴-۲. مقایسه ی واریانت های ژن BOLA-DRB3.2 در گاو سیستانی با استفاده از ماتریس Blosam 62 ۴۳

جدول ۴-۳. جایگاه های نوکلئوتیدی متغیر به همراه بازهای مربوطه در گاو هلشتاین ۴۴

جدول ۴-۴. تفاوت توالی های نوکلئوتیدی ژن BOLA-DRB3.2 در گاو سیستانی و هلشتاین ۴۵

جدول ۴-۵. مقایسه ی توالی های نوکلئوتیدی ژن BOLA-DRB3.2 در گاو سیستانی و هلشتاین ۴۶

جدول ۴-۶. انتخاب فریم مناسب جهت خواندن کدهای ژنتیکی و تبدیل آن ها به پروتئین ۴۸

جدول ۴-۷. تفاوت های آمینواسیدی در پروتئین های احتمالی حاصل از واریانت ها در گاو سیستانی ۴۹

جدول ۴-۸. مقایسه ی درصد همولوژی (ردیف بالا) و اختلاف (ردیف پایین) در پروتئین ها در گاو سیستانی ۵۰

جدول ۴-۹. تفاوت های آمینو اسیدی جایگاه های مختلف در نمونه های پروتئینی مربوط به گاو سیستانی و هلشتاین ۵۱

جدول ۴-۱۰. درصد همولوژی (ردیف بالا) و اختلاف (ردیف پایین) در پروتئین های گاو سیستانی و هلشتاین ۵۲

جدول ۴-۱۱. دسته بندی آمینواسیدهای مختلف بر اساس خصوصیت گروه R در آن ها ۵۵

جدول ۴-۱۲. برخی مشخصات ۳ نمونه ی پروتئینی مورد بررسی (نمونه های شماره ی ۵، ۸ و AB610131) ۵۹

فهرست شکل ها

عنوان و شماره **صفحه**

شکل ۲-۱-۱. گاو سیستانی مورد استفاده در مطالعه ی حاضر ۸

شکل ۲-۳-۲. ساختار پروتئینی مولکول MHC-II ۱۱

شکل ۲-۳-۳. مراحل پردازش و عرضه ی پپتیدهای آنتی ژنی توسط مولکول MHC-II در سلول های APC ۱۲

شکل ۲-۵-۴. شرح شماتیک مراحل مختلف PCR و تغییرات دما ۱۴

شکل ۲-۸-۵. الکتروفورز قطعات مختلف DNA در تعیین توالی به روش سانگر ۲۴

شکل ۲-۸-۶. تعیین توالی DNA به روش اتومات ۲۵

شکل ۳-۳-۱. تصویر نمونه ی DNA استخراجی بر روی ژل آگارز ۳۰

شکل ۳-۳-۲. نمونه ای از تعیین کیفیت و کمیت DNA با استفاده از روش نانو دراپ ۳۱

شکل ۳-۷-۳ . هولوگرام نمونه ی ۸ گاو سیستانی ۳۶

شکل ۳-۷-۴. قطعه ی ۱۶۱ جفت بازی از ژن BOLA-DRB3.2 در گاو سیستانی ۳۷

شکل ۳-۸-۵. خلاصه ای از تمامی مراحل کار در پایان نامه ی حاضر به صورت شماتیک ۳۸

شکل ۴-۱. الکتروفورز محصولات PCR ۴۰

شکل ۴-۲. همترازی واریانت های به دست آمده در مطالعه ی حاضر برای ژن BOLA-DRB3.2 در گاو سیستانی ۴۱

شکل ۴-۳. توالی به دست آمده برای ژن BOLA-DRB3.2 در گاو سیستانی ۴۲

شکل۴-۴. گوناگونی آللی در توالی منتخب BOLA-DRB3.2 در گاو هلشتاین ۴۳

شکل ۴-۵. همترازی توالی های نوکلئوتیدی ژن BOLA-DRB3.2 در گاو سیستانی و هلشتاین ۴۵

شکل ۴-۶. جایگاه های برش ۲ آنزیم HaeIII و TaqI بر روی ۳ نمونه ی مورد بررسی ۴۷

شکل ۴-۷. الکتروفورز قطعات حاصل از برش همزمان توسط ۲ آنزیم HaeIII و TaqI بر روی نمونه های گاو سیستانی و هلشتاین ۴۷

