

**T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**



**BOZ IRK SIĞIRLARDA SÜT VE ET VERİMİ İLE İLİŞKİLİ GENLERİN
ANALİZİ**

DOKTORA TEZİ

ADEM KABASAKAL

BALIKESİR, MAYIS - 2014

**T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**



**BOZ IRK SIĞIRLARDA SÜT VE ET VERİMİ İLE İLİŞKİLİ GENLERİN
ANALİZİ**

DOKTORA TEZİ

ADEM KABASAKAL

BALIKESİR, MAYIS - 2014

KABUL VE ONAY SAYFASI

ADEM KABASAKAL tarafından hazırlanan "**BOZ IRK SIĞIRLARDA SÜT VE ET VERİMİ İLE İLİŞKİLİ GENLERİN ANALİZİ**" adlı tez çalışmasının savunma sınavı 09.05.2014 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman
Prof. Dr. Kamil SEYREK




Üye
Prof. Dr. Kemal Özden ÖZTABAK



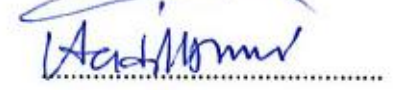
Üye
Doç. Dr. Cemal ÜN



Üye
Doç Dr. Ekrem DÜNDAR



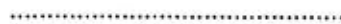
Üye
Doç Dr. Adnan Adil HİŞMİOĞULLARI



Jüri üyeleri tarafından kabul edilmiş olan bu tez BAÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca onanmıştır.

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Prof. Dr. Cihan ÖZGÜR



Bu tez çalışması Balıkesir Üniversitesi tarafından 2011/53 nolu proje ile desteklenmiştir.

ÖZET

BOZ IRK SIĞIRLARDA SÜT VE ET VERİMİ İLE İLİŞKİLİ GENLERİN ANALİZİ

DOKTORA TEZİ

ADEM KABASAKAL

BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

(TEZ DANIŞMANI: PROF DR KAMİL SEYREK)

BALIKESİR, MAYIS - 2014

Bu çalışmada, Boz ırk sığırlarda süt verimi ile ilişkilendirilen kappa-kazein geni (κ -kazein) ile, et verimi ile ilişkilendirilen prooppiomelanokortin (*POMC*) genlerinin analizi yapılmıştır. Çalışma kapsamında, Bandırma Koyunculuk Araştırma İstasyonunda bulunan 88 adet saf Boz ırk sığırdan kan örnekleri alındı. Alınan kan örneklerinden genomik DNA izole edildi. Daha sonra Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) kullanılarak her bir genomik DNA örneğinden κ -kazein ve *POMC* fragmentleri çoğaltıldı. Elde edilen bu fragmentler dizilendi. Dizilerin analizi sonucunda, κ -kazein geni için A, A1, B, G2 ve H allelleri tespit edildi. *POMC* geninde üçü intron (c.6522C>G, c.6553G>T, c.6596G>T) ve biri ekzonda (c.6706T>C) (NCBI Reference Sequence: NC_007309.5) olmak üzere toplam dört SNP tespit edildi. Yüksek süt evrimi ile ilişkilendirilen κ -kazein geninin B allelinin Boz ırk sığırlarda (0.239) düşük olduğu tespit edildi. Boz ırk sığırlarda *POMC* geninde delesyonun olmadığı ve yüksek et verimi ile ilişkilendirilen 288. nükleotinde T yerine C olduğu tespit edildi. Her iki durumda, Boz ırk sığırların düşük süt ve et verimi ile tutarlılık göstermektedir. κ -kazein genin A1 ve H allellerinin *Bos indicus*'ta ve G2 allelinin ise *Bos grunniens*'te tanımlanmıştır. *POMC* geninin 6706 T>C deki SNP *Bos indicus*'ta görülmektedir. Bu durum, Boz ırk (*Bos taurus*) sığırların *Bos indicus* ve *Bos grunniens* sığırlarla akrabalık ilişkisinin olduğunu göstermektedir. Bireyler arasındaki genetik ilişki kappa-kazein geni filogenetik ağaç oluşturarak incelenmiştir. Filogenetik ağaç incelendiğinde, süt sığırlarının kappa-kazein geni yönünden seleksiyon baskısı olduğu görülmektedir.

ANAHTAR KELİMELELER: Boz ırk sığır, kappa-kazein (κ -kazein) geni, prooppiomelanokortin (*POMC*) geni, filogenetik ağaç.

ABSTRACT

THE ANALYSIS OF GENES RELATED TO MILK AND MEAT YIELD IN GREY CATTLE BREED

PH.D THESIS

ADEM KABASAKAL

BALIKESIR UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE

BIOLOGY

(SUPERVISOR: PROF. DR. KAMIL SEYREK)

BALIKESİR, MAY 2014

In the present study, kappa-casein (κ -casein) gene related to milk yield and proopiomelanocortin (*POMC*) gene related meat yield were analysed in Grey cattle breeds. The blood samples used in the study were taken from 88 pure Grey cattle breed at the Bandirma Sheep Research Station. Genomic DNA was isolated from blood samples taken. Polymerase chain reaction (PCR) was employed to amplify the κ -casein and *POMC* fragment from each genomic DNA sample. These fragments obtained were sequenced. Sequence analyses proved that there are A1, B, G2 and H alleles of κ -casein gene in Grey cattle breeds. Four SNPs of the *POMC* gene, three at the intron (c.6522C>G, c.6553G>T, c.6596G>T) and one at the exon (c.6706T>C) (NCBI Reference Sequence: NC_007309.5), were detected. B allele frequency correlated with high milk yields of κ -casein gene (0.239) was relatively low in Grey cattle breed. No deletion was determined in the *POMC* gene of, while at the 288. nucleotide instead T there is a C was detected. These findings are in consistent with the low milk and meat yield of Grey cattle breeds. A1 and H alleles of bovine κ -casein gene detected here were defined in *Bos indicus* and G2 allele of bovine κ -casein gene also determined in this study was reported to be found in *Bos grunniens*. The SNP (6706 T>C) of *POMC* gene encountered in this study was revealed in *Bos indicus*. These results indicates that there may be a consanguinity between Grey cattle breed (*Bos taurus*) and both *Bos indicus* and *Bos grunniens*. In addition, genetic relationship between individuals has been examined by creating phylogenetic tree of kappa-casein gene in Grey cattle breed. Analysing this phylogenetic tree exhibited that in terms of milk yield there is a selection impression on kappa casein gene of dairy cattle breeds.

KEYWORDS: Grey steppe breed cattle, kappa-casein (κ -casein) gene, proopiomelanocortin (*POMC*) gene, phylogenetic tree.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ŞEKİL LİSTESİ	v
TABLO LİSTESİ	vii
KISALTMALAR LİSTESİ	viii
ÖNSÖZ	x
1. GİRİŞ	1
1.1 Boz ırk sığır ve özellikleri	8
1.1.1 Boz ırk sığırın kökeni ve yayılma alanı	8
1.1.2 Boz ırk sığırın fiziksel ve verim özellikleri	10
1.2 Kantitatif özellikli lokus (Quantitative Trait Locus-QTL) ve	
Marker Destekli Seleksiyon (Marker Assisted Selection-MAS).....	15
1.3 Sütün tanımı ve bileşimi.....	19
1.4 Süt proteinleri	21
1.4.1 Kazein proteini ve özellikleri.....	22
1.4.2 Kappa-kazein proteini ve fonksiyonel özellikleri.....	23
1.4.3 Kazein proteinleri ve türevlerinin süt özellikleri üzerine etkisi.....	25
1.5 κ -kazein geni ve özellikleri.....	27
1.6 Etin tanımı ve özellikleri	31
1.7 Proopiomelanokortin ve özellikleri	32
1.7.1 İştah yolağı.....	32
1.7.2 Proopiomelanokortin ve yapısal özellikleri	33
1.7.3 POMC genin işlenmesi	35
1.7.4 Proopiomelanokortin peptidlerin işlevi	37
1.7.5 Proopiomelanokortin mutasyonları.....	37
1.7.6 İştah ve Obezite üzerinde Proopiomelanokortin etkisi	39
2. MATERYAL VE METOT	41
2.1 Materyal.....	41
2.1.1 Hayvan Materyali	41
2.1.2 Çalışmada Kullanılan Kimyasallar	41
2.1.3 Çalışmada Kullanılan Cam Malzeme ve Plastik Malzemelerin	
Hazırlanması	42
2.1.4 Kan Örneklerinin Toplanması	42
2.2 Metod.....	43
2.2.1 Kandan Genomik DNA İzolasyonu	43
2.2.2 Primer Tasarımı	44
2.2.3 PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) bileşenleri ve protokolü.....	45
2.2.4 DNA Agaroz Jel Elektroforezi	47
2.2.5 PZR Sonuçlarının Değerlendirilmesi, Dizileme ve Dizi Analizi	47
2.2.6 Filogenetik Analiz	48
2.2.7 İstatistiksel Analiz	49
2.2.8 Biyoinformatik analiz	49
3. BULGULAR	50
3.1 κ -kazein geni ile ilgili bulgular	50

3.1.1	<i>κ-kazein</i> geni ekzon bölgesi ile ilgili bulgular	51
3.1.2	<i>κ-kazein</i> geni intron bölgesi ile ilgili bulgular	55
3.1.3	<i>κ-kazein</i> geni biyoinformatik analizi	57
3.1.4	<i>κ-kazein</i> geni istatistiksel analizi	58
3.1.5	<i>κ-kazein</i> geni filogenetik ağaçları	62
3.2	<i>POMC</i> geni ile ilgili bulgular	68
3.2.1	<i>POMC</i> geni ekzon bölgesi ile ilgili bulgular	70
3.2.2	<i>POMC</i> geni intron bölgesi ile ilgili bulgular	73
3.2.3	<i>POMC</i> geni biyoinformatik analizi.....	76
3.2.4	<i>POMC</i> geni istatistiksel analizi.....	78
4.	SONUÇ VE ÖNERİLER	79
5.	KAYNAKLAR	87
6.	EKLER.....	110
	EK A Tez Çalışması Kapsamında Yapılan Bilimsel Çalışmalar	110

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1 : Sığırların Asya'dan Afrika ve Avrupa'ya göç yolları	6
Şekil 1.2 : Avrupa sığırlarının sınıflandırılması.....	7
Şekil 1.3 : Boz ırk sığırın Türkiye ve Balkan ülkelerindeki yayılım alanı alanı	9
Şekil 1.4 : Boz ırk boğa fotoğrafı	12
Şekil 1.5 : Boz ırk inek fotoğrafı	13
Şekil 1.6 : Boz ırk buzağı fotoğrafı	13
Şekil 1.7 : Boz ırk sığır sürü fotoğrafı	14
Şekil 1.8 : İnek sütünün bileşimi (Demir 1999, Metin, 1996, Üçüncü 2005). 20	
Şekil 1.9 : Sığır kappa kazein amino asit dizisi	28
Şekil 1.10: Sığır <i>POMC</i> geninin yapısı	34
Şekil 1.11: Sığır proopiomelanokortin amino asit dizisi	35
Şekil 3.1 : κ -kazein jel görüntüsü	50
Şekil 3.2 : κ -kazein dizisi ve SNP noktaları.....	51
Şekil 3.3 : κ -kazein amino asit dizisi ve allelleri	52
Şekil 3.4 : κ -kazein ekzon bölgesi DNA dizisi, 404 ve 407. Nükleotiddeki SNPler.....	53
Şekil 3.5 : κ -kazein ekzon bölgesi DNA dizisi, 443. nükleotiddeki SNP	54
Şekil 3.6 : κ -kazein ekzon bölgesi DNA dizisi, 450. nükleotiddeki SNP	54
Şekil 3.7 : κ -kazein ekzon bölgesi DNA dizisi, 512. nükleotiddeki SNP	55
Şekil 3.8 : κ -kazein intron bölgesi DNA dizisi, 4. nükleotiddeki SNP noktası	56
Şekil 3.9 : κ -kazein intron bölgesi DNA dizisi, 340. nükleotiddeki SNP	56
Şekil 3.10: Sığır κ -kazein geni özeti	57
Şekil 3.11: <i>Bos taurus</i> kromozom 6'daki genler.....	58
Şekil 3.12: κ -kazein geni allel frekans grafiği	61
Şekil 3.13: κ -kazein geni genotip frekans grafiği	62
Şekil 3.14: κ -kazein geni dizisi filogenetik ağacı	64
Şekil 3.15: κ -kazein geni ekzon bölgesi filogenetik ağacı.....	65
Şekil 3.16: κ -kazein geni intron bölgesi filogenetik ağacı.....	66
Şekil 3.17: κ -kazein geni amino asit dizisi filogenetik ağacı.....	67
Şekil 3.18: <i>POMC</i> geni jel görüntüsü.....	69
Şekil 3.19: <i>POMC</i> geni DNA dizisi, SNP ve delesyon bölgesi-1.....	70
Şekil 3.20: <i>POMC</i> gen dizisi, SNP ve delesyon bölgesi-2	71
Şekil 3.21: <i>POMC</i> geni ekson bölgesi DNA dizisi, 198. nükleotiddeki SNP ..	72
Şekil 3.22: <i>POMC</i> geni ekson bölgesi DNA dizisi, 198. Nükleotiddeki SNP .	72
Şekil 3.23: <i>POMC</i> geni intron bölgesi DNA dizisi, 2261. nükleotiddeki SNP resmi-1	73
Şekil 3.24: <i>POMC</i> geni intron bölgesi DNA dizisi, 2261. Nükleotiddeki SNP resmi-2	74
Şekil 3.25: <i>POMC</i> geni intron bölgesi DNA dizisi, 2292. nükleotiddeki SNP resmi-1	74
Şekil 3.26: <i>POMC</i> geni intron bölgesi DNA dizisi, 2292. nükleotiddeki SNP resmi-2	75

Şekil 3.27: <i>POMC</i> geni intron bölgesi DNA dizisi, 2335. nükleotiddeki SNP resmi-1	75
Şekil 3.28: <i>POMC</i> geni intron bölgesi DNA dizisi, 2335. nükleotiddeki SNP resmi-2	76
Şekil 3.29: <i>POMC</i> geni kromozom özeti.....	77
Şekil 3.30: Bos taurus kromozom 11'daki genler ve <i>POMC</i> geninin yeri	77

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 1.1: Boz ırk sığırın özellikleri	11
Tablo 1.2: Süt proteinleri ve genetik varyantları.....	26
Tablo 1.3: Sığır κ -kazein geninin genetik varyantları	30
Tablo 1.4: Proopiomelanokortinden üretilen biyoaktif peptidler	36
Tablo 2.1: Genomik DNA İzolasyonunda Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanışları	44
Tablo 2.2: PZR’de kullanılan primerler ve nükleotit dizileri.....	45
Tablo 2.3: PZR Bileşenleri ve Konsantrasyonu	46
Tablo 2.4: PZR Protokolü	46
Tablo 3.1: κ -kazein geni ekzon bölgesi SNP özeti ve allel tablosu.....	52
Tablo 3.2: Boz ırk sığırın κ -kazein geni genotip ve allel frekans dağılımı	59
Tablo 3.3: Boz ırk sığırın <i>POMC</i> geni genotip ve allel frekans dağılımı	78

KISALTMALAR LİSTESİ

ACTH	Adrenocorticotropic hormon
AGRP	Antagonist agouti-related protein
α -LA	Alfa-laktalbumin
α -MSH	Alfa melanosit stimulan hormon
β -END	Beta-endorphin
β -LPH	Beta-lipotrofin
β -MSH	Beta melanosit stimulan hormon
β -kazein	Beta-kazein
β -LG	Beta-laktoglobulin
BLAST	Basic local alignment search tool
bp	Base pair (baz çifti)
BTA6	Bos taurus kromozom 6
BTA11	Bos taurus kromozom 11
CPE	Karboksidad E
DNA	Deoksiribonükleik asit
dNTP	Dinükleotit trifosfat
DSMO	Dimetil sülfoksit
EDTA	Etilendiamintetraasetik asit
γ -LPH	Gama-lipotrofin
γ -MSH	Gama melanosit stimulan hormon

gDNA	Genomik DNA
IBBMC	International Bovine Bacterial Artificial Chromosome Mapping Consortium
JP	Joining peptid
κ -kazein	Kappa-kazein
Kb	Kilo baz
kDa	Kilo dalton
MAS	Markör Destekli Seleksiyon
MC3R	Melanokortin 3-reseptör
MC4R	Melanokortin 4-reseptör
MSH	Melanosit stimulan hormon
NCBI	National center of biotechnology information
QTL	Kantitatif özellikli lokus
PAGE	Polyacrylamide gel electrophoresis
<i>POMC</i>	Proopiomelanokortin
PC	Prohormon convertases
RSP	Düzenlenmiş salgı yolu
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
SDS	Sodyum dodesil sülfat
TBE	Tris borik asit
Taq	<i>Thermus aquaticus</i>
UV	Ultraviole

ÖNSÖZ

Doktora çalışmamın her aşamasında maddi ve manevi her türlü desteği veren, bilgi, tecrübe ve özellikle hoşgörüsünü esirgemeyen, kendilerin tanımaktan onur duyduğum danışman hocam Sayın Prof. Dr. Kemil SEYREK'e,

Doktoramın her aşamasında bilgi ve tecrübelerinininden yararlandığım ve bu süreçte laboratuvar imkanları dahil her an desteğini gördüğüm değerli hocam Sayın Doç. Dr. Ekrem DÜNDAR'a,

Tez izleme jürimde yer alan ve doktoramın her aşamasında, yoğun gündemine rağmen yardımlarını esirgemeyen ve beni yönlendiren, bilgi ve tecrübesinden ilham aldığım değerli hocam Sayın Doç. Dr. Cemal ÜN'e,

Doktora başlangıcında büyük desteğini gördüğüm Sayın Yar. Doç. Dr. Sakin Vural VARLI'ya,

Doktoramın laboratuvar aşamasında yoğun çalışmalarına rağmen desteklerinin esirgemeyen değerli arkadaşlarım Dr. Öznur SUAKAR'a, Araş. Gör. Dr. Görkem DENİZ SÖNMEZ'e, Şakir AKGÜN'e, Gülçin ÇETİN'e ve Tuğba ÇAKMAK'a ,

Beni yetiştiren ve eğitim hayatım boyunca maddi sıkıntılar çekmelerine rağmen her daim destek olan canım Annem ve Babama,

Canım kızlarım Elif ve Ece'ye,

Bu süreçte en büyük teşekkürü hak eden, en zor zamanlarımda yanımda olan ve fedakarlığını esirgemeyen, eşim Birgül'e,

sonsuz teşekkürlerimi ve minnetlerimi sunuyorum.

1. GİRİŞ

Hayvancılıkta ekonomik açıdan büyük öneme sahip verim özelliklerinin genetik yapısının araştırılması ve geliştirilmesinde moleküler biyoloji ve teknikleri kullanımı yaygın uygulama alanı bulmuştur. Sığırlarda et ve süt verimi özellikleri üzerine yapılan çalışmalar elli yıldan daha uzun süredir devam etmektedir. (Aschaffenburg 1961, Neelin 1964, Schmidt (1966), Woychik 1966), Son yıllarda, moleküler biyoloji, genetik ve biyokimya alanında yapılan deneysel çalışmalar ve yeni geliştirilen teknikler bu alandaki çalışmalara büyük ivme kazandırmıştır.

Sütü oluşturan ana maddeler; su, protein, karbonhidrat, yağ ve mineral maddelerdir. Ancak yapılan çalışmalar sonucunda, iki yüzden fazla değişik maddeden oluştuğu bilinmektedir. Süt proteinleri kazein ve serum proteinleri olmak üzere iki ana gruba ayrılmıştır. Kazein, α_{s1} -kazein, α_{s2} -kazein, β -kazein ve κ -kazein gibi fraksiyonlardan oluşur ve toplam süt proteinlerinin %80'ini oluşturur. Serum proteinleri birçok fraksiyondan oluşmasına rağmen en çok önemlileri, alfa-loktoalbumin ve beta-laktoglobulindir (Eigel ve ark., 1984). Altı majör süt proteini genlerinin α_{s1} -kazein, α_{s2} -kazein, β -kazein, κ -kazein, α -loktoalbumin ve β -laktoglobulin genetik varyant olarak ifade edilen, otozomal ve kodominat alleleri vardır. Polimorfik bölge olduğu düşünülen bu alleller protein yapısında aminoasit değişikliğine neden olmaktadır (Farrell 2004). Süt protein genleri üzerine yapılmış birçok araştırma bulunmaktadır. Bu araştırmalarda bakıldığında süt proteinlerinin evrimsel gelişimini belirlemek, farklı tür ve ırklar arasındaki ilişkileri belirlemek, hayvan popülasyonları arasındaki zaman ve yer değişikliklerini gözlemlemek ve genetik varyantlar ile sütün özellikleri ve verimi, süt ürünleri özellikleri (peynir verim ve kalitesi) ve sığırların uyum kapasitesi arasındaki ilişkileri belirlemek amaçlanmaktadır (Formaggioni ve ark, 1999).

Besi sığırları, et verim yönü gelişmiş, hızlı canlı ağırlık artışı sağlayabilen ve kaliteli karkas özellikleri gösterebilen hayvanlardır. Besi performansı olarak ifade edilen bu özelliklerin ortaya konabilmesi başta hayvanın ırkı, cinsiyeti, yaşı, vücut kondüsyonu, bakım, sağlık ve beslenme gibi koşullara bağlıdır. Canlı ağırlık artışı, bir diğer ifade ile biyokimyasal büyüme hormonları sayesinde gerçekleşmektedir. Hipofizin ön lobu böbrek üstü bezi ve testisten salgılanan hormonlar büyümeyi düzenleme ve kas oluşumu üzerinde etkilidir. Aynı zamanda, bu bezlerden salgılanan hormonlar, alınan besin maddelerin değerlendirilmesi ve iştah mekanizmasını etkileyerek canlı ağırlık artışı üzerinde etkilidir (Bruns ve ark. 2004, Ergün ve ark, 2008).

Genetik etkiler, karkas kompozisyonu açısından hayvanlar arasındaki bireysel farklılıklardan kısmen sorumludur (Kononof ve ark 2005). Proopiomelanokortin (*POMC*) sığır karkas özelliklerini etkileyen genlerden biridir. Buchanan 2003'te sığır genomu kromozom 11'de *POMC* geni üzerinde c.288C>T tek nokta polimorfizmi (SNP) tespit etti. Nitekim *POMC*'nin bulunduğu gen bölgesi karkas ağırlığı ve günlük canlı ağırlık artışı üzerinde etkileyen bir kantitatif özellikli lokus (Quantitative Trait Loci-QTL) olarak tespit edilmiştir (Thue ve Buchanan 2003). Buchanan ve ark. (2005) Timin alleleline sahip olan homozigot sığırların 9 kg. kadar daha fazla canlı ağırlığa sahip olduğu ve timin alleleline sahip sığırların daha iyi karkas özelliği ve günlük canlı ağırlık artışı sağladığını tespit etmiştir.

Proopiomelanokortin (*POMC*), adrenokortikotropin (*ACTH*), alfa melanosit stimulan hormon (α -MSH), beta melanosit stimulan hormon (β -MSH), gama melanosit stimulan hormon (γ -MSH) ve beta-endorfin (β -END) gibi iştah yolağı içerisinde yer alan farklı peptidleri kodlayan prohormondur (Pritchard ve ark. 2002). α -MSH, *POMC* tarafından kodlanan gıda alımı ve iştah azalmalarından sorumlu olan ve melanokortin 3-reseptör ile melanokortin 4-reseptör ile bağlandığında iştah azalmasına neden olan bir peptittir. β -MSH ve γ -MSH iştahı azaltmasına rağmen, α -MSH kadar etkili değildir. İştah yolağı

üzerinde etkili olan *POMC*, insanlarda obezite, hayvancılıkta karkas kalitesi üzerinde etkili olan bir aday genidir (Krude ve ark. 1998, Giudice ve ark. 1995).

Sığırın Zoolojik sistemdeki yerini belirlemek gerekirse sığır taksonomisi şu şekilde sıralanabilir:

Alem	Animale	(Hayvanlar)
Şube	Chordate	(Kordatlılar)
Grup	Vertebrata	(Omurgalılar)
Sınıf	Mamalia	(Memeliler)
Alt takım	Artiodaktila	(Çift tırnaklılar)
Alt alt takım	Pecora	(Geviş getirenler)
Familya	Cavicornia	(Boş boynuzlular)
Cins	Bos Bovina	(Sığırlar)
Tür	Taurina	(Evcil=gerçek sığır)

Kemik yapıları üzerine yapılan ilk çalışmalarda, evcil sığırın çeşitli yabani sığırlardan kök aldığı öne sürülmesine rağmen günümüzde tek bir yabani sığırdan köken aldığı kabul edilmektedir. Buna göre, bütün evcil sığırlar *Urus* ya da *Aurosh* adlandırılan *Bos taurus primigenus* sığırından köken aldığı kabul edilmektedir. Sığır cinsinin, birisi günümüzde var olmayan 5 türü bulunmaktadır. İlkel sığır türünden gelişmişe göre şu şekilde sıralanabilir; (Felius 2011, Holt C. and Sam D. 1983, Loftus, 1999, Schultz 2007, Alpan O., 2012)

Leptobovina; pleistosen çağda yok olmuş, Fransa, İtalya ve Hindistan'daki fosillere göre sığır türleri arasında en küçük yapılı olanıdır ve önemi yalnızca sığırların zoolojik sistemdeki yerinin tamamlanmasından ibarettir.

Bizontina, bizonun içinde olduğu bu grup evciltilemeyen bir sığır türüdür. *Bibovina*, yabani halde yaşayan bu tür içinde en yaygın olanları Gayal, Banteng ve Gaur sığırları olup Malaya ve Hindistan'da yaygındır.

Bubalina, Mandanın içinde bulunduğu sığır cinsinin ilkel bir türüdür.

Taurina (Gerçek Sığır) günümüzde dünyanın her yerinde evcil yetiştiriciliği yapılmaktadır. *Bos indicus* ve *Bos taurus* olmak üzere iki alt türü bulunmaktadır. (Alpan O., 2012)

Bos indicus asya yabani sığırında köken almıştır. Ana vatanı Hindistan'dır ve buradan Ortadoğu ve Afrika'ya yayılmıştır. En belirgin ayırt edici özelliği cidago bölgesindeki hörgüçtür. Avrupa'ya zamanla yayılmış olabileceği ve Avrupa sığır ırklarının atalarına bir miktar *B.indicus* karışmış olabileceği tahmin edilmektedir. *B.İndicus* 'un en önemli temsilcisi Zebu sığıridir.

Bos taurus, Türkiye ve Dünya'daki tüm evcil sığır ırkları bu gruba girmektedir. Bugünkü sığırlar ilk ikisi yaygın olmak üzere 5 alt tipte köken almıştır. (Auld R. C., 1888, Howard M. M., 1961, Degeröl M. and Fredskild B., 1972, Holt C. ve P., Sam D. 1983, Alpan O., 2012). Bunlar;

Bos taurus primigenius, Boz ırkında içinde bulunduğu gruptur.

Bos taurus brachiceros, kısa boynuzlu sığır ırklarıdır. Anadolu sığır ırkları bu gruptadır.

Bos taurus frontosus primigenustan mutasyonla meydana geldiği kabul edilmektedir. En önemli temsilcisi Simmental sığıridir.

Bos taurus akeratus, boynuzsuz sığır grubudur. Mutasyonla yabani sığırdan köken aldığı düşünülmektedir. En önemli temsilcisi Aberden-Angus sığıridir.

Bos taurus brachycephalus kısa başlı sığır grubudur ilk iki grubtan mutasyonla meydana geldiğine inanılmaktadır.

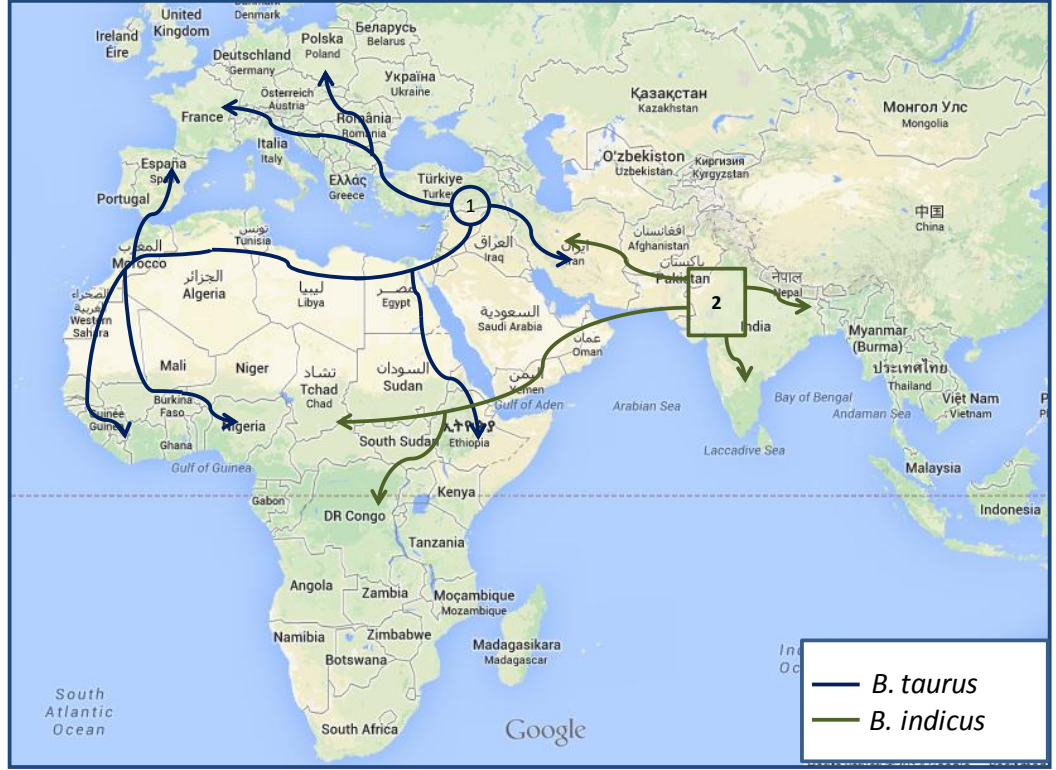
Arkeolojik araştırmalar ve genetik verilerin ışığında insan için önem arzeden sığır, koyun ve keçinin en az iki farklı evcilleştirme merkezinin olduğu anlaşılmaktadır. Bu merkezlerden en eski olanlardan biri ülkemizin Doğu ve Güneydoğusunu kapsamaktadır. Dünya'ya buradan yayıldığı belirtilmektedir. (Loftus ve ark., 1994, Luikart ve ark. 2001).

Sığırların evciltmesinin milattan öncesine dayandığı bilinmesine rağmen tam olarak hangi tarihlerde başladığı konusunda farklı görüşler bulunmaktadır. Nitekim; Anonymous (1985) ve Alderson, L. (1992) sığırlar göre M.Ö. 5000-6000 yıllarında Anadolu'da evcilleştirilmiş ve buradan Dünya'ya yayılmıştır. Muhtemelen sığırların ilk olarak evcilleştirmesi Sümer'ler zamanına dayanmakta ve buradan Avrupa'nın her yerine yavaş yavaş yayılmıştır (Epistein H. 1971, Lauvergne J.J., 1979).

Loftus'a (1999) göre; arkeolojik bulgular, Avrupa sığır kaynağının Batı Asya olduğunu ve yaklaşık 10000 yıl önce evciltildiğini göstermektedir. Orta Anadolu'da bulunan Çatal Höyük'te yapılan kazılarda sığırları ait hem yabani ve evcil sığır formlarının aynı zamanda ait açık bulguları, sığırların bu bölgede evciltmiş olduğunu desteklemektedir (Perkins, 1969).

Edwards ve ark. (2007) göre; tek bir yabani sığırdan evciltilen iki ayrı alt türü oluşmuştur. Bugün Dünya'da varolan sığır ırkları *Bos primigenus*un alt türleri olan *B. taurus* ve *B. indicus*'dan köken almıştır. Arkeolojik ve genetik çalışmalar

Bos primigenius alt türlerinin evcilleştirme süreci 11000 yıl önce başladığını göstermektedir.

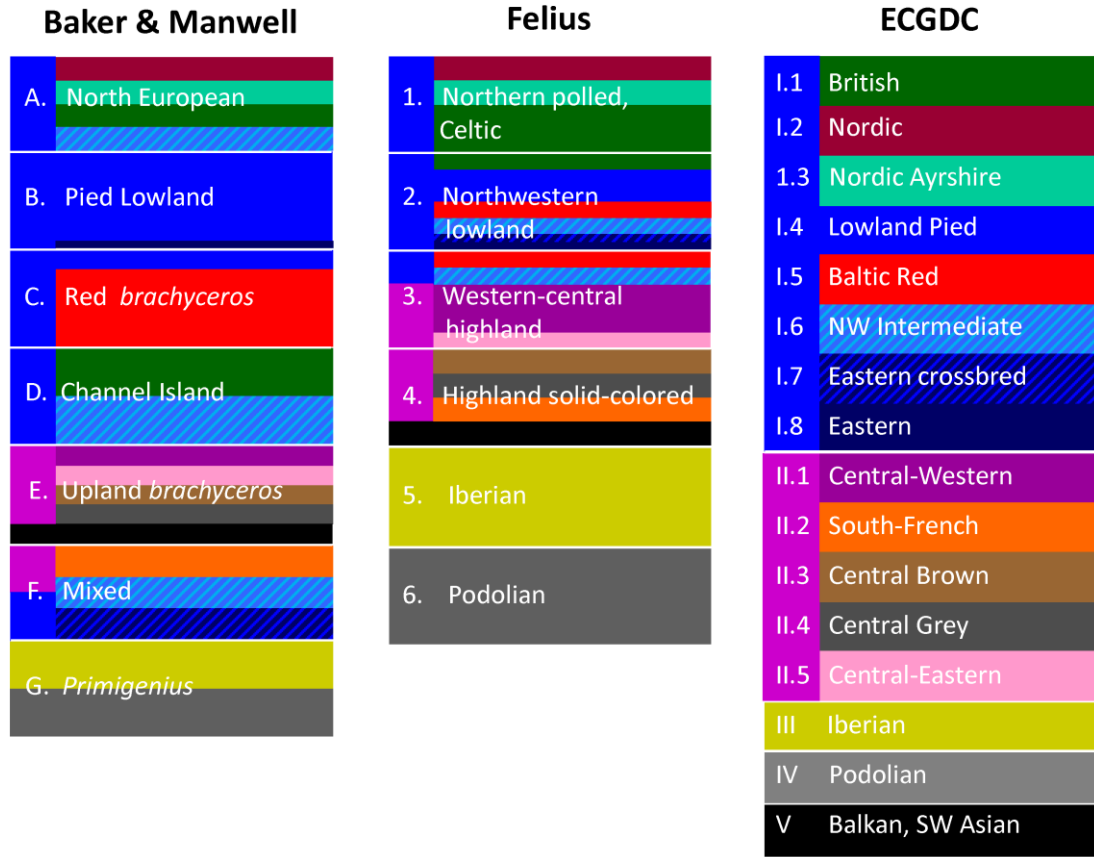


Şekil 1.1 Sığırların Asya'dan Afrika ve Avrupa'ya göç yolları

(Harita Google Maps'ten alınarak göç yolları üzerine çizilmiştir.)

<https://www.google.com/maps/@19.5270243,50.6357114,3z?hl=tr> Erişim tarihi : 02/04/2014

Genetik bulgular ışığında bu iki alt türün iki ayrı evciltme kaynağı olduğu düşünülmektedir. Hatta mtDNA analizleri bu ayrılmanın 200000 yıl önceye dayandığı ortaya koymaktadır (Loftus ve ark, 1994). İnsanların Dünya yüzeyinde göçleri ile, sığırlar Türkiye (*Bos taurus*) ve Pakistan'dan (*Bos indicus*) bütün Dünya'ya yayılmıştır (Beja-Pereira ve ark 2006, McTavish ve ark. 2013, Akiş ve Öztapak 2013). Şekil 1.1'de *Bos taurus* ve *Bos indicus* sığırların yayılım alanları harita üzerinde görülmektedir. 1 numaralı yayılım alanı *Bos taurus*, 2 numaralı yayılım alanı *Bos indicus* sığırların yayılım alanını göstermektedir.



Şekil 1.2: Avrupa sığırlarının sınıflandırılması
(Felius ve ark., 2011, şekil için sorumlu yazardan izin alınmıştır)

Felius, (1985) kapsamlı olarak Dünya'daki yabani sığır ve yerli sığırlar ile bunların melez formlarını sınıflandırmasını yapmıştır. İlk olarak morfolojik, coğrafik ve tarihsel verilere dayanarak, 16 ayrı grupta 470 sığırı sınıflandırmıştır. Coğrafi yayılıma özel ilgi göstermiş ve 1995 yılına gelindiğinde bu sayı 700'e ulaşmıştır (Felius, 1995). Bu üç sınıflandırma kriterinden coğrafik yayılma en önemlisidir. Bu sayede, birbirinden bağımsız olarak yayılan sığırlar kıtasal orijinlerine göre sınıflandırılmıştır. Ancak istisnai olarak farklı bölgelerde aynı sığır ırkları görülebilmektedir. Örneğin, Podolian step sığırı Güney-Doğu Avrupa'da yayılma alanı bulurken, aynı zamanda Türkiye'ninde içinde bulunduğu Batı Asya'da da görülmektedir (Felius ve ark., 2011).

Alderson, Avrupa sığırlarını Podalilik, Kuzey Avrupa, Orta Avrupa ve Batı Avrupa olmak üzere 4 gruba ayırmıştır (Alderson, L. 1992). Şekil 1.2'de Baker ve

Manwell (1980), Felius (1995) ve European Cattle Genetic Diversity Consortium (ECGDC) yaptıkları sınıflandırmalar görülmektedir. Bu sınıflandırmalarda, Boz ırk sığırlarında içinde bulunduğu grup Podolian grubundadır (Felius M. 2011).

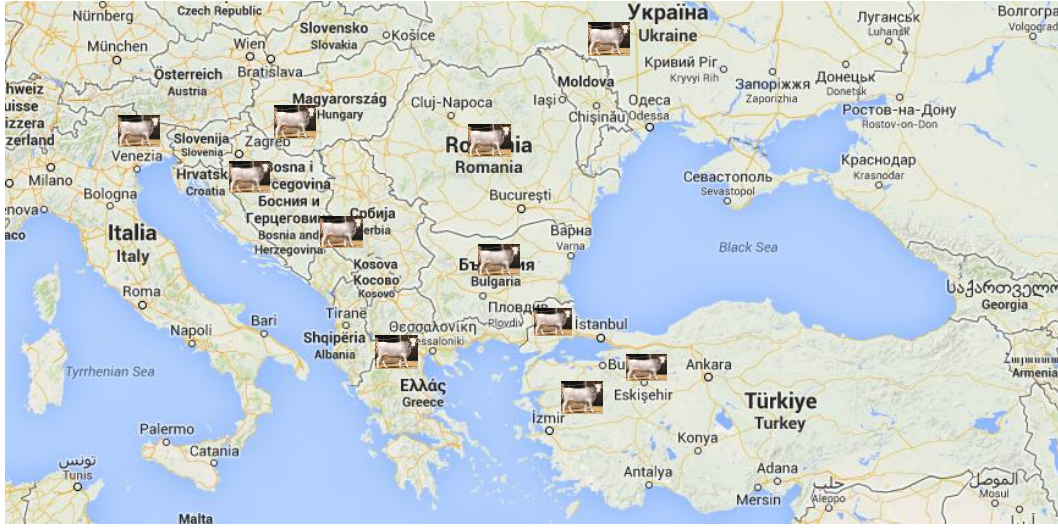
1.1 Boz ırk sığır ve özellikleri

1.1.1 Boz ırk sığırın kökeni ve yayılma alanı

Bos taurus primigenus'dan köken alan Boz ırk Anadolu ve Trakya'nın yerli ırkıdır (Şekil 1.3). Step sığırları ve Plevne sığırları olarak bilinen Boz ırk sığırları, uluslararası literatürde Anatolian Grey ve ya Turkish Grey olarak adlandırılmaktadır. Türkiye'de Sivrihisar'dan başlayıp Ege ve Marmara bölgesini kapsayacak şekilde yayılma alanı bulur (Alpan 2012).

Boz ırkın kökeni, Balkanlar ve Türkiye, Macaristan ve İtalya'nın güney ve batısından yayılarak Ukrayna steplerine dayanmaktadır. Hırvatistan'da Podolian sığırları, Trol Grisinden köken alan Dalmaçya sığırları ve Romangola'dan köken alan Yugoslavian Istran sığırları gibi lokal ırkları da mevcuttur. Aynı grupta Balkanların Sykia olarak bilinen Boz ırkın küçük varyetiside mevcuttur. Macaristan step grisi Maremma ve Yugoslavian Podolian çaprazlamasından, Maremma ise Chianna ile Chaorally'in çaprazlamasından oluşmuştur. Romagnola Chianna, Regianna ve Maremma'dan köken alan; Iskar Grey (Bulgaristan), Istriyan, Dalmatian Grey, Slovenian podolian (Hırvatistan), Katerin, Sykia (Yunanistan), Hungarian Grey (Macaristan), Cinisara, MareManna, Podolicia (İtalya), Romanian steppe (Romanya), Turkish Grey, Boz Steppe veya Plevne (Türkiye), Ukrainian Grey (Ukrayna), Istriyan (Yugoslavya) gibi benzer ırklar bilinmektedir (Kök 2006). Şekil

1.3'te Boz ırk sığırların Türkiye ve Balkan ülkelerinde yayılım alanları görülmektedir. Haritada üzerinde resim olan alanlar Boz ırk sığırların Türkiye'deki yayılım alanını ile yine üzerinde resim olan ülkeler Boz ırk sığırların yayılım alanı bulunduğu ülkeleri göstermektedir.



Şekil 1.3: Boz ırk sığırın Türkiye ve Balkan ülkelerindeki yayılım alanı

(Harita Google Maps’ alınarak yayılma alanları üzerine resimler konularak oluşturulmuştur.)

<https://www.google.com/maps/@37.7739404,29.6174924,1349929m/data=!3m1!>

[1e3](#) Erişim tarihi: 02/04/2014

Türkiye’de yerli ırk sığır ve yerel tiplerin bulunmasına rağmen bunlardan 14 tanesi yakın geçmişte yok olmuştur. Günümüzde varolan yerli sığır ırkları ise, yok olma tehdidi altındadır (Ertuğrul M., 2000, Özşensoy Y. 2010). Yapılan birçok çalışmada gününüzde varolan Türkiye yerli sığır ırklarından Güney Anadolu Kırmızısı, Yerli Kara, Boz Irk, Yerli Güney Sarısı, Doğu Anadolu Kırmızısı ve Zavot sığırının kendi aralarında ve Avrupa, Asya, Orta Doğu bölgelerinden sığır ırkları ile birlikte çizilen NJ ağaçlarında Güney Anadolu Kırmızısı, Doğu Anadolu Kırmızısı ve Yerli Kara birbirine daha yakın olarak yerleşmiştir. Ancak, Boz ırk, Güney Anadolu Kırmızısı, Doğu Anadolu Kırmızısı ve Yerli Kara grubuna daha yakın olmak üzere Anadolu’nun yerli ırkları ile Avrupa kökenli ırklar arasında bulunmaktadır. (Loftus ve ark. 1999, Cymbron ve ark. 2005, Özşensoy ve ark

2010). Nitekim daha öncede belirtildiği gibi tipik bir step sığırı olan Boz Irkın, Anadolu'ya Trakya'dan getirildiğine inanılmaktadır. Bulgaristan, Romanya ve Yunanistan'da da benzer sığırlar yetiştirildiği için bazı kaynaklarda Balkan Bölgesinin ortak yerli bir ırkı olarak kabul edilmektedir (Alpan, 2012)

Türkiye yerli ırkları üzerine yapılan çeşitli çalışmalarda bulunan allel sayılarının, Avrupa, Afrika ve Hindistan kökenli sığır ırkları kullanılarak yapılan çalışmalara göre daha yüksek bulunmuştur. Dolayısıyla, Türkiye'de yetiştirilen ırkların daha yüksek genetik çeşitliğe sahip olduğu görülmektedir. Farklı markör sistemleri kullanılarak yapılan moleküler analizler sonucunda, Anadolu-Ortadoğu bölgesine ait sığır ırklarının, Avrupa, Hindistan ve Afrika'da yetiştirilen sığır ırklarına göre daha fazla genetik çeşitliliğe sahip olduğunu ve Ortadoğu'dan Avrupa'ya doğru genetik çeşitliliğin göreceli azaldığı bildirilmiştir. Bu çalışmalarda, Boz ırkta gözlenen allel sayısının Güney Anadolu Kırmızısı, Yerli Güney Sarısı ve Yerli Kara ırklarına göre daha düşük olması, evcilleşme merkezinden uzaklaşmanın bir sonucu olabileceği düşünülmektedir (Altınalan A, 2005.,Cymbron T., 2005, Martin-Burriel I., 1999, LoftusR.T., 1999, Özkan E., 2005, European Cattle Genetic Diversity Consortium., 2006).

1.1.2 Boz ırk sığırın fiziksel ve verim özellikleri

Boz ırk sığır, yerli ırk sığırlar arasında vucut konstitüsü ve kemik yapısı ile belirgin bir şekilde ayrılmaktadır. Et, süt ve özellikle iş gücünden faydalanılmasından dolayı kombine verim yönlü bir ırktır. Tablo 1.1'de boz ırk sığırın morfolojik özellikleri verilmiştir. Açık gümüş renginden koyu kül rengine kadar değişimi görülmesine rağmen açık renk daha çok görülmektedir. Boğaları daha koyu renklidir ve göz çevresinde siyah bir halka vardır. Kulak içleri koyu kıllarla kaplıdır. Merme, tırnaklar ve boynuz uçları koyu renklidir. Boynuzlar uzun ve bir miktar kabadır ve önce öne sonrasında yukarı doğru uzanır. (Alpan O. 2012)

Tablo 1.1: Boz ırk sığırın özellikleri

Türü	Sığır (Bos taurus)					
İrki	Boz ırk.					
Uluslararası adı	Anatolian Grey, Turkish Grey, Grey Steppe					
Yerel Adı/Adları	Boz, Step Sığırı, Plevne Sığırı.					
Yayıma Alanı	Trakya, Güney Marmara, Kuzey Ege ve Orta Anadolu'nun Batısı.					
Verim Yönü	Et , süt ve İşgücü					
	SÜT VERİM ÖZELLİKLERİ					
	Min.	Max.	Ort.			
Laktasyon Süresi, gün	78.0	350.0	220.13			
Laktasyon Dönemi Süt Verimi, kg	157.0	2965.0	1095.63			
Süt Yağı, %	2.5	6.12	3.93			
	ET VERİM ÖZELLİKLERİ					
	Erkek			Dişi		
	Min.	Max.	Ort.	Min.	Max.	Ort
Doğum Ağırlığı, kg	13.0	37.0	24.04	13.0	29.0	22.37
6 Aylık Canlı Ağırlık, kg	112.0	196.0	158.32	81.0	145.0	117.0
12 Aylık Canlı Ağırlık, kg	160.0	370.0	291.99	140.0	190.0	167.0
24 Aylık Canlı Ağırlık, kg	224.0	410.0	307.0	210.0	290.0	252.0
Ergin Canlı Ağırlığı, kg	449.0	490.0	470.0	247.0	550.0	375.07
Karkas Randımanı, %			57.39			

(http://www.turkvet.biz/bilgi_dosyalar/arsiv/yet_yerli_irkklar.htm) Erişim tarihi:

03/04/2014

Şekil 1.4, 1.5, 1.6 ve 1.7'deki resimler çalışmaya konu olan Bandırma Araştırma İstasyonu'nda bulunan, kan örneklerini aldığımız Boz ırka ait sürüde yer alan sığırlardan çekilerek tezde yer verilmiştir.



Şekil 1.4: Boz ırk boğa fotoğrafı



Şekil 1.5: Boz ırk inek fotoğrafı



Şekil 1.6: Boz ırk buzağı fotoğrafı

Şekil 1.4 ve şekil 1.5'te görüldüğü gibi boğalar ineklere göre daha koyu renklidir ve göz çevresinde siyah bir halka vardır. Yine şekil 1.5'te görüldüğü gibi genç hayvanlar yaşlı olanlara göre daha açık renklidir. Sağrının kuyruk sokumuna yakın kısmı oldukça dardır. Bu yüzden üstten bakıldığında üçgen şeklinde görünür. Erkeklerde vücut önden arkaya doğru daralır. Sağrı cidagoya göre daha yüksektir. Boz ırkın cidago yüksekliği 120 cm. ve vücut ağırlığı 300 kg civarındadır. Boz ırk geç gelişen bir ırktır. İlkine doğurma yaşı 3-4 yaş civarındadır. Besleme şartlarına bağlı olarak %4 yağlı 1000 lt. civarında süt vermektedir. Laktasyon süresi ortalama 220 gündür.



Şekil 1.7: Boz ırk sığır sürü fotoğrafı

Step iklimin iyi adapte olan ve zor çevre koşullarına karşı dayanıklı olan Boz ırk kaba yemleri değerlendirme gücü yüksektir. Ancak döl verimi diğer yerli ırklara göre düşüktür (Alpan O. 2012). Çok iyi sürü içgüdüğü olmasına rağmen asabi yapısı nedeni ile sevk ve idaresi son derece zor olan bir ırktır. Buna rağmen, gelişmiş sindirim sisteminin düşük kalitedeki yemleri iyi değerlendirebilmesi önemli özelliğidir.

Diğer yerli ırk sığırlara göre daha iyi besi performansı göstermektedir. Ortalama 600-1000 gr. arasında günlük canlı ağırlık artışı gösterebilmektedir. Ani yem değişikliklerine dayanıklıdırlar. Oldukça gelişmiş bir sindirim sistemine sahiptirler. Düşük kalitedeki yemleri değerlendirebilirler. Her türlü olumsuz doğa şartlarına ve yetersiz beslenmeye dayanıklıdırlar. Doğada hiçbir insan müdahalesi olmadan yaşama, beslenme ve üreme yeteneğine sahiptirler. Güçlü ve sert tırnaklara sahiptirler. İklim uyma kabiliyeti çok yüksektir. Hastalık ve zararlılara karşı oldukça dayanıklıdırlar, hastalandıkları takdirde çok hızlı iyileşirler. Zor çevre şartlarına uyumu dayanıklı olmasını sağlamıştır. Nitekim hastalıklara ve zararlılara karşı direnci yüksektir (Ün C ve ark. 2008).

1.2 Kantitatif özellikli lokus (Quantitative Trait Locus-QTL) ve Marker Destekli Seleksiyon (Marker Assisted Selection-MAS)

Moleküler genetik teknikleri sayesinde, çeşitli lokuslardaki genetik varyasyonun tanımlanması ve QTL (Quantitative Trait Locus-Kantitatif özellikli lokus)'deki varyasyonla verim özellikleri arasındaki ilişkilerin incelenmesine imkanlar sağlamaktadır. Bu sayede, seleksiyonun temel amacı olan hayvanın genetik değerini daha yüksek bir doğrulukla tahmin etmek ve bunun sonucu olarak seleksiyonla elde edilen genetik kazanımlar artırmaktadır. Bu alanda yapılan birçok araştırmada, fenotiple ilişkili fizyolojik olayları etkileyen genlerdeki varyasyonların, ilgili fenotipteki kantitatif varyasyonlara etki edebileceği ifade edilmiştir (Tambasco, 2003, Özdemir, 2008).

Markör destekli seleksiyon (MAS-Marker Asisted Selection); genetik belirleyicilerin veya verimlilik, hastalığa karşı direnç, abiyotik strese karşı tolerans ve kalite (et ve süt kalitesi) gibi konularla ilişkili genetik belirleyicilerin dolaylı seleksiyonu için morfolojik, biyokimyasal veya DNA/RNA varyasyonlarına dayalı markörlerin kullanımını içeren bir süreç olarak ifade edilebilir. Polimorfizm gösteren markörler; markör allel frekanslarındaki

farklılıklar ile ele alınan verim özelliği arasında bir korelasyon aramak şeklinde araştırılmaktadır. Günümüz moleküler genetik teknolojileri, yüksek verimli hayvanların belirlenmesi için üzerinde durulan özelliklerle yüksek bir korelasyon gösteren, erken dönemlerde ve cinsiyete bağlı kalmaksızın tespit edilebilen genetik markör yada karakterlerden yararlanmayı mümkün hale getirmektedir (Özdemir, 2008). 1980'lerde moleküler işaretleyici teknolojisinin gelişi, kantitatif genetik çalışmalar için yeni bir dönem açmış ve özellikle ıslah programlarında kullanımı büyük ilgi uyandırmıştır. Polijenik özellikler için yapay seleksiyonun içine marker bilgileri entegre edilerek, MAS sistemi geliştirilmiştir (Pengyuan, 2003).

Süt verim özellikleri süt sığırı için önemli kantitatif özellikleri vardır. QTL haritalamanın temel amacı, kantitatif özelliklerin fizyolojik ve biyokimyasal rolleri daha iyi anlamak ve bizim genetik iyileştirme konusunda daha hızlı ve doğru karar verebilmemi için, bu özelliklerin temelinde yatan genleri tespit etmektir (Hu, 2010). Kantitatif karakter lokus (QTL) çalışmalarının en temel hedeflerinden biri Marker destekli seleksiyon (MAS) ile ıslah programlarında uygulanabilecek genleri bulmaktır (Khatkar ve ark., 2004).

Moleküler biyoloji ve biyoteknoloji alanındaki son gelişmeler, geleneksel damızlık seçimi ve genetik değerlendirme yöntemlerinin içine moleküler bilgileri dahil ederek, hayvan popülasyonları içinde söz konusu verim yönünden yapılacak seçimin doğruluklarını geliştirmek için büyük fırsatlar sunmaktadır. DNA her yaş ve her cinsiyette tespit edilebildiği için, moleküler genetik kantitatif seçim konusunda sınırlandırmaları önemli ölçüde engelleyebilmektedir (Dekkers ve Hospital, 2002).

Ayrıca, genetik verilerin modellenmesinde kullanılan istatistiksel ve matematik alanındaki gelişmeler, genetik seçim sürecinde moleküler bilginin en doğru kullanımı konusunda büyük fayda sağlamaktadır (Kinghorn ve ark., 1994, Bovenhuis ve ark., 1997; Hoeschele ve ark., 1997). Bu alandaki gelişmeler,

özellikle ekonomik açıdan öneme sahip kantitatif özelliklerin genetik varyasyonlarının tespitini sağlamaya yardımcı olmaktadır (Kolbehdari, 2009).

Sığırlarda genom analizlerine yönelik yoğun çalışmalar 19.yy'ın başlarına kadar dayanmaktadır. Moleküler biyoloji alanındaki gelişmeler sayesinde, 1990'lı yıllara gelindiğinde, sığır genomunu tanımaya yönelik çalışmalar hızlanmıştır. çalışmalar hız kazanmıştır (Fries ve ark., 1993, Georges ve ark., 1995). Bu ilk çalışmadan bu yana, süt sığırlarında üretim özelliklerinin ilgilendiren genomik bölgeleri tanımlamak için, birçok genom taramaları ve iyi genom haritalama projeleri gerçekleştirilmiştir. Bu projelerin en önemlilerinden biri, 1990'lı yıllarda BovMap olarak bilinen Avrupa Sığır Genom Haritası projesi (Smaragdov 2006, Elmacı ve Öner, 2007), bir diğeri IB BMC (International Bovine BAC-Bacterial Artificial Chromosome Mapping Consortium) projesidir (Snelling ve ark., 2007).

Sunulan çok sayıda bildiride, süt sığırları için kantitatif özellikleri etkileyen birçok lokus rapor edilmiştir. Potansiyel aday genleri içeren bu lokuslar, QTL alanları olarak özel öneme sahiptir. Süt üretimi, üreme, fonksiyonel ve uyum özellikleri için, çeşitli QTL ve aday genler *Bos taurus* otozomlarında tarif edilmiş ve birçok çalışmada bu bölgeler haritalanmıştır (Boichard ve ark 2003, Viitala ve ark 2003, Ashwell ve ark 2004, Schrooten ve ark 2004, Schnabel et al 2005, Kolbehdari, 2009). Kappa-kazein geni süt verimi ve bileşenleri için bir aday gen olarak kabul edilir (Jann ve ark 2004, Wedholm et al 2006).

Moleküler markörler, genomda herhangi bir gen bölgesi ya da gen bölgesi ile ilişkili DNA parçasıdır. Bu markörler, kesilen parça uzunluğu polimorfizmi (RFLP) ve rastgele çoğaltılan polimorfik DNA markörleri (RAPD), çoğaltılan parça uzunluğu polimorfizmi (AFLP), mikrosatellitler (SSR), Moleküler dizisi etiketlenmiş sekanslar (STS), bölünerek çoğaltılmış polimorfik dizi (CAPS), tek iplik tamamlama polimorfizmi (SSCP), amplikon uzunluk polimorfizmi (ALP), basit sekans tekrarlamaları arası polimorfizm (ISSR), ifade edilmiş dizi etiketleri (EST) ve tek nükleotid polimorfizmi (SNP), major gen analizi, bağlantı dengeziliği bağlantı analizi (LDLA), dizi analizi (SA), moleküler genom haritalama gibi farklı teknikler ile tespit edilebilmektedir (Staub ve ark., 1996;

Ridout ve Donini, 1999, Devran Z. 2003, Elmacı ve Öner 2007, Hu, 2010, Özşensoy ve Kurar, 2012)

Birçok türün karmaşık özellikleri için QTL alanlarının belirlenmesinde en yaygın olarak kullanılan yöntemlerden birisi Tek nokta polimorfizmleridir (SNP). Tek nokta polimorfizmleridir (SNP-Single nucleotide polymorphism) genom üzerindeki herhangi bir bölgesinde tek nükleotid dizilim farklılığı olarak ifade edilebilir (Wang ve ark, 1998). SNPlar genomdaki DNA varyasyonun en bol şeklidir ve mutasyonları belirleme, genotiplendirme kolaylığı ve düşük maliyeti nedeni ile en çok tercih edilen genetik marker belirleme yöntemlerinden biridir (Hinds et al 2005, Snelling ve arkadaşları 2005, Daw ve ark. 2005).

Sığır genomunda en önemli çalışma sığır genom projesi (Bovine Genom Project: <http://www.hgsc.bcm.tmc.edu/projects/bovine>) ile bütün sığır genomu üzerinde 2300000 SNP bildirilmiştir. Bu veriler sayesinde, bütün sığır genomunu kapsayan SNP markerleri tanımlama, doğrulama ve genetik varyasyonların analizinde kullanılabilir (Kolbehdari, 2009).

Dizi analizi her bir birey için, hedef gen bölgesindeki tek bir nükleotid değişikliğinin bile tespit edilebilmesi yönünden büyük önem sahiptir. Hatta tek bir birey için SNP ve mutasyonları tespit ederek bireysel farklılıkları ortaya koymak mümkün olmaktadır.

Geleneksel seleksiyon yöntemi, genetik ilerleme hızı sığır, koyun, keçi gibi uzun generasyon aralığına sahip olan hayvanlar için oldukça yavaş olmaktadır. Geleneksel seleksiyon metodları ile birlikte kullanılan MAS, generasyon aralığını kısaltarak, genetik ilerlemeyi hızlandırmakta ve doğru yönde ilerleme sağlayarak karmaşık özellikler için çok etkili olabilmektedir (Drogemuller ve ark., 2001). Yapılan birçok araştırma, markör destekli seleksiyon ile çiftlik hayvanlarında genetik kazanç oranının önemli ölçüde arttırılabileceğini

belirtilmiştir. Bu oran %15-30'dan (Kashi,1990), modele bağlı olarak değişmekle birlikte neredeyse %100'e kadar değişebileceğini tahmin edilmektedir (Edwards,1994). Markör destekli seleksiyon ile birlikte ileri üreme teknikleri kullanarak sığırlarda generasyon aralığını 69'dan 45 aya kadar kısalttığını bildirmişlerdir (Bishop, 1995, Özdemir, 2008). Çalışmalardan da anlaşılacağı üzere bilinen seleksiyon yöntemlerine ilave olarak MAS'a yer verilmeli ve bu amaçla yapılacak çalışmalarla genlerin seleksiyona katkısı desteklenmeli ve mevcut seleksiyon yöntemi içerisinde MAS payının ne kadar önemli olabileceği gözönünde tutulmalıdır. Nitekim günümüzde bazı firmalar geliştirdikleri et, süt ve diğer verim yönlerine yönelik ticari gen markerleri üretimi söz konusudur (Elmacı ve Öner 2007).

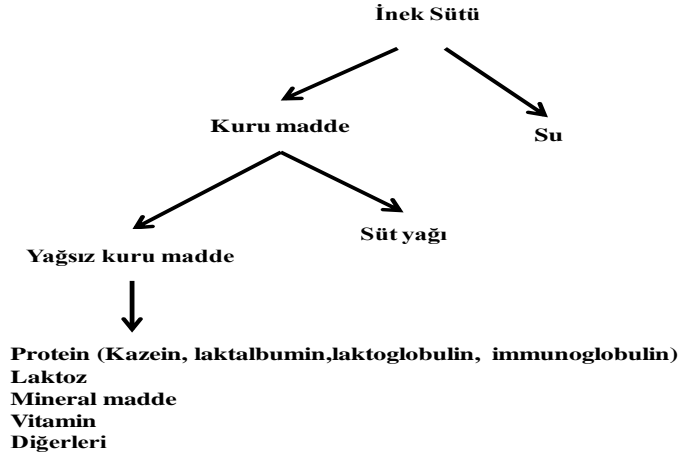
1.3 Sütün tanımı ve bileşimi

Metin (1996) sütü şu şekilde tanımlamaktadır;

“Süt; dişi memeli hayvanların yeni doğdukları yavrularını besleyebilmek üzere, süt bezlerinde hayvan türlerine göre farklı sürelerde salgılanan, içinde yavrunun kendi kendine besleyebilecek bir duruma gelinceye kadar almak zorunda olduğu tüm besin maddelerini gerekli oranda bulunduran porselen beyazı (beyaz-krem) renginde, kendine has tat ve kokusu olan bir sıvıdır”

Tanımdan da anlaşılacağı üzere, sütün temel fonksiyonu, yeni doğan yavrunun hayatta kalabilmesi, gelişebilmesi ve dış etkilere karşı kendini koruyabilmesi için gerekli besin maddelerin alınmasını sağlamaktır. Süt hayatlarının ilk döneminde memeliler için besin önemli bir kaynağıdır. (Rijnkels 2002, Otaviano ve ark 2005). Su, protein, karbonhidrat ve yağ gibi makro bileşenlerin yanında sütün yapısında, yaşam için önemli olan vitamin ve mineral maddeler gibi mikro bileşenlerde bulundurmaktadır. Yapılan araştırmalar sonucu bugünkü bilgiler ışığında memeden sağılan süt içinde 200 civarında madde tespit

edilmiştir. Buda bize sütün ne kadar karmaşık ve fonksiyonel bir madde olduğunu göstermektedir (Metin, 1996).



Şekil 1.8: İnek sütünün bileşimi (Demir 1999, Metin, 1996, Üçüncü 2005).

Şekil 1.8 de inek sütünün bileşimi verilmiştir. Ancak ırk özellikleri başta olmak üzere çeşitli faktörlerin etkisi altında bu bileşenlerin oranları değişebilmektedir. İnek sütünün kuru maddesi %10.5-14.5, yağ oranı %2.5-7.0, laktoz oranı %3.6-5.5, protein oranı %2.9-5.0 ve mineral madde oranı %0.6-0.9 arasında değişebilmektedir. Yine çizelgeye bakıldığında toplam kuru maddenin %27'si azotlu maddeler, %29'u süt yağı, %37'si laktozdan oluşmaktadır (Demir 1999, Metin, 1996, Üçüncü 2005).

Sütün miktar ve bileşimini etkileyen faktörler (Üçüncü, 2005) :

1. Hayvan ırkının etkisi
2. Hayvanın yaşının etkisi
3. Kalıtım ve yaşının etkisi
4. Sıcaklık, hava nemi ve ışığın etkisi
5. Mevsimin etkisi
6. Laktasyonun etkisi
7. Meme dilimlerin etkisi
8. Hareketin etkisi
9. Sağım sayısı ve süresinin etkisi

10. Yemin etkisi

11. Hastalıklar ve mastitisin etkisi

1.4 Süt proteinleri

Büyükbaş hayvan sütleri, süt üretimi ve işlevsel özelliklerinde belirgin farkı ile karakterize edilen birçok durumda, protein farklı varyantları içerir (FitzGerald ve Hill, 1997). Süt proteinleri çok karmaşık yapıda ve 30'dan fazla fraksiyonu olan bir protein grubudur. Süt proteinleri sınıflandırmak çok kolay değildir. Bu nedenle sınıflandırma yapılırken genelde ayrılma sıralarına göre, yani fraksiyonlarına göre sınıflandırma yapılmaktadır. Genel olarak süt proteinlerini 2 gruba ayrılmaktadır (Metin, 1996).

Süt proteinleri kazeinler (α S₁, α S₂, β ve κ -kazein) ve serum proteinleri (β -LG, α -LA) olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Kazeinler tipik süt proteini olup, doğal olarak sadece sütte bulunur. Kazein süt içinde koloidal yapıda bulunur. Asit gelişimi, asit ilavesi veya peynir mayası ilavesi ile koagüle olmaktadır. Kazein çöktükten sonra çözelti içinde kalan proteinlere "serum proteinleri" veya "peynir altı suyu proteinleri" denilmektedir. Serum proteinlerinin yarı doymuş amonyum sülfat veya doymuş magnezyum sülfat ile çöktürüldüğünde iki fraksiyona ayrılır. Çözünür olan kısmına albuminler (laktalbumin) ve çözünmeyen kısmına globulin (laktoglobulin) denilmektedir. İmmunoglobulinler normal süt içinde, çok düşük oranda iken, kolostrum (ağı sütü) içinde en çok bulunan proteindir. İmmunoglobulinler yeni doğan yavrunun bağışıklık sisteminin gelişmesi için önemlidir (Metin, 1996, Üçüncü 2005).

1.4.1 Kazein proteini ve özellikleri

Kazeinler meme bezlerinden salgılanır ve toplam süt proteinlerinin yaklaşık %80'lik kısmı kazein formundadır (Eigel ve ark., 1984, Koczan ve ark. 1991, Mercier ve Viloite, 1993, Ginger 1999, Kaygısız ve Doğan 1999, Farrell 2004, Caroli 2004, Jann ve ark 2004, Fox ve Brodkorb 2008, Braunschweig 2008, Azevedo, 2008). Kazein başlangıçta homojen bir madde olarak kabul ediyordu. Lindstrom-Lang ve arkadaşlarının 1925 yılında yaptıkları çalışmada, ilk olarak kazeinin kalsiyuma göstermiş olduğu hassasiyete bağlı olarak, iki farklı fraksiyonun olduğunu ortaya koymuştur. Daha sonra elektroforez tekniği kullanılmaya başladığında, süt sığırlarında kazeinin α , β ve κ olmak üzere üç formu tespit edilmiştir. Elektroforez tekniğinin zaman içinde gelişmesi ile kazeinin α_{S1} , α_{S2} gibi çeşitlerinin bulunmasına olanak sağlamıştır. 1970-80'li yıllara gelindiğinde moleküler biyoloji alanındaki gelişmeler, elektroforez ile tanımlanan kazein proteinin sentezleyen gen ve işleyişi ortaya konmuştur. 1984 yılına gelindiğinde American Dairy Science Association Committee on Nomenclature and Classification tarafından sığır kazeinin α_{S1} , α_{S2} , β ve κ olmak üzere 4 kazein fraksiyonu tanımlanmıştır (Ng-Kwai Hang 1992, Ginger 1999)

Kazein, ısı ve mekanik etkilere karşı dayanıklı olmasına karşın, uzun süre soğukta muhafazadan etkilenmektedir. Bu durum süte ısı işlem uygulanması sırasında kazeinin zarar görmemesi pastörize süt ve ürünleri elde edilmesini kolaylaştırmaktadır. Kazeinin fraksiyonlarına göre değişmekle birlikte, kazeinin toplam izoelektrik noktası pH 4.6-4.7'dir. Yapısında hem asit (-COOH), hem baz (NH_2) grupları bulundurduğu için amfoter özelliktedir. Bu sayede anorganik asit ve alkalilerle çökelti oluşturabilmektedir. Alkole karşı hassastır. Sütün asitliği arttıkça pıhtılaşma için gerekli alkol miktarı azalmaktadır. Buda sanayide süt kalitesini belirlemede kolaylık sağlaması nedeni ile "alkol testi" olarak yer almaktadır. Kazeinin en önemli özelliklerinden birisi ağır metalleri bağlamasıdır. Bu özelliği nedeni ile zehirli maddelerle çalışanların süt ve yoğurt tüketerek korunabilir. Yani panzehir görevi görmektedir (Metin, 1996).

Birçok kimyasal tepkimeye girerek kazein, koagüle olarak pıhtılaşır. Süt teknolojisinde karakteristik olan; asit etkisiyle, proteolitik enzim etkisi ve hidrokolloidlerin etkisi ile pıhtılaşma önemli yer etmektedir. Bu sayede, yoğurt ve peynir başta olmak üzere birçok süt ürünü elde edilebilmektedir.

1.4.2 Kappa-kazein proteini ve fonksiyonel özellikleri

Kazein misellerinin en stabil komponenti olan kappa-kazein toplam kazeinin %12'ini oluşturur (Fox ve Brodtkorb, 2008, Botaro, 2009) ve 169 amino asitten oluşan bir gliko-proteindir (Threadgill ve Womack 1990). Yapısına bakıldığında, karbonhidrat içermeyen büyük bir komponent ile 6 minor bileşenden oluşmaktadır. 6 minör bileşende, fosforilasyon ve glikosilasyon değişen derecelerde temsil edilir (Mackinlay ve Wake R, 1965, Woychik ve ark 1966, Vreeman ve ark1977, Farrell ve ark. 2004) ve 2-merkaptoetanol ile üre PAGE ile tespit edilir. Fosforilasyon kalsiyuma hassas bölgelerden ziyade, molekülün C-terminal bölgesinde sınırlıdır. Glikosilasyon C-terminal kısmında ile serin ve treonin kalıntıları arasında *o*-glikosidik bağlantılar ile kappa-kazeine bağlanır (Jolle`s 1979, Mercier 1993, Ginger 1999).

Kappa-kazein proteininin temel yapısını (κ -CN-1P) karakterize eden karbonhidrat içermeyen majör bileşenidir. Yapısına bakıldığında sırasıyla; Asp₄, Asn₈, Thr₁₅, Ser₁₂, Ser P₁, Pyroglu₁, Glu₁₂, Gln₁₄, Pro₂₀, Gly₂,Ala₁₄,Cys₂, Val₁₁, Met₂, Ile₁₂, Leu₈, Tyr₉, Phe₄, Lys₉, His₃, Trp₁ve Arg₅, amino asitlerinden oluşmaktadır (Farrellve ark. 2004, Hurley 2012). Molekül ağırlığı yaklaşık 19.2 kDa civarındadır (Threadgill ve Womack 1990).

Kappa-kazein proteininin yapısı ve özellikleri itibari ile diğer kazeinlerden farklıdır. Diğer kazeinler gibi, yapısal ve işlevsel olarak homolog γ zincir yapısı fibrinojen şeklinde benzer özellikler gösterir iken, süt yapısında ve kazein misel

yapısının oluşumu sırasında süt stabilitesinin korunması bir istikrar unsuru oluşturmaktadır (Fiat ve ark 1989).

Kappa-kazein kalsiyuma karşı duyarlı değildir. Bu durum, kappa-kazein misellerinin Ca^{++} iyonlarına karşı stabil olmasına ve bu sayede kazein misellerinin süt içinde kolloidal durumlarının korunmasını sağlamaktadır. Zor çözünen ve kalsiyuma karşı hassas olan misellerin dış yüzeyinde yer alarak, küre şeklindeki kazein miselini çevresinde kılıf gibi sarıp, bütün özelliklerini yansıtmaktadır. Kazein miselinin nispeten hidrofobik olan dış yüzeyine, kappa-kazeinin hidrofobik olan para- κ -kazein tarafı sarılır. Kappa-kazeinin hidrofilik olan glikomakropeptid olan kısmı genellikle polar amino asitler ve karbonhidrat ile birlikte miseli sulu faza çevirir. Bu durum miseli kimyasal yolla birhidrat kılıfı oluşmasına ve sonuç olarak miselin çözelti içinde kalmasını sağlamaktadır. Glikomakropeptid içinde yer alan polar aminasitler (Glu, Asp, Lys) miselin dış yüzeyinde aynı yükte elektrik ile yüklenmesini sağlar. Aynı yüke sahip miseller birbirini iterek miselin süt içinde kolloidal yapı kazanmasını sağlar. Bu durum, misellerin bir araya gelmesine engel olarak koagülasyonu önlemektedir (Metin, 1996).

Kappa-kazein, peynir mayası (rennin enzimi) ile pıhtılaşabilen tek kazeindir. Peynir mayası, kappa-kazeini peptid zincirinde 105-106. sırada yer alan Phe-Met bağlantısını parçalayarak para- κ -kazein (N-terminal peptid) ve glikomakropeptid veya mikropreptidin (C-terminal parça) olmak üzere iki parçaya ayrılır (Delfour 1965, Jolle`s 1968, Mercier 1993, Farrell 2004). Bu durum, türlerin kökenine göre kappa-kazeinin 2 gruba ayırmaktadır. İnek, koyun, keçi ve mandanın içinde bulunduğu 1. grub kappa-kazein hidrofobik, karbonhidrat içeriği, amino asit kompozisyonu ve proteolitik bölünme noktası yönünden fare, domuz ve insanın içinde bulunduğu 2. grup kappa-kazeinden ayrılır. 1. Grup kappa-kazein Phe-Met bağından bölünür iken, 2. grup kappa-kazeinde bölünme Phe-İle ya da Phe-Leu bağında gerçekleşmektedir (Nakhasi 1984). Glikomakropeptid içinde galaktoz, N-asetilgalaktozamin, N-asetilnöramin ile karboksil gruplarının önemli bir bölümünü içeren karbonhidratlar bulunur. Kappa-kazein %12.5 gibi

yüksek miktarda prolin içermekte olup düzenli dağılım göstermektedir. Sistein, arginin, histidin ve aromatik aminoasitler içermez. Buna karