

بررسی حساسیت ژنتیکی گاوهای بومی و هلشتاین ایران به جنون گاوی

صابر محمد مقصودی^۱، سیدرضا میرائی آشتیانی^{۲*}، حسن مهربانی یگانه^۳ و محمدحسین بنابازی^۴
۱. ۳. ۲. دانش آموخته کارشناسی ارشد، استاد و استادیار، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران،
۴. استادیار، مؤسسه تحقیقات علوم دامی ایران
(تاریخ دریافت: ۸۹/۱۰/۱۵ - تاریخ تصویب: ۹۰/۵/۱۲)

چکیده

در مطالعات سال‌های اخیر، ارتباط بین چندشکلی ناحیه پروموتور (حذف و درج ۲۳ جفت بازی) و اینترون ۱ (حذف و درج ۱۲ جفت بازی) ژن PRNP (ژن کدکننده پروتئین پریون) و حساسیت به جنون گاوی اثبات شده است. درج این جایگاه‌ها مقاومت به جنون گاوی کلاسیک را در گاوها افزایش می‌دهد، در حالی که حذف این جایگاه‌ها باعث حساسیت بیشتر به جنون گاوی می‌شود. در این مطالعه فراوانی‌های آللی، ژنوتیپی، و هاپلوتیپی چندشکلی‌های ناحیه پروموتور و ناحیه اینترون ۱ ژن PRNP در ۳ نژاد هلشتاین ایران (n=۵۰)، گلپایگانی (n=۶۲)، و سیستانی (n=۶۰) برآورد شد. استحصال DNA به روش استخراج نمکی تغییرشکل یافته انجام شد. ژن‌های مورد نظر با استفاده از پرایمرهای اختصاصی تکثیر، و جایگاه‌های ذکر شده روی ژل پلی‌آکریل‌امید تعیین ژنوتیپ شدند. داده‌های آللی به روش دقیق فیشر و داده‌های ژنوتیپی و هاپلوتیپی به روش مربع کای آزمون شدند. نتایج این تحقیق نشان داد هر ۳ نژاد برای هر کدام از جایگاه‌ها به صورت مستقل در تعادل هاردی-واینبرگ بودند. فراوانی‌های آللی و ژنوتیپی هاپلوتیپی پلی‌مورفیسم حذف و درج ۱۲ جفت بازی و ۲۳ جفت بازی بین نژادهای مطالعه شده و گاوهای سالم و مبتلای آلمانی مقایسه شد. براساس یافته‌های این تحقیق این نتیجه حاصل شد که گاوهای گلپایگانی، از گاوهای سالم و مبتلای آلمانی مقاومت بیشتری در برابر جنون گاوی دارند.

کلیدواژگان: پلی‌مورفیسم، جنون گاوی، سیستانی، گلپایگانی، مقاومت ژنتیکی، PRNP.

مقدمه

شمالی و آهوی کوهی، بیماری انسفالوپاتی قابل انتقال راسوها^۵ در راسو، بیماری انسفالوپاتی اسفنجی‌شکل گربه‌سانان در گربه، بیماری‌های کورو^۶، GSS^۷، بی‌خوابی خانوادگی کشنده^۸، و کرویتزفلدژاکوب^۹ در انسان می‌شود (Jeong *et al.*, 2006). ژن PRNP در کروموزوم شماره ۱۳ گاو و گوسفند قرار دارد (Ryan & Womack, 1993). حساسیت به بیماری‌های ناشی از پروتئین پریون توسط عوامل ژنتیکی اولین بار در گوسفند کشف شد. چندین جهش در ناحیه ژن PRNP که رمزکننده

جنون گاوی نوعی بیماری تحلیل‌برنده سیستم عصبی^۱ و کشنده در گاو است. این بیماری از دسته بیماری‌های انسفالوپاتی اسفنجی شکل واگیردار^۲ (TSE) است که به آنها بیماری‌های پریونی نیز می‌گویند (Buchmann *et al.*, 2006). بیماری جنون گاوی در نتیجه تجمع پروتئین پریون غیر طبیعی مقاوم به پروتئاز در مغز به وجود می‌آید. پریون‌ها باعث بیماری اسکرپی^۳ در گوسفند و بز، بیماری تحلیل‌برنده مزمن^۴ در گوزن

باعث کاهش حساسیت و حذف این دو جایگاه باعث افزایش حساسیت گاوها به جنون گاوی می‌شود

تکثیر ژن‌ها

تکثیر ژن‌های مورد نظر با استفاده از پرایمرهای اختصاصی تکثیر جایگاه‌های حذف و درج ۱۲ و ۲۳ جفت بازی ژن PRNP با روش واکنش زنجیره‌ای پلیمرز و به کمک پرایمرهای توصیف‌شده توسط Sander *et al.*, (2004) انجام شد. حجم نهایی واکنش PCR ۲۵ میکرولیتر بود که در آن ۲۵ پیکومول از هر پرایمر (Metabion)، ۱ واحد آنزیم Taq پلیمرز (GenNet Bio)، ۰/۵ dNTPs، ۰/۵ میکرومولار (GenNet Bio)، و ۱/۵ میلی‌مولار (GenNet Bio) MgCl₂، ۲/۵ میکرولیتر بافر PCR (10×) (GenNet Bio)، ۵۰ تا ۱۰۰ نانوگرم DNA استفاده شده بود. سیکل دمایی استفاده‌شده شامل دمایی ۹۴ درجه سانتیگراد برای ۵ دقیقه، ۳۵ سیکل ۹۴ درجه برای ۱ دقیقه، ۵۴ درجه سانتیگراد برای ۱ دقیقه، ۷۲ درجه سانتیگراد برای ۲ دقیقه، و ۷۲ درجه سانتیگراد برای ۵ دقیقه بود. در این تحقیق نمونه‌های حاصل از PCR روی ژل عمودی اکرلامید ۸ درصد الکتروفورز شدند. پس از اتمام الکتروفورز روی ژل برحسب اینکه حالت حذف یا درج باشد، برای جایگاه ۲۳ جفت بازی به ترتیب قطعات ۱۲۳ و ۱۰۰ جفت بازی و برای جایگاه ۱۲ جفت بازی قطعات ۹۱ و ۱۰۳ جفت بازی وجود خواهد داشت.