شکل ۴-۸. ۳ توالی آمینواسیدی حاصل از نمونه ی شماره ی ۱۰ در گاو سیستانی که با استفاده از ۳ فریم بدست آمده است ۴۸

شکل ۴-۹. انتخاب فریم مناسب جهت خواندن کدهای ژنتیکی و تبدیل آن ها به پروتئین ۴۸

شکل ۴-۱۰. همترازی پروتئین های حاصل از واریانت ها در گاو سیستانی ۴۹

شکل ۴-۱۱. همترازی پروتئین های حاصل از نمونه های گاو سیستانی و هلشتاین ۵۱

شکل ۴-۱۲. هیستوگرام مقایسه ی تعداد آمینواسیدهای متفاوت در ۳ نمونه ی پروتئینی مورد بررسی ۵۳

شکل ۴-۱۳. نقطه ی ایزوالکتریک ۳ نمونه ی پروتئینی مورد بررسی ۵۴

شکل ۴-۱۴. نمودار رسم شده به روش Kyte-Doolittle ۵۵

شکل ۴-۱۵. نمودار رسم شده به روش Welling ۵۶

شکل ۴-۱۶. ساختمان دوم ۳ نمونه ی پروتئینی ۵۷

شکل ۴-۱۷. محل اثر آنزیم های تریپسین، ترومبین و TEV در نمونه های پروتئینی مورد بررسی ۶۰

بحث

مقدمه

از آنجا که هر منطقه ای در دنیا دارای حیوانات منحصر به خود است سیستان و بلوچستان نیز از این قاعده مستثنی نبوده و دارای نژادی است که وِیژه ی این منطقه می باشد . گاو سیستانی گاوی نیمه وحشی از تیره ی گاو زبو [۱] (بوس ایندکوس[۲]) است. آنچه اندیشمندان علوم دامی به آن اعتقاد دارند این است که این دام از شبه قاره ی هند به این منطقه آورده شده است اما گروهی معتقدند که ریشه ی گاو زبوی هندی، مناطق مرکزی و جنوبی کشورمان می باشد. این گروه به پیکره ی گاو کوهاندار و شاخداری که در مازندران یافت شده و همین طور به نژاد سیستانی و دشتیاری اشاره می نمایند. آنچه مسلم است این است که گاو سیستانی از پنج هزار سال قبل در منطقه ی سیستان می زیسته و در کشاورزی، تولید شیر و گوشت مورد استفاده واقع می شده است. در گذشته های دور نیز تمام کسانی که قصد پرواربندی گاو را داشتند به سراغ نژاد گاو سیستانی می رفتند. تحقیقات نشان می دهد گاو بومی سیستان بدون اصلاح نژاد روزانه ۱۰ تا ۱۵ لیتر شیر مرغوب و غلیظ تولید می کند و افزایش وزن این گاو نیز به ۱۸۰۰–۱۵۰۰ گرم در روز می رسد (۱).

گاو سیستانی از نقطه نظر ژنتیکی، نژادی منحصر به فرد است که در برابر شرایط نامساعد محیطی، نوع تغذیه و همین طور در برابر بیماری ها، از مقاومت بالایی برخوردار است و خود این دلیلی است بر اهمیت فعالیت های پژوهشی که بر روی این نژاد صورت گرفته و احتمالا در آتیه صورت خواهد گرفت (۱). مطالعات اولیه بر روی این نژاد دال بر کارایی بالاتر سیستم ایمنی غیر اختصاصی آن نسبت به گاو هلشتاین[۳] است و بررسی نوتروفیل های این نژاد نیز به اثبات این موضوع کمک کرده است (۱). مطالعه ی اخیر توسط مهرزاد و همکاران (Unpublished results،Mehrzad et al.) از جمله پژوهش هایی است که نشان دهنده ی مقاومت و کارایی بالای اجزاء سلولی سیستم ایمنی ذاتی گاو سیستانی است.

