

8. Gladysir, E. A., N. A. Zinoveva, and A. N. Popov. 2001. *Metodicheskie rekomendatsii po opredeleniyu variantov kappa-kazeina krupnogo rogatogo skota – Methodical recommendations for the determination of variants of kappa-casein of cattle*. Dubrovitsyi, VIZh, 43 (in Russian).

9. Hripta, G. P. 1978. *Harakteristika zhyvotnyih, zapisannyih v V tom Gosudarstvennoy plemennoy knigi krupnogo rogatogo skota buroy karpatskoy porodyi – Characteristics of animals recorded in volume V of the State Breeding Book of cattle of the Carpathian Brown breed. Gosudarstvennaya plemennaya kniga krupnogo rogatogo skota buroy karpatskoy porodyi – State pedigree book of cattle of the brown Carpathian breed*. K., V:3–8 (in Russian).

10. FAO. 2011. *Molecular genetic characterization of animal genetic resources*. FAO Animal Production and Health Guidelines. Rome, 9:87.

11. FAO. 2007. *The State of the World's Animal Genetic Resources for Food and Agriculture*, edited by Barbara Rischkowsky & Dafydd Pilling. Rome, 524.



УДК 575.113.2:591.151]:636.27(477)

ОСОБЛИВОСТІ РОЗПОВСЮДЖЕННЯ АЛЕЛІВ ГЕНУ BoLA-DRB3 У СІРОЇ УКРАЇНСЬКОЇ ПОРОДИ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ

Т. М. СУПРОВИЧ¹, Н. Б. МОХНАЧОВА², М. П. СУПРОВИЧ¹, Н. М. ФУРСА³

¹Подільський державний аграрно-технічний університет (Кам'янець-Подільський, Україна)

²Інститут розведення і генетики тварин імені М.В.Зубця НААН (Чубинське, Україна)

³Інститут тваринництва степових районів імені М. В. Іванова «Асканія-Нова» НААН (Асканія-Нова, Україна)

nt82@i.ua

Вивчено поліморфізм гену BoLA-DRB3 у сірої української породи великої рогатої худоби методом ПЛР-ПДРФ. У сірої худоби виявлено 27 BoLA-DRB3.2 алелів. Із 54 відомих ПДРФ-алелів виявлено 22. Також в популяції сірої худоби зустрічається 5 алелів, які у цей перелік не входять: *jab, *jba, *jbb, *nad, *nda. Алельний спектр нерівномірний. З частотою понад 4% виявляються 6 алелів: *06, *12, *15, *16, *24 і *jba). Частотний діапазон змінюється від 43,06 до 4,86%. Алель *16 значно переважає інші. Він проявляється у більш як у 43% випадків. З високою частотою представлений алель *12 (9,72%). Вивчено розподіл генотипів у сірої худоби. Встановлено всього 35 BoLA-DRB3-генотипів. Так, з частотою >5% представлений тільки 1 генотип *16/*16 (5,25%).

Ключові слова: сіра українська порода, корови, поліморфізм, ген BoLA-DRB3, алель

FEATURES OF THE PROPAGATION OF GENE BoLA-DRB3 ALLELES IN GRAY CATTLE BREEDS

T. M. Suprovich¹, N. B. Mokhnachova², M. P. Suprovich¹, N. M. Fursa³

¹State Agrarian and Engineering University in Podilya (Kamianets-Podilskyi, Ukraine)

²Institute of animals breeding and genetics nd. a. M.V.Zubets of the NAAS (Chubynske, Ukraine)

³Ascania Nova Institute of Animal Breeding in the Steppe Regions nd. a. M.F. Ivanov NAAS (Askania-Nova, Ukraine)

The polymorphism of the BoLA-DRB3 gene in the gray Ukrainian breed of cattle was studied using the PCR-PDRF method. In gray cattle, 27 BoLA-DRB3.2 alleles were detected. Of the 54 known PDRF alleles, 22 alleles have been detected. There are also 5 alleles in the gray cattle population that are not included in this list: *jab, *jba, *jbb, *nad, *nda. The algebraic spectrum is