تجزیه آماری

برای تجزیه آماری یافته‌های این تحقیق نرم‌افزار SAS 9.1 (SAS Institute, Cary, USA) استفاده شد. برای مقایسه فراوانی‌های آلی بین جمعیت‌های گوناگون آزمون دقیق فیشر^۴ و برای مقایسه فراوانی‌های ژنوتیپی و هاپلوتیپی بین ۲ جمعیت آزمون مربع کای (X²) به کار گرفته شدند.

برای مقایسه با توجه به اینکه در ایران نمونه مبتلا به جنون گاوی گزارش نشده است و فراوانی‌های آلی ژنوتیپی و هاپلوتیپی نمونه‌های مبتلا در ایران در

پروتئین پرینون نرمال است، حساسیت گوسفند را به اسکرپی تنظیم می‌کنند. گوسفندانی که والین در کدون ۱۳۶ و گلوتامین در کدون ۱۷۱ (V136, Q171) دارند، به اسکرپی حساسند. در حالی که گوسفندانی که دارای آلانین و آرژنین در کدون‌های مشابه (A136, R171) هستند، به این بیماری مقاومند (Bossers *et al.*, 1996). در انسان نیز نشان داده شده است که چندشکلی در ژن PRNP حساسیت به بیماری‌های پرینی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. مثلاً، پلی‌مورفیسم در کدون ۱۲۹ این ژن به شدت با بیماری کورو و بیماری کروتزفلدژاکوب در انسان همبستگی دارد. تمامی بیماران مبتلا به کروتزفلدژاکوب برای وجود متیونین در کدون ۱۲۹ هموزیگوت هستند، و هتروزیگوت‌ها در کدون مشابه به کورو مقاوم هستند (Peden *et al.*, 2004; Mead *et al.*, 2003). برای اولین بار ساندر و همکاران (۲۰۰۴) در مطالعه‌ای که روی پلی‌مورفیسم حذف و درج (indel) ۱۲ و ۲۳ جفت بازی انجام دادند، اعلام کردند که این دو جایگاه روی حساسیت گاوها به جنون گاوی مؤثر است. در مطالعه آنها با بررسی فراوانی‌های آلی مشخص شد که حذف ۲ آلل ۱۲ و ۲۳ جفت بازی در گاوهای مبتلا به جنون گاوی (n=43) به طور معنی‌دار (P<0.05) بیشتر از حیوانات سالم (n=48) از ۶ توده متفاوت از گاوهای آلمانی بوده است. تحقیقات نشان داد عملکرد ژن PRNP گاو تحت تأثیر نوع چندشکلی‌های واقع در اینترون ۱ (حذف و درج ۱۲ جفت بازی) و ناحیه بالای اگزون ۱ (حذف و درج ۲۳ جفت بازی) است. پلی‌مورفیسم حذف و درج ۱۲ جفت بازی شامل محل اتصال فاکتور ترجمه SPI^۲ (ناحیه +۳۰۰) و پلی‌مورفیسم حذف و درج ۲۳ جفت بازی شامل محل اتصال RP58 (پروتئین مانع‌شونده^۳ ۵۸، ناحیه -۱۵۹۴) است (Sander *et al.*, 2005). درج این دو پلی‌مورفیسم باعث کاهش میزان بیان ژن PRNP و حذف آنها باعث افزایش میزان بیان این ژن می‌شود (Sander *et al.*, 2005; Kashkevich *et al.*, 2007). درج این دو جایگاه

1. Upstream
2. Specific Protein 1
3. Repressor Protein 58

دسترس نیست، نتایج این مطالعه با یافته‌های Sander *et al.* (2004) در مورد گاوهای سالم و مبتلای آلمانی مقایسه شد.

جدول ۱. توالی پرایمرهای استفاده شده

توالی مطالعه شده	توالی پرایمر
23-bp	F: 5'-GTGCCAGCCATGTAAGTG-3' R: 5'-TGGACAGGCACAATGGG-3'
12-bp	F: 5'-TTACCCTCCTGGTTAGGAG-3' R: 5'-CTAGATTCCTACACACCAC-3'