---

۱. Zebu

۲. Bos indicus

۳. Holstein

مقاومت بیشتر گاوها از آن جهت مورد اهمیت است که خسارات اقتصادی ناشی از کاهش تولید، حذف شیر تولیدی، هزینه های درمان و یا مرگ و میر در دام ها بسیار چشمگیر می باشد و لذا انتخاب دام های مقاوم به بیماری منجر به کاهش هزینه های بهداشتی و مصرف آنتی بیوتیک می گردد. از آنجا که صفات مربوط به مقاومت، وراثت پذیری پایینی داشته و روند پیشرفت ژنتیکی در اثر انتخاب به روش های رایج به کندی صورت می گیرد، تمایز در عملکرد میان افراد نژادها، لاین ها، جمعیت ها و سویه ها به لحاظ ژنتیکی مورد توجه متخصصین اصلاح نژاد قرار گرفته است (۲).

سال های متمادی است که اهداف اصلاح نژادی در گاوهای شیری بر افزایش میزان صفات تولیدی تمرکز یافته است. این موضوع به دلیل ثبت شدن و در دسترس بودن رکورد گاوها و وراثت پذیری متوسط این صفات دارای اهمیت اقتصادی فراوانی است (۲). از طرفی تمرکز بر ارتقاء صفات تولیدی منجر به کاهش مقاومت دام ها به بیماری ها شده است. از بیماری های حائز اهمیت ورم پستان[۱] می باشد که اکنون به عنوان چالشی جدی برای پرورش دهندگان و متخصصان اصلاح نژاد گاو شیری محسوب می شود. ورم پستان با کاهش کیفیت و کمیت شیر، کاهش میزان ماندگاری و افزایش هزینه های دارو و درمان آثار نامطلوبی بر اقتصاد گله دارد. نتایج تحقیقات نشان می دهد، مقاومت به بیماری ها در نشخوارکنندگان دارای واریانس ژنتیکی می باشد و در حال حاضر در بیشتر کشورها انتخاب صفات مرتبط با مقاومت به بیماری ها به ویژه ورم پستان از اهمیت ویژه ای برخوردار است. بدین منظور شناسایی ژن های عمده ی موثر بر مقاومت به ورم پستان و کاربرد روش گزینش به کمک نشان گر، فرصت مناسبی جهت بهبود وضعیت ورم پستان در صنعت گاو شیری فراهم کرده است (۳). پلی مورفیک بودن و قابلیت توارث تغییرات در سطح ژنوم و مولکول DNA به کمک تکنیک های جدید ،شناسایی و منجر به معرفی نشانگرهای ژنتیکی جدید گشته که مرتبط با صفات تولیدی و ایمنی است، لذا کمپلکس اصلی سازگاری نسجی (MHC[۲]) که در گاو آنتی ژن لکوسیت های گاوی (BOLA[۳]) نامیده می شود به علت ارتباط آن با ایمنی دام مورد توجه قرار گرفته است (۲).

ارتقاء مقاومت در دام ها در برابر بیماری ها با استفاده از برنامه های اصلاح ژنتیکی قابل حصول می باشد و بدین منظور مهمترین فاکتور ژنتیکی دخیل که تا به امروز شناخته شده است محصولات ژنتیکی MHC می باشد که نقش کنترلی آن در مقاومت و پاسخ ایمنی میزبان به بیماری ها به خوبی مشخص شده است. پاسخ اختصاصی به عوامل بیماریزا وابستگی زیادی به ژن های MHC داشته و کشف این ارتباط می تواند جهت درک واکنش های متقابل میزبان و پاتوژن ارزشمند باشد. در گاو ارتباط نزدیکی بین ناحیه ی ژنتیکی MHC Class II-DRB3 و مقاومت یا حساسیت نسبت به بیماری های عفونی وجود

---

۱. Mastitis

۲. Major histocompatibility complex

۳. Bovine leukocyte antigen

دارد (۴).