© Т. М. СУПРОВИЧ, Н. Б. МОХНАЧОВА, М. П. СУПРОВИЧ, Н. М. ФУРСА, 2017

uneven. With a frequency of more than 4%, 6 alleles are detected: *06, *12, *15, *16, *24 and *jba). Frequency range varies from 43.06 to 4.86%. Allel *16 significantly outperforms others. It manifests itself in more than 43% of cases. The high frequency is represented by allele *12 (9.72%). The distribution of genotypes in gray cattle is studied. Only 35 BoLA-DRB3 genotypes are installed. So, with frequency >5% only 1 genotype *16 / *16 (5.25%) is presented.

Keywords: cows, polymorphism, BoLA-DRB3 gene, gray Ukrainian breed

ООБЕННОСТИ РАСПРОСТРАНЕНИЯ АЛЛЕЛЕЙ ГЕНА BoLA-DRB3 У СЕРОЙ ПОРОДЫ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Т. М. Супрович¹, Н. Б. Мохначева², М. П. Супрович¹, Н. Н. Фурса³

¹Подольский государственный аграрно-технический университет (Каменец-Подольский, Украина)

²Институт разведения и генетики животных имени М.В.Зубца НААН (Чубинское, Украина)

³Институт животноводства степных районов имени М. В. Иванова «Аскания-Нова» НААН (Аскания-Нова, Украина)

Изучено полиморфизм гена BoLA-DRB3 у серой украинской породы крупного рогатого скота методом ПЦР-ПДРФ. У серого скота выявлено 27 BoLA-DRB3.2 аллелей. С 54 известных ПДРФ-аллелей выявлено 22. Также в популяции серого скота встречается 5 аллелей, которые в этот список не входят: jab, *jba, *jbb, *nad, *nda. Аллельный спектр неравномерный. С частотой более 4% встречаются 6 аллелей *06 *12 *15 *16 *24 и *jba). Частотный диапазон изменяется от 43,06 до 4,86%. Аллель *16 значительно превосходит другие. Он проявляется в более 43% случаев. С высокой частотой представлен аллель *12 (9,72%). Изучено распределение генотипов у серого скота. Установлено всего 35 BoLA-DRB3-генотипов. Так, с частотой >5% представлен только 1 генотип *16 / *16 (5,25%).

Ключевые слова: коровы, полиморфизм, ген BoLA-DRB3, серая украинская порода

Вступ. Генетичний моніторинг і збереження генофондів диких і домашніх тварин залишається однією з основних проблем сучасної генетики. При цьому для більшості аборигенних порід немає точних відомостей про стан популяцій цих тварин, їх чисельності, поширення, відсутній опис генотипових і фенотипових характеристик [2]. Вітчизняні аборигенні породи практично не досліджені на молекулярно-генетичному рівні з використанням сучасних ДНК-технологій. Утворився своєрідний інформаційний вакуум, який не дозволяє, з одного боку, в повному обсязі оцінити унікальність породного різноманіття України, а з іншого боку – використати біологічні ресурси місцевих порід для їх ефективного використання в селекційних програмах.

Вивчення генофонду місцевих аборигенних) порід великої рогатої худоби є цікавим в плані оригінальності генетичної структури і виявлення полігенів, що відповідають за високі адаптивні якості тварин. При цьому, на думку експертів Всесвітньої продовольчої організації ООН (FAO), основною перешкодою при розробці програм по збереженню порід тварин є брак інформації щодо генетичної структури популяцій, так як статус ризику, який базується на чисельності поголів'я, не може відобразити всієї картини руйнування генофонду [4].

Сіра українська порода великої рогатої худоби, як представник групи локальних аборигенних порід, є цікавим об'єктом популяційних досліджень у відношенні не лише адаптаційних характеристик, а й генетичних механізмів, що забезпечують фенотипічний прояв тих чи інших ознак продуктивності [3].