درج این جایگاه را به ترتیب ۰/۱۸۸ و ۰/۱۲ (Brunelle *et al.*, 2008) داشتند که بسیار مشابه فراوانی‌های ۰/۸۲ و ۰/۱۸ است که در این مطالعه برای گاوهای سیستانی به دست آمده بود. فراوانی حذف و درج جایگاه ۲۳ جفت بازی در گاوهای هلشتاین ایران ۰/۶۳ و ۰/۳۷ مطابق با مطالعات Brunelle *et al.* (2008) روی گاوهای هلشتاین که به ترتیب فراوانی ۰/۶۲ و ۰/۳۸ را گزارش کرده‌اند، است. با توجه به مطالعه Sander *et al.* (2004) که نشان دادند حذف و درج جایگاه ۲۳ جفت بازی در ناحیه پروموتور در سطح آلل، ژنوتیپی، و هاپلوتیپی در بین دام‌های سالم و مبتلا اختلاف معنی‌داری داشتند و با توجه به نتایج ذکر شده در جدول ۱، می‌توان نتیجه‌گیری کرد که در جایگاه آلل ۲۳ جفت بازی به دلیل اینکه فراوانی درج این آلل به طور معنی‌داری در گاوهای سیستانی کمتر از گاوهای سالم و مبتلای آلمانی بود، بنابراین بر مبنای مطالعات Sander *et al.* (2004) گاوهای سیستانی در مقایسه با گاوهای سالم و مبتلای آلمانی احتمالاً به جنون گاوی حساس‌تر هستند.

نتایج و بحث

فراوانی‌های آللی جایگاه ۲۳ جفت بازی

مقایسه فراوانی‌های آللی برای جایگاه ۲۳ جفت بازی (درج با اندازه باند ۱۲۳ جفت بازی و حذف با اندازه باند ۱۰۰ جفت بازی) به روش آزمون دقیق فیشر در جدول ۲ آورده شده است. این نتایج نشان داد که فراوانی حذف و درج ۲۳ جفت بازی در نژاد هلشتاین ایران با نژاد گلپایگانی و گاوهای سالم و مبتلا به جنون گاوی آلمانی (Sander *et al.*, 2004) تفاوت معنی‌داری ندارد. فراوانی درج این جایگاه در نژاد گلپایگانی با گاوهای سالم و مبتلا به جنون گاوی آلمانی تفاوت معنی‌داری نشان نداد، در حالی که نژاد سیستانی از گاوهای سالم آلمانی به طور معنی‌داری ($P=1/4*10^{-4}$) فراوانی درج آلل ۲۳ جفت بازی کمتری داشت. به رغم اینکه گاوهای سیستانی و گلپایگانی از نژاد گاوهای *Bos indicus* به حساب می‌آیند (Nassiry *et al.* 2008)، ولی وضعیت آنها در این نتیجه به گاوهای *bos taurus* شباهت بیشتری دارد. در مطالعه‌ای که روی جایگاه ۲۳ جفت بازی در گاوهای *Bos indicus* انجام شد، فراوانی حذف و

جدول ۲. مقایسه فراوانی آللی در جایگاه ۲۳ جفت بازی در بین نژادها

P-value	فراوانی‌ها آللی			
	هلشتاین مبتلا آلمانی	هلشتاین سالم آلمانی	حذف	درج
۰/۱۵۷۸	۰/۴۶۳۴	۰/۶۳	۰/۳۷	۱۰۰
۰/۶۴۴۹	۰/۰۶۴۴	۰/۷۰	۰/۳۰	۱۲۴
۰/۱۷۲۷	$1/4*10^{-4}$	۰/۸۲	۰/۱۸	۱۲۰
-----	۰/۰۲۹۶	۰/۷۳	۰/۲۷	۸۶
-----	-----	۰/۵۷	۰/۴۳	۹۶

1.(Sander *et al.*, 2004)

فراوانی‌های آللی جایگاه ۱۲ جفت بازی (Sander *et al.*, 2004) مورد آزمون قرار گرفت که نتایج آن در جدول ۳ ارائه شده است. درج آلل ۱۲ جفت بازی در نژاد هلشتاین ایران اختلاف معنی‌داری با گاوهای

فراوانی‌های آللی جایگاه ۱۲ جفت بازی

فراوانی آللی جایگاه ۱۲ جفت بازی نیز با روش آزمون دقیق فیشر بین نژادهای ایرانی و گاوهای آلمانی

روی *Bos indicus* انجام دادند، تفاوت معنی داری نداشت که نشان دهنده شباهت فراوانی جایگاه ۱۲ جفت بازی در توده مورد تحقیق آنها و نژاد گلپایگانی است. مطالعات Sander *et al.* (2004) نشان داد که فراوانی آلی جایگاه ۱۲ جفت بازی روی اولین اینترون ژن پروتئین پریون اختلاف معنی داری بین گروه شاهد و گروه گاوهای مبتلای آلمانی دارد. از این مطالعات می توان نتیجه گرفت که هر ۳ نژاد مطالعه شده از نظر جایگاه ۱۲ جفت بازی دارای مقاومت نسبی به بیماری جنون گاوی هستند و نژاد گلپایگانی در این مطالعه بیشترین میزان مقاومت را نشان داده است. Juling *et al.* (2006) نیز اثر اصلی مقاومت به جنون گاوی را برای جایگاه ۱۲ جفت بازی گزارش کرده اند.