در این پژوهش سعی شده است با استفاده از تکنیک های معمول بیولوژی مولکولی از جمله PCR و Sequence analysis توالی نوکلئوتیدی یکی از اگزون های کلیدی ژن، BOLA-DRB3.2 MHC-II ، در سلول های عرضه کننده ی آنتی ژن (APC[1]) گاوهای سیستانی و هلشتاین بررسی شود تا امکان مطالعه ی پلی مورفیسم این ژن در گاو های سیستانی و مقایسه ی آن بین دو نژاد نامبرده فراهم گردد. فرض ما این است که قطعه ی ژنی BOLA-DRB3.2 در گاوهای نژاد سیستانی دارای تفاوت هایی نسبت به گاوهای هلشتاین می باشد که منجر به افزایش مقاومت گاو سیستانی نسبت به عوامل بیماریزا شده است. با روشن شدن این مطلب امکان انجام تحقیقات بیشتر بر روی عملکرد بیولوژیک ژن BOLA-DRB3.2 و ارتباط بین فعالیت آن و مقاومت یا حساسیت نسبت به بیماری های عفونی مختلف وجود خواهد داشت که درک ما را از مکانیسم های مولکولی مرتبط با مقاومت میزبان نسبت به پاتوژن های میکروبی افزایش خواهد داد و نهایتا از اطلاعات بدست آمده می توان به منظور ارتقاء مقاومت گاو هلشتاین، که در حال حاضر نژاد غالب موجود در ایران و جهان است ،توسط ابزارهای مولکولی بهره برد.

۱. Antigen presenting cells

بحث

خلاصه ای از تاریخچه ی پژوهش بر روی آلل های ژن BOLA-DRB3.2 و ارتباط آن با مقاومت و حساسیت در مقابل بیماری ها در نژادهای گاو

مولکول MHC یا مجتمع اصلی سازگاری نسجی ناحیه ای وسیع از ژنوم است که پروتئین های دخیل در پاسخ های ایمنی را رمز دهی می کند و شامل دو کلاس غالب I و II می باشد. مولکول MHC-II در عرضه ی آنتی ژن های خارج سلولی به لنفوسیت های T و آغاز پاسخ ایمنی سلولی و بدنبال آن پاسخ هومورا ل دخیل می باشد (۴). به دلیل نقش کلیدی MHC-II در پاسخ های ایمنی، ارتباط با بیماری ها ی مختلف، تنوع ژنتیکی آن و ارتباط با تاریخ تکامل در دو دهه ی اخیر مطالعات و پژوهش های بسیاری بر روی آن صورت پذیرفته است. برخی از جدیدترین این مطالعات که در تمامی آن ها با استفاده از تکنیک های هضم آنزیمی ۱، PCR۲ و یا PCR-RFLP۳ پلی مورفیسم قطعه ی ۲۸۴ جفت بازی ژن BOLA-DRB3.2 و رابطه ی آن با برخی بیماری ها مورد بررسی قرار گرفته ، در ادامه آمده است و لازم به ذکر است که عمدتا مطالعات صورت گرفته بر روی نژادهای مختلف گاو در ایران، انتخاب و مطرح شده است.

در مطالعه ای که توسط Da mota و همکاران در سال ۲۰۰۲ بر روی ژن BOLA-DRB3.2 در نژاد شیری برزیل (بوس ایندکوس) صورت گرفت، آلل های ۲۲۰۱*، ۳۶۰* و ۲۱۰۱* دارای بیشترین فراوانی بودند (۵). فراوانی آلل های ژن BOLA-DRB3.2 توسط Takeshima و همکاران در سال ۲۰۰۳ در چندین نژاد در ژاپن بررسی شد . آلل های با بیشترین فراوانی به این شرح بودند : آلل شماره ی ۱۱۰۱* در نژاد هلشتاین، ۴۵۰۱* در نژاد جرزی[۴]، ۱۲۰۱ در نژاد شورت

۱. Enzyme digestion
۲. Polymerase chain reaction
۳. Polymerase chain reaction-restriction fragment length Polymorphism
۴. Jersey