Сьогодні методами ПЛР-ПДРФ охарактеризовано понад три десятки світових порід ВРХ. Як тест-система для вивчення генетичної різноманітності сірої української породи ВРХ використано дані про алельний поліморфізм гену BoLA-DRB3 головного комплексу гістосумісності, який бере участь у формуванні імунної відповіді організму на вірусні та бактеріальні інфекції.

Екзон 2 гену BoLA-DRB3 великої рогатої худоби представляє особливий інтерес з двох причин [10]:

- високе функціональне значення гену при формуванні імунної відповіді організму;
- високий рівень поліморфізму.

Метою роботи було вивчення особливостей розподілу алелів і генотипів гену *BoLA-DRB3* у сірої української породи великої рогатої худоби.

Матеріали та методи досліджень. Було досліджено зразки крові ($n = 72$) від корів сірої української породи з господарств ДП ДГ "Маркєєво" (Херсонська обл.) і ДП ДГ «Поливанівка» (Дніпропетровська обл.). Молекулярно-генетичні дослідження проводились на базі лабораторії генетики Інституту розведення і генетики тварин імені М.В.Зубця НААН. Виділення ДНК із цільної крові проводили з використанням стандартного комерційного набору «ДНК-сорб-В» (виробництво АмпліСенс, ЦНП епідеміології МЗ РФ, Росія).

Ампліфікацію фрагменту екзона 2 гену *BoLA-DRB3* проводили в два етапи з використанням праймерів: HLO-30(5'-3':TCCTCTCTCTGCAGCACATTTCC), HLO-31(5'-3':ATTTCGCGCTCACSTCGCCGCT) і HLO-32(5'-3': TCGCCGCTGCACAGTGAAACTTCTC) [5, 6, 13].

Для рестрикційного аналізу продуктів ампліфікації використовували ендонуклеази *RsaI*, *HaeIII* і *BstYI* (*XhoII*) при оптимальних для кожного ферменту умовах. Електрофорез проводили в 6%-ому або 9%-ому поліакриламідному гелі в трисборатному буфері. Візуалізацію виконували на транслюмінаторі в УФ світлі при довжині хвилі 380 нм після забарвлення гелю етидієм бромідом. Розміри отриманих в ПЛР або в результаті рестрикції продуктів виявляли за допомогою маркера молекулярних мас *10_bp_LowRange_Ladder_GeneON*, "Fermentas". Детекцію рестрикційних фрагментів проводили фотографуванням гелів цифровою камерою (рис. 1).

Індекс Шенона-Вінера для кількісної оцінки алельного різноманіття породи розраховується по формулі [13]:

$$H' = - \sum_{i=1}^n (p_i \times \ln p_i)$$

де p_1, p_2, \dots, p_n – частоти алелів.

Результати, отримані в експериментальних дослідженнях, опрацьовували методом популяційно-генетичного і біометричного аналізу з використанням "GENAlex 6", "Statistica" [9].

Результати досліджень. Поліморфність алелів *BoLA-DRB3* еволюційно виникла в зв'язку з необхідністю варіабельної будови клітинного рецептора по відношенню до чужорідних білкових антигенів і має широку географічну і внутріпородну мінливість. Показники варіабельності алелів гену *BoLA-DRB3* у різних порід ВРХ підтверджують високий рівень його поліморфізму. За даними зарубіжних авторів [7] найбільш високу різноманітність спектру алелів гену *BoLA-DRB3* виявлено у калмицької – 36, ярославської – 28 і монгольської худоби – 35 алелів. Середній рівень поширеності алелів знайдено у костромської (23) і зебувидної (22) худоби. Низький рівень генетичної різноманітності за геном *BoLA-DRB3* відмічений у якутської худоби – 14 алелів. Визначено алельний спектр двох вітчизняних популяцій ВРХ. В українській чорно-рябої молочної худоби виявлено 28, а червоно-рябої – 22 алеля [6].

У вибірці із 72 тварин сірої української породи знайдено 22 алеля із 54 описаних за Van Eijk [13] та 5 алелів, які у цей перелік не входять: *jab, *jba, *jbb, *nad, *nda. Із 27 виявлених 13 алелів визначаються з частотою менше 1%. Найбільш інформативними («вагомі») алелі, які визначаються з частотою понад 4%) виявилися 6 алелів *BoLA-DRB3* *16, *12, *06, *jba, *15 і *24 (табл. 1).

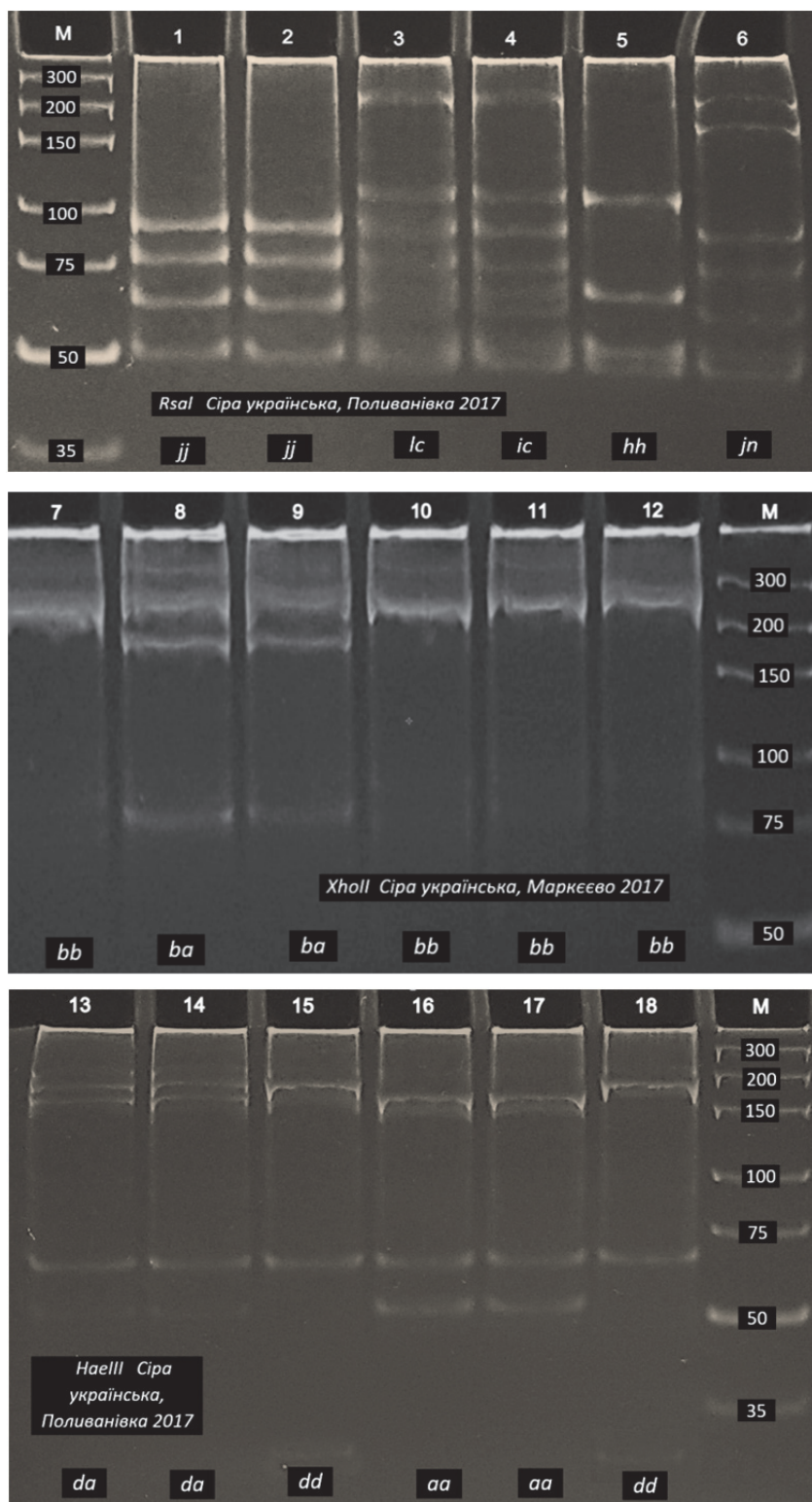


Рис. 1. Електрофореграми продуктів ампліфікації екзона 2 гену VoLA-DRB3, отриманих на ДНК корів сірої української породи при допомозі різних ендонуклеаз: М – маркер молекулярної маси, 1,2,3,4...18 – порядковий номер досліджених тварин. Для оцінки довжин фрагментів використано маркер молекулярних мас 10_bp_LowRange_Ladder_GeneON, “Fermentas”, Литва. Знизу вказані варіанти ДНК-патернів

1. Частоти виявлення алелів *BoLA-DRB3.2* корів сірої української породи

Алелі	Частота виявлення, %	Алелі	Частота виявлення, %	Алелі	Частота виявлення, %
*01	0,69	*20	2,08	*43	0,69
*04	1,39	*22	1,39	*44	0,69
*06	6,25	*23	2,78	*53	1,39
*12	9,72	*24	4,86	*54	0,69
*13	0,69	*30	0,69	*jab	0,69
*14	2,78	*32	0,69	*jba	6,25
*15	4,86	*34	0,69	*jbb	2,08
*16	43,06	*36	2,08	*nad	0,69
*17	0,69	*39	0,69	*nda	0,69

Спектр алелів та профіль їх частот неоднаковий для різних порід, що пов'язано з особливостями їх походження та розвитку. Для більшості вивчених раніше світових порід великої рогатої худоби характерна подібна картина. Як правило, основну частину загальної алельної різноманітності складають від двох-трьох (35–43%) до п'яти-шести алелів (68–74%) [7]. Наприклад, переважання шести алелів виявлено у костромської худоби (*01, *08, *10, *11, *28, *36, в сумі 73,7%), яка також відноситься до аборигенних. Домінування по частотах для шести алелів також виявлено у джерсейської породи ВРХ (*08, *10, *15, *21, *36, *ibe, в сумі 74%) [9], у зебувидної худоби Канкрей (*34, *15, *06, *20, *37, *20, в сумі 71%) [8], в одній з ліній іранської голштинської худоби (*08, *11, *16, *22, *23, *24, в сумі 69,7%) [11], у японської шортгорнської породи (*08, *09, *21, *27, *07, *24, в сумі 70%) [12].

Особливістю досліджуваної вибірки є висока частота алелю *BoLA-DRB3.2* *16. Значне переважання одного-двох алелів над іншими зустрічається саме в аборигенних породах. Так у якутської худоби домінуючим є алель *29, який виявляється з частотою 42,9%, а у костромської породи – *10, частка якого складає 22,5% [7].

Сумарна частота «вагомих» алелів *BoLA-DRB3.2* *16, *12, *06, *jba, *15 і *24 акумулює 75% алелофонду сірої української породи, що свідчить про її низьку генетичну різноманітність (рис. 2). Невисокий рівень алельного різноманіття дослідженої породи за локусом *BoLA-DRB3* зумовлений інбредною депресією, яка виникає у випадку тривалої ізоляції популяції та її низькою чисельністю.

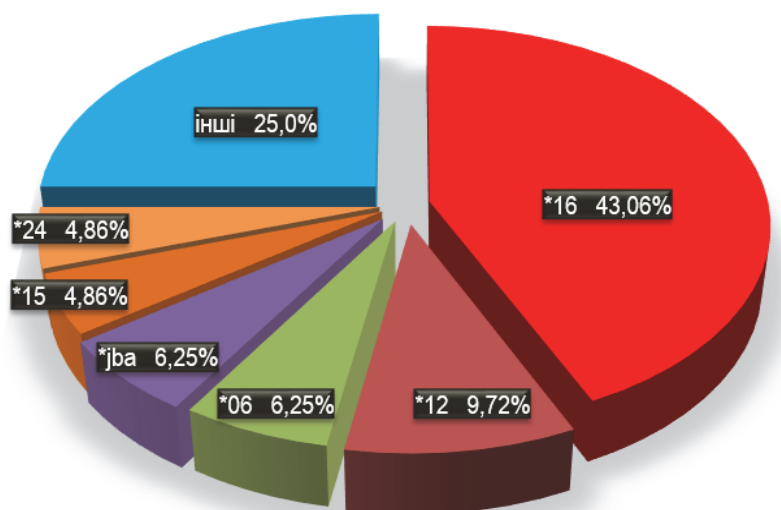


Рис. 2. Алельний спектр гену *BoLA-DRB3.2* сірої української породи

Щоб кількісно відобразити алельний поліморфізм сірої худоби ми застосували індекс Шенона-Вінера (H'). Значення індексу майже не перевищує 4,5 і не опускається нище 1,5. Чим вище значення індексу, тим більш складно організована досліджувана система. За кількістю алелів сірої української породи та частотою їх прояву по формулі розраховано значення H' . Найвищі значення індексу (3,77 і 3,4) зафіксовані для червоно-рябої та голштинської порід ВРХ, найнижче – для якутської породи (1,74), у якої характерний мінімум числа алелів (14) [7]. Для сірої української породи великої рогатої худоби індекс Шенона-Вінера становить 3,26.

У даний час за допомогою полімеразної ланцюгової реакції виявлено 54 алеля, на основі яких базується визначення генотипів тварин. Як правило, високий рівень алельної різноманітності гена *BoLA-DRB3* зумовлює широкий діапазон можливих генотипів. Найбільша кількість генотипів спостерігається у чорно-рябої та ярославської худоби (по 72 варіанти), найменша – у якутської (18 варіантів) [7]. У сірої української породи встановлено всього 35 *BoLA-DRB3*-генотипів (табл. 2). У даній породи важко виділити переважаючий генотип. Так, з частотою >5% представлений тільки 1 генотип *16/*16 (5,25%).

2. Частота переважаючих *BoLA-DRB3*-генотипів у сірої української породи

Порода	Число генотипів	Число генотипів >5%	Переважаючі генотипи	Число генотипів <5%	Загальна частота генотипів $c < 5\%$
Сіра українська порода	35	1	*16/*16 (5,25%)	34	94,75%

Подібна картина спостерігалась і у монгольської великої рогатої худоби. Там при загальній кількості в 56 генотипів, з частотою >5% також був представлений тільки 1 генотип – *07/*07 (5,6%) [7].

Висновки. Таким чином, нами отримані дані про частоту виявлення гену *BoLA-DRB3* в популяції сірої української породи ВРХ:

1. Із 54 типів знайдено 22, які входять у перелік за Van Eijk M. J. та 5 типів, які у цей перелік не входять: *jab, *jba, *jbb, *nad, *nda.

2. Алельний спектр нерівномірний. З частотою понад 4% виявляються 6 алелів: *06, *12, *15, *16, *24 і *jba). Частотний діапазон змінюється від 43,06 до 4,86%.

3. Алель *16 значно переважає інші. Він проявляється у більш як 43% випадків. З високою частотою представлений алель *12 (9,72%).

4. Вивчено розподіл генотипів у сірої худоби. Встановлено всього 35 *BoLA-DRB3*-генотипів.

5. Так, з частотою >5% представлений тільки 1 генотип *16/*16 (5,25%).

БІБЛІОГРАФІЯ

1. Алимов, А. Ф. Элементы теории функционирования водных экосистем / А. Ф. Алимов. – СПб. : Наука, 2000. – 147 с. – ISBN: 5-02-026145-9.

2. Генофонды сельскохозяйственных животных: генетические ресурсы животноводства / отв. ред. И. А. Захаров; ин-т общ. генетики им. Н.И.Вавилова РАН. – М. : Наука, 2006. – 462 с.

3. Молекулярно-генетичні та біотехнологічні дослідження в галузі тваринництва / Б. Є. Подоба, К. В. Копилов, С. І. Ковтун, К. В. Копилова, Ю. В. Подоба, М. Л. Добрянська; за наук. ред. акад. М. В. Зубця. – К. : Аграр. наука, 2013. – 248 с.

4. Сулимова, Г. Е. ДНК-маркеры в изучении генофонда пород крупного рогатого скота / Г. Сулимова // Генофонды сельскохозяйственных животных: генетические ресурсы животноводства. – М. : Наука, 2006. – С. 138–166.

5. ДНК-поллиморфизм гена *BoLA-DRB3* у крупного рогатого скота в связи с устойчивос-

тью и восприимчивостью к лейкозу / Г. Е. Сулимова, И. Г. Удина, Г. О. Шайхаев, И. А. Захаров // Генетика. – 1995. – Т. 31. – № 9. – С. 1294–1299.

6. Супрович, Т. М. Поліморфізм алелів гена BoLA-DRB3 на прикладі українських чорно-рябої та червоно-рябої молочних порід / Т. М. Супрович // Наук. вісн. НУБіП. – К. : 2013. – Вип. 188. – Ч. 4. – С. 144–152.

7. Поліморфізм гена BoLA-DRB3 у крупного рогатого скота монгольської, калмыцької и якутської порід / Т. А. Штыфурко, М. Р. Мохаммад Абади, О. Б. Генджиева, Цэндсурен Цецев, Г. Е. Сулимова // Генетика. – 2010. – Т. 46. – № 4. – С. 517–525.

8. Behl, J. D. Characterization of genetic polymorphism of the bovine lymphocyte antigen DRB3.2 locus in Kankrej cattle (*Bos indicus*) / J. D. Behl, N. K. Verma, R. Behl // J. Dairy Sci. – 2007. – V. 90. – № 6. – P. 2997–3001.

9. Analysis and frequency of bovine lymphocyte antigen DRB3.2 alleles in Jersey cows / V. E. Gilliespie, B. M. Jayarao, H. H. Dowlen, S. P. Oliver // J. Dairy Sci. – 1999. – V. 82. – P. 2049–2053.

10. Harris, A. L. Comparative organization and function of the major histocompatibility complex of domesticated cattle / A. L. Harris, C. R. George, L. G. Elizabeth // Immun. Rev. – 1999. – V. 167. – P. 145–158.

11. PCR based RFLP genotyping of bovine lymphocyte antigen DRB3.2 in Iranian Holstein population / M. Pashmi, S. Qanbari, S. A. Ghorashi, A. Salehi // Pak. J. Biol. Sci. – 2007. – V. 10. – № 3. – P. 383–387.

12. Characterization of DRB3 alleles in the MHC of Japanese Shorthorn Cattle by polymerase chain reaction-sequence-based typing / S. Takeshima, Y. Nakai, M. Ohta, Y. Aida // J. Dairy Sci. – 2002. – V. 85. – P. 1630–1632.

13. Van Eijk, M. J. Extensive Polymorphism of the BoLA-DRB3 Gene Distinguished by PCR-RFLP / M. J. Van Eijk, J. A. Stewart-Haynes, J. E. Beever // Animal Genetics. – 1992. – V. 23 (6). – P. 483–496.

REFERENCES

1. Alimov, A. F. 2000. *Elementi teorii funkcionirovanija vodnih ekosistem – Elements of the theory of functioning of aquatic ecosystems*. Nauka, 147 (in Russian).

2. Zakharov, I. A. 2006. *Genofondy sel'skokhozyaystvennykh zhivotnykh: geneticheskie resursy zhivotnovodstva – Gene pools farm animal: animal genetic resources*. Moscow, Nauka, 462 (in Russian).

3. Podoba, B. Ye., K. V. Kopylov, S. I. Kovtun, K. V. Kopylova, Yu. V. Podoba, and M. L. Dobryans'ka. 2013. *Molekulyarno-henetychni ta biotekhnologichni doslidzhennya v haluzi tvarynnytstva – Molecular genetic and biotechnology research in livestock*. Kyiv, Ahrarna nauka, 248 (in Ukrainian).

4. Sulimova, G. E. 2006. DNK-markery v izuchenii genofonda porod krupnogo rogatogo skota – DNA markers in the study of gene pool of cattle breeds. *Genofondy sel'skokhozyaystvennykh zhivotnykh: geneticheskie resursy zhivotnovodstva – Genofunds of farm animals: genetic resources of livestock*. M., Nauka, 138–166 (in Russian).

5. Sulimova, G. E., I. G. Udina, G. O. Shaihaev, and I. A. Zaharov. 1995. DNK-polimorfizm gena BoLA-DRB3 v krupnogo rogatogo skota v svyazi s ustoichevost'yu i vospreamchevost'yu k leikozu – DNA polymorphism of the BoLA-DRB3 gene in cattle due to resistance and susceptibility to leukemia. *Genetika – Genetics*. 31(9):1294–1299 (in Russian).

6. Suprovich, T. M. 2013. Polimorfizm aleliv gena BoLA-DRB3 na prikladi ukrains'kih chorno-ryaboi ta chervono-ryaboi molochnih porid – Polymorphism of alleles of the gene BoLA-DRB3 on the application of the Ukrainian black-and-white and red-and white dairy breeds. *Naukovij visnik NUBiP – Science Bulletin of the NUBiP*. Kyiv. 188(4):144–152 (in Ukrainian).

7. Ruzina, M. N., T. A. Stifurko, M. P. Mohammad Abadi, O. B. Gendgieva, Censuren Cedev, and G. E. Sulimova. 2010. Polimorfizm gena BoLA-DRB3 v krupnogo rogatogo skota

mongo`lskoj, kalmickoj i yakutskoj porod – Polymorphism of the BoLA-DRB3 gene in cattle of Mongolian, Kalmyk and Yakut breeds. *Genetika – Genetics*. 46(4):517–525 (in Russian).

8. Behl, J. D., N. K. Verma, and R. Behl. 2007. Characterization of genetic polymorphism of the bovine lymphocyte antigen *DRB3.2* locus in Kankrej cattle (*Bos indicus*). *J. Dairy Sci.* 90(6):2997–3001.

9. Gilliespie, B. E., B. M. Jayarao, H. H. Dowlen, and S. P. Oliver. 1999. Analysis and frequency of bovine lymphocyte antigen *DRB3.2* alleles in Jersey cows. *J. Dairy Sci.* 82:2049–2053.

10. Harris, A. L., C. R. George, and L. G. Elizabeth. 1999. Comparative organization and function of the major histocompatibility complex of domesticated cattle. *Immun. Rev.* 167:145–158.

11. Pashmi, M., S. Qanbari, S. A. Ghorashi, and A. Salehi. 2007. PCR based RFLP genotyping of bovine lymphocyte antigen *DRB3.2* in Iranian Holstein population. *Pak. J. Biol. Sci.* 10(3):383–387.

12. Takeshima, S., Y. Nakai, M. Ohta, and Y. Aida. 2002. Characterization of *DRB3* alleles in the MHC of Japanese Shorthorn Cattle by polymerase chain reaction-sequence-based typing. *J. Dairy Sci.* 85:1630–1632.

13. Van Eijk M. J. T., J. A. Stewart-Haynes, and H. A. Lewin 1992. Extensive polymorphism of the BoLA-*DRB3* Gene Distin guished by PCR-RFLP. *Anim. Genet.* 23:483–496.