سالم آلمانی نشان نداد، در حالی که درج این جایگاه در گاوهای هلشتاین ایران به طور معنی داری ($P=0/0054$) بیشتر از گاوهای مبتلای آلمانی بود. نژادهای بومی گلپایگانی و سیستانی از نظر فراوانی حذف و درج آلی ۱۲ جفت بازی اختلاف معنی داری را با گاوهای مبتلا به جنون گاوی نشان دادند و هر ۲ نژاد به طور معنی داری فراوانی درج ۱۲ جفت بازی بیشتری در مقایسه با گاوهای هلشتاین مبتلا به جنون گاوی و گاوهای سالم آلمانی بودند. فراوانی حذف و درج آلی ۱۲ جفت بازی در گاوهای سیستانی با فراوانی های آلی به دست آمده برای *Bos indicus* که در مطالعات Brunelle *et al.* (2008) به دست آمده، تطبیق می کند. فراوانی آلی حذف و درج ۱۲ جفت بازی در نژاد گلپایگانی نیز با مطالعاتی که Brunelle *et al.* (2008)

جدول ۳. مقایسه فراوانی آلی جایگاه ۱۲ جفت بازی در بین نژادها

P-value		فراوانی های آلی		تعداد	نژاد
هلشتاین مبتلا آلمانی	هلشتاین سالم آلمانی	حذف	درج		
0/0054	0/6712	0/48	0/52	100	هلشتاین ایران
1/9*10 ⁻²⁷	6/6*10 ⁻¹⁶	0/05	0/95	124	گلپایگانی
3*10 ⁻²⁰	4/1*10 ⁻¹⁰	0/13	0/87	120	سیستانی
-----	0/3344	0/67	0/33	86	گاوهای مبتلای آلمانی ^۱
-----	-----	0/51	0/49	96	هلشتاین های سالم آلمانی ^۱

1.(Sander *et al.*, 2004)

(2004) از نظر ژنوتیپ این جایگاه با هیچ یک از ۳ نژاد مطالعه شده اختلاف معنی داری ندارد. مقایسه این سه ژنوتیپ با گاوهای سالم آلمانی نیز اختلاف معنی داری را به جز درباره گاوهای سیستانی نشان نداد.

در بین نژادها، نژاد سیستانی به طور معنی داری فراوانی ژنوتیپ درج درج جایگاه ۲۳ جفت بازی کمتری (با احتمال خطای کمتر از ۱ درصد) در مقایسه با گاوهای مبتلای آلمانی داشت. گاوهای هلشتاین فراوانی نسبی درج درج ۲۳ جفت بازی بالاتری نیز در مقایسه با گاوهای بومی داشتند.

فراوانی های ژنوتیپی حذف و درج جایگاه ۲۳ جفت بازی

هر سه نژاد مطالعه شده از نظر جایگاه ۲۳ جفت بازی، بین فراوانی مورد انتظار و فراوانی مشاهده شده، تفاوت

جدول ۴ فراوانی های آلی برآورد شده در مطالعات گوناگون را نشان می دهد. نتیجه شایان توجه در این جدول این است که درج در جایگاه ۱۲ جفت بازی با فراوانی 0/95 که در مطالعه حاضر برای گاو گلپایگانی به دست آمده است، بیشترین نسبت مشاهده شده برای این آلی است.

فراوانی های ژنوتیپی حذف و درج جایگاه ۲۳ جفت بازی

هر سه نژاد مطالعه شده از نظر جایگاه ۲۳ جفت بازی، بین فراوانی مورد انتظار و فراوانی مشاهده شده، تفاوت معنی داری نشان ندادند و هر سه نژاد در تعادل هاردی-واینبرگ بودند. مقایسه فراوانی های ژنوتیپی حذف و درج جایگاه ۲۳ جفت بازی (جدول ۵) نشان داد که هلشتاین های مبتلا به جنون گاوی (Sander *et al.*,

نژادها نژاد سیستمی به‌طور معنی‌داری فراوانی ژنوتیپ درج‌درج جایگاه ۲۳ جفت بازی کمتری (با احتمال خطای کمتر از ۱ درصد) در مقایسه با گاوهای مبتلای آلمانی داشت. گاوهای هلشتاین فراوانی نسبی درج‌درج ۲۳ جفت بازی بالاتری نیز در مقایسه با گاوهای بومی داشتند.

معنی‌داری نشان ندادند و هر سه نژاد در تعادل هاردی - واینبرگ بودند. مقایسه فراوانی‌های ژنوتیپی حذف و درج جایگاه ۲۳ جفت بازی (جدول ۵) نشان داد که هلشتاین‌های مبتلا به جنون گاوی (Sander *et al.*, 2004) از نظر ژنوتیپ این جایگاه با هیچ‌یک از ۳ نژاد مطالعه‌شده اختلاف معنی‌داری ندارند. مقایسه این سه ژنوتیپ با گاوهای سالم آلمانی نیز اختلاف معنی‌داری را به‌جز در زمینه گاوهای سیستمی نشان نداد. در بین

جدول ۴. مقایسه فراوانی آلی حذف و درج ۱۲ و ۲۳ جفت بازی در نژادهای متفاوت براساس مطالعات گوناگون

منبع	درج ۱۲ جفت بازی	حذف ۱۲ جفت بازی	درج ۲۳ جفت بازی	حذف ۲۳ جفت بازی	نژاد
Sander et al., 2004	۰/۴۹	۰/۵۱	۰/۴۳	۰/۵۷	گاوهای آلمانی
Juling et al., 2006	۰/۴۷	۰/۵۳	۰/۳۸	۰/۶۲	هلشتاین آلمانی
Juling et al., 2006	۰/۸۶	۰/۱۴	۰/۶۵	۰/۳۵	قهوه‌ای آلمانی
Juling et al., 2006	۰/۳۸	۰/۶۲	۰/۳۲	۰/۶۸	فلکوپه ^۱
Nakamitsu et al., 2006	۰/۲۶	۰/۷۴	۰/۲۱	۰/۷۹	هلشتاین ژاپنی
Nakamitsu et al., 2006	۰/۴۳	۰/۵۷	۰/۴۱	۰/۵۹	قهوه‌ای ژاپنی
Jeong et al., 2006	۰/۴۴	۰/۵۶	۰/۴۰	۰/۶۰	هانووی کره‌ای ^۲
Jeong et al., 2006	۰/۳۹	۰/۶۱	۰/۷۰	۰/۳۰	هلشتاین کره‌ای
Czarnik et al., 2007	۰/۴۶	۰/۵۴	۰/۳۷	۰/۶۳	هلشتاین-فریزین لهستانی
Kerber et al., 2007	۰/۴۴	۰/۵۶	۰/۲۷	۰/۷۳	آبردین آنگوس ^۳
Kerber et al., 2007	۰/۴۲	۰/۵۸	۰/۳۲	۰/۶۸	شاروله ^۴
Kerber et al., 2007	۰/۶۷	۰/۳۳	۰/۳۶	۰/۶۴	فرانکوور ^۵
Kashkevich et al., 2007	۰/۸۴	۰/۱۶	۰/۶۰	۰/۴۰	براونویه ^۶
Ün et al., 2008	۰/۸۰	۰/۲۰	۰/۶۲	۰/۳۸	خاکستری ترکیه ^۷
Ün et al., 2008	۰/۶۹	۰/۳۱	۰/۳۶	۰/۶۴	قرمز جنوب آنتالیا ^۸
Ün et al., 2008	۰/۷۲	۰/۲۸	۰/۴۰	۰/۶۰	قرمز شرق آنتالیا ^۹
Kim et al., 2009	۰/۴۴	۰/۵۶	۰/۴۴	۰/۵۶	گاوهای کره‌ای
Shimogiri et al., 2010	۰/۹۳	۰/۰۷	۰/۰۰	۱/۰۰	شورت هورن ژاپنی
Shimogiri et al., 2010	۰/۷۷	۰/۲۳	۰/۸۲	۰/۱۸	مایتون ^{۱۰}
Maghsoodi et al., 2011	۰/۵۲	۰/۴۸	۰/۳۷	۰/۶۳	هلشتاین ایران
Maghsoodi et al., 2011	۰/۸۷	۰/۱۳	۰/۱۸	۰/۸۲	سیستانی
Maghsoodi et al., 2011	۰/۹۵	۰/۰۵	۰/۳	۰/۹۷	گلپایگانی

1. Fleckvieh, 2. Korean Hanwoo, 3. Aberdeen Angus, 4. Charolais, 5. Franqueiro, 6. Braunvieh, 7. Turkish Gray, 8. South Anatolian Red, 9. East Anatolian Red, 10. Mythun (*Bos frontalis*),

جدول ۵. مقایسه فراوانی ژنوتیپی جایگاه ۲۳ جفت بازی در بین نژادها

نژاد	تعداد	فراوانی‌های ژنوتیپی				P-value
		درج‌درج	حذف‌درج	حذف-حذف	هلشتاین سالم آلمانی	
هلشتاین ایران	۵۰	۰/۱۴۳	۰/۴۴۹	۰/۴۰۸	۰/۲۵۷۶	
گلپایگانی	۶۲	۰/۰۸۱	۰/۴۳۵	۰/۴۸۴	۰/۷۸۴۴	
سیستانی	۶۰	۰/۰۶۷	۰/۲۳۳	۰/۷۰۰	<۰/۰۰۰۱	
گاوهای مبتلای آلمانی ^۱	۴۳	۰/۰۵۰	۰/۴۴	۰/۵۱	۰/۰۴۸۵	
گاوهای سالم آلمانی ^۱	۴۸	۰/۲۱۰	۰/۴۴	۰/۳۵	-----	

1. (Sander *et al.*, 2004)

مربع-کای) نشان نداد و جمعیت‌ها در تعادل بودند. مقایسه فراوانی ژنوتیپی حذف و درج جایگاه ۱۲ جفت بازی به روش آزمون مربع-کای (جدول ۶) نشان داد که هر ۳ نژاد مطالعه‌شده اختلاف معنی‌داری از نظر ژنوتیپی

فراوانی‌های ژنوتیپی حذف و درج جایگاه ۱۲ جفت بازی مقایسه فراوانی‌های ژنوتیپی مشاهده‌شده این جایگاه با فراوانی‌های مورد انتظار در تعادل هاردی-واینبرگ، برای هیچ‌یک از سه نژاد تفاوت معنی‌داری (با آزمون

بازی داشتند در مقایسه با افراد هموزیگوت درج-درج برای این جایگاه ریسک نسبی ابتلا به جنون گاوی به ترتیب از ۱/۳۲ به ۴/۰۱، و از ۰/۷۴ به ۳/۶۵ افزایش می‌یافت. بین فراوانی درج-درج جایگاه ۱۲ جفت بازی در نژاد سیستمی و گلپایگانی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. هموزیگوت درج-درج در نژاد گلپایگانی بیشترین فراوانی را داشت که با توجه به نتایج *Juling et al.* (2006) این ژنوتیپ احتمالاً دارای بیشترین مقاومت به جنون گاوی است.

در این جایگاه با هلشتاین‌های مبتلا داشتند، به طوری که گلپایگانی و سیستمی با احتمال خطای کمتر از ۱ درصد و نژاد هلشتاین با احتمال خطای کمتر از ۵ درصد دارای فراوانی درج بیشتری در مقایسه با گاوهای مبتلای آلمانی بودند. فقط بین هلشتاین ایران و هلشتاین‌های سالم آلمانی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. در مطالعه *Juling et al.* (2006)، توجه به داده‌های ژنوتیپی نشان داده شد که ریسک ابتلا به جنون گاوی با افزایش تعداد حذف جایگاه ۱۲ جفت بازی بیشتر می‌شود. در بین هتروزیگوت‌ها و هموزیگوت‌هایی که آلل حذف ۱۲ جفت

جدول ۶. مقایسه فراوانی ژنوتیپی جایگاه ۱۲ جفت بازی در بین نژادها

P-value		فراوانی‌های ژنوتیپی				تعداد	نژاد
هلشتاین مبتلا آلمانی	هلشتاین سالم آلمانی	حذف-حذف	حذف-درج	درج-درج			
۰/۰۲۰۷	۰/۴۲۴۴	۰/۲۵۰	۰/۴۴۲	۰/۳۰۸	۵۰	هلشتاین ایران	
<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۱۵	۰/۰۷۵	۰/۹۱۰	۶۲	گلپایگانی	
<۰/۰۰۰۱	<۰/۰۰۰۱	۰/۰۳۰	۰/۱۹۴	۰/۷۷۶	۶۰	سیستمی	
-----	۰/۰۶۸۶	۰/۴۴	۰/۴۷	۰/۰۹	۴۳	گاوهای مبتلای آلمانی ^۱	
-----	-----	۰/۲۳	۰/۵۶	۰/۲۱	۴۸	هلشتاین‌های سالم آلمانی ^۱	

1. (Sander *et al.*, 2004)

معلوم شد توزیع ژنوتیپی و فراوانی آلی پلی‌مورفیسم حذف ۲۳ جفت بازی به‌طور معنی‌داری ($P < 0.05$) با حساسیت به جنون گاوی مرتبط است و هاپلوتیپ‌های حذف آلل‌های ۱۲ و ۲۳ جفت بازی همبستگی معنی‌داری با حساسیت به جنون گاوی دارد و در گروه مبتلا به جنون گاوی حذف الل ۲۳ جفت بازی بیشتر از گروه کنترل بود.

میزان فراوانی هاپلوتیپ‌ها در هر ۲ نژاد بومی تحت مطالعه در این بررسی متفاوت از گاوهای سالم و مبتلای آلمانی بود (با احتمال خطای کمتر از ۱ درصد) و فراوانی هاپلوتیپ‌های هلشتاین ایران مشابه با فراوانی‌های هاپلوتیپ‌های گاوهای سالم آلمانی، مطابق گزارش *Sander et al.* (2004) بود.

همانند نتایجی که *Brunelle et al.* (2008) گزارش کردند، هاپلوتیپ درج ۱۲ جفت بازی/حذف ۲۳ جفت بازی در هلشتاین‌ها کمترین میزان (۰/۱۶) بود، در حالی که این هاپلوتیپ در *Bos indicus* همانند گاوهای سیستمی بیشترین هاپلوتیپ مشاهده شده (۰/۷۰) در مطالعه *Brunelle et al.* (2008) و ۰/۷۰ در مطالعه

فراوانی‌های هاپلوتیپی حذف و درج جایگاه‌های ۱۲ و ۲۳ جفت بازی

مقایسه فراوانی‌های هاپلوتیپی در جدول ۷ نشان داده شد. در اطلاعات استفاده‌شده *Juling et al.* (2006) هاپلوتیپ‌های معمول برای اشکال حذف جایگاه ۱۲ جفت بازی با حذف جایگاه ۲۳ جفت بازی، درج جایگاه ۱۲ جفت بازی با حذف جایگاه ۲۳ جفت بازی و درج هر دو جایگاه ۱۲ و ۲۳ جفت بازی وجود داشت ولی هاپلوتیپ درج ۲۳ جفت بازی با حذف ۱۲ جفت بازی کمتر از ۱ درصد جمعیت بود و از محاسبات نهایی آنها حذف شد. نتایج مشابهی در مطالعات *Sander et al.* (2004)، *Xue et al.* (2008)، *Haase et al.* (2007)، *Jeong et al.* (2006) و *Brunelle et al.* (2008) گزارش شده است. در مطالعه حاضر نیز نتایج مشابهی به‌دست آمد و هاپلوتیپ درج ۲۳ جفت بازی با حذف ۱۲ جفت بازی که فراوانی آن کمتر از ۱ درصد بود، از نتایج حذف شد. در مطالعاتی که *Haase et al.* (2007) روی پلی‌مورفیسم پروموتور ژن PRNP گاوهای سالم و مبتلا به جنون گاوی از دو کشور آلمان و سوئیس انجام دادند،

حاضر) است. نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان داد که کمترین میزان هاپلوتیپ حذف هر دو جایگاه (۵۲ درصد) نیز مربوط به گاوهای گلپایگانی بود.

جدول ۷. مقایسه فراوانی‌های هاپلوتیپی در بین نژادها

نژاد	تعداد	فراوانی‌های هاپلوتیپی			P-value
		درج ۱۲-درج ۲۳	حذف ۲۳-درج ۱۲	حذف ۱۲-حذف ۲۳	
هلشتاین ایران	۱۰۰	۰/۳۷	۰/۱۶	۰/۴۷	هلشتاین سالم هلشتاین مبتلا آلمانی
گلپایگانی	۱۲۴	۰/۳۱	۰/۶۴	۰/۰۵	هلشتاین سالم هلشتاین مبتلا آلمانی
سیستانی	۱۲۰	۰/۱۷	۰/۷۰	۰/۱۳	هلشتاین سالم هلشتاین مبتلا آلمانی
گاوهای مبتلا آلمانی ^۱	۸۶	۰/۲۷	۰/۰۶	۰/۶۷	هلشتاین سالم هلشتاین مبتلا آلمانی
گاوهای سالم آلمانی ^۱	۹۶	۰/۴۳	۰/۰۶	۰/۵۱	هلشتاین سالم هلشتاین مبتلا آلمانی

1. (Sander et al., 2004)

که جایگاه ۱۲ جفت بازی واقع روی اولین اینترون ژن پروتئین پرپون با جنون گاوی همبستگی معنی‌دار بیشتری در مقایسه با جایگاه ۲۳ جفت بازی دارد.

نتیجه‌گیری کلی

براساس نتایج مطالعات روی حذف و درج این دو جایگاه، اگر چنین جمع‌بندی کنیم که درج جایگاه ۲۳ جفت بازی اثر بیشتری از درج جایگاه ۱۲ جفت بازی دارد، در این صورت براساس یافته‌های تحقیق حاضر گاوهای سیستانی در مقایسه با گاوهای سالم آلمانی حساسیت بیشتری در برابر جنون گاوی کلاسیک دارند. بالعکس اگر اثر درج جایگاه ۱۲ جفت بازی بیشتر از اثر درج جایگاه ۲۳ جفت بازی منظور شود در این صورت گاوهای سیستانی و گلپایگانی از گاوهای سالم و مبتلای آلمانی دارای مقاومت بیشتری در برابر جنون گاوی هستند.

گاوهای گلپایگانی از نظر فراوانی حذف و درج جایگاه ۲۳ جفت بازی اختلاف معنی‌داری با گاوهای سالم و مبتلای آلمانی ندارند. ولی درج جایگاه ۱۲ جفت بازی در نژاد گلپایگانی به‌طور معنی‌داری از درج این جایگاه در گاوهای سالم و مبتلای آلمانی بیشتر بود. با در نظر گرفتن هر دو جایگاه به این نتیجه می‌رسیم که گاوهای گلپایگانی در صورتی که این دو جایگاه را در مقاومت به جنون گاوی مؤثر بدانیم از گاوهای سالم و مبتلای آلمانی دارای مقاومت بیشتری در برابر جنون گاوی هستند.

بیماری‌های پرپونی از قبیل اسکریپی^۱ در گوسفند و جنون گاوی در گاوها، و کروتیزفلد ژاکوب در انسان به دلیل تغییر در شکل فضایی پروتئین پرپون به وجود می‌آیند. پاتوژن‌های این بیماری‌ها توانسته‌اند از مرز بین گونه‌ای عبور کنند و گونه‌های متفاوتی را به بیماری‌های پرپون مبتلا کنند (Daszak et al., 2000). جنون گاوی از دام به انسان قابل انتقال است. این بیماری در انسان باعث بیماری کشنده و خطرناک کروتزفلدژاکوب می‌شود (Brown et al., 2006). در ایران نیز هرچند بیماری جنون گاوی گزارش نشده، نوع انسانی بیماری جنون گاوی یعنی بیماری کروتزفلدژاکوب گزارش شده است (قربانی و همکاران، ۱۳۸۶). هیچ روش درمانی تا به امروز برای جنون گاوی و دیگر بیماری‌های پرپونی شناخته نشده است، انتخاب ژنتیکی و عدم استفاده از پودر گوشت و استخوان در تغذیه گاوها مهم‌ترین روش حذف جنون گاوی از جمعیت‌های دامی است (Ün et al., 2008). اولین بار Sander et al. (2004) نشان دادند که پلی‌مورفیسم جایگاه ۲۳ جفت بازی واقع بر پروموتور ژن پروتئین پرپون به‌طور معنی‌داری با جنون گاوی همبستگی دارد. سپس Sander et al. (2005) به شواهد و دلایل بیشتری مبنی بر وجود همبستگی بین جایگاه ۲۳ جفت بازی با جنون گاوی دست یافتند. به دنبال کارهای مذکور، Juling et al. (2006) و ashkevich et al. (2007)، از نظر آماری و زیست‌شناختی نشان دادند

1. Scrapie

REFERENCES

1. Ghorbani, A., Kahnuj, h., Shafie, M. & Yousefi, N. (2007). case for letting Krvtzfldzhakvb (case report). *Medical Journal Tehran University of Medical Sciences*, 3, 85-82.
2. Bossers, A., Schreuder, B. E., Muileman, I. H., Beltp. B. & Smits, M. A. (1996). PrP genotype contributes to determining survival times of sheep with natural scrapie. *J. Gen. Virol*, 77, 2669-2673.
3. Brown, P., McShane, L. M., Zanusso, G. & Detwiler, L. (2006). On the question of sporadic atypical bovine spongiform encephalopathy and Creutzfeldt-Jakob disease. *Emerging Infectious Diseases*, 12, 12:1816-1821.
4. Brunelle, B. W., Greenlee, J. J., Seabury, C. M., Brown, C. E. & Nicholson, E. M. (2008). Frequencies of polymorphisms associated with BSE resistance differ significantly between *Bos taurus*, *Bos indicus* and composite cattle. *BMC Vet. Res*, 4, 36.
5. Buchmann, A., Gretschel A., Biacabe, A. G., Schiebel, K., Corona, C., Hoffmann, C., Eiden, M., Baron, T., Casalone, C., Martin, C. & Groschup, H. (2006). Atypical BSE in Germany—Proof of transmissibility and biochemical characterization. *Vet. Microbiol*, 117, 103–116.
6. Czarnik, U., Zabolewicz, T., Strychalski, J., Grzybowski, G., Bogusz, M. & Walawski, K. (2007). Deletion/insertion polymorphism of the prion protein gene (PRNP) in Polish Holstein-Friesian cattle. *J. Appl. Genet*, 48, pp. 69–71
7. Daszak, P., Cunningham, A. A. & Hyatt, A. D. (2000). Emerging infectious diseases of wildlife: threats to biodiversity and human health. *Science*, 287, 443–449.
8. Haase, B., Doherr, M. D., Seuberlich, T., Drögemüller, C., Dolf, G., Nicken, P., Schiebel, K., Ziegler, U., Groschup, M. H., Zurbriggen, A. & Leeb, T. (2007). PRNP promoter polymorphisms are associated with BSE susceptibility in Swiss and German cattle. *BMC Genetics*, 8, 15.
9. Jeong, B. H., Lee, Y. J., Kim, N. H. & Kim, Y. (2006). Genotype distribution of the prion protein gene (PRNP) promoter polymorphisms in Korean cattle. *Genome*, 49, 1539–1544.
10. Juling, K., Schwarzenbacher, H., Williams, J. L. & Fries, R. (2006). A major genetic component of BSE susceptibility. *BMC Biology*, 4, 33
11. Kashkevich, K., Humeny, A., Ziegler, U., Groschup, M. H., Nicken, P., Leeb, T., Fischer, C., Becker, C. M. & Schiebel, K. (2007). Functional relevance of DNA polymorphisms within the promoter region of the prion protein gene and their association to BSE infection. *FASEB*, 0021, 1547-1555.
12. Kerber, A. R., Hepp, D., Passos, D. T. & Weimer, T. A. (2007). Polymorphisms of two indels at the PRNP gene in three beef cattle herds. *Biochem. Genet*, 46, 1-7.
13. Kim, Y., Kim, J. B., Sohn, H. & Lee, C. (2009). A national survey on the allelic, genotypic and haplotypic distribution of PRNP insertion and deletion polymorphisms in Korean cattle. *J. Genet*, 88(1), 99-103.
14. Maghsoodi, S. M., Miraei-Ashtiani, S. R., Banabazi, M. H. & Mehrabani Yeganeh, H. (2011). Polymorphism of prion protein gene (PRNP) in Iranian Holstein and two local cattle populations (Golpayegani and Sistani) of Iran. *Iranian Journal of Biotechnology*, 9(2), 115-119
15. Mead, S., Stumpf, M. P., Whitfield, J., Beck, J. A., Poulter, M., Campbell, T., Uphill, J. B., Goldstein, D., Alpers, M., Fisher, E. M. & Collinge, J. (2003). Balancing selection at the prion protein gene consistent with prehistoric kuru like epidemics. *Science*, 300, 640–643.
16. Miller, S. A., Dykes, D. D. & Polesky, H. F. (1988). A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nuc. Acids Res*, 6, 3.
17. Nakamitsu, S., Miyazawa, T., Horiuchi M., Onose, S., Ohoba, Y., Kitagawa, H. & Ishiguo, N. (2006). Sequence variation of bovine prion protein gene in Japanese cattle (Holstein and Japanese Black). *J. Vet. Med. Sci*, 68, 27-33.
18. Nassiry, M. R., Eftekhari Shahroudi, F., Tahmoorespur, M. & Javadmanesh, A. (2008). The diversity of BoLA-DRB3 gene in Iranian native cattle. *Asian - Australasian J. Anim. Sci*, 21, 465-470.
19. Peden, A. H., Head, M. W., Ritchie, D. L., Bell, J. E. & Ironside, J. W. (2004). Preclinical vCJD after blood transfusion in a PRNP codon 129 heterozygous patient. *Lancet*, 364, 527–52.
20. Ryan, A. M. & Womack, J. E. (1993). Somatic cell mapping of the bovine prion protein gene and restriction fragment length polymorphism studies in cattle and sheep. *Anim. Gene*, 24, 23-26.
21. Sander, P., Hamann H., Drögemüller C., Kashkevich K., Schiebel K. & Leeb T. (2005). Bovine prion protein gene (PRNP) promoter polymorphisms modulate PRNP expression and may be responsible for differences in bovine spongiform encephalopathy susceptibility. *Biolo. Chem*, 280, 37408–37414.
22. Sander, P., Hamann, H., Pfeiffer, I., Wemheuer, W., Brenig, B., Groschup, M. H., Distl, O. & Leeb, T. (2004). Analysis of sequence variability of the bovine prion protein gene (PRNP) in German cattle breeds. *Neurogenetics*, 5, 19–25.

23. Shimogiri, T., Msalya, G., Myint, S. L., Okamoto, S., Kawabe, K., Tanaka, K., Mannen, H., Minezawa, M., Namikawa, T., Amano, T., Yamamoto, Y. & Maeda, Y. (2010). Allele distributions and frequencies of the six prion protein gene (PRNP) polymorphisms in Asian native cattle, Japanese breeds, and Mythun (*Bos frontalis*). *Biochem. Genet*, 48, 829–839
24. Ün, C., Oztabak, K., Özdemir, N., Tesfaye, D., Mengi, A. & Schellander, K. (2008). Detection of bovine spongiform encephalopathy-related prion protein gene promoter polymorphisms in local Turkish cattle. *Biochem. Genet*, 46, 820–827.
25. Xue, G., Sakudo, A., Kim, C. & Onodera, T. (2008). Coordinate regulation of bovine prion protein gene promoter activity by two Sp1 binding site polymorphisms. *Biochem. Biophys. Res. Comm*, 372, 530–535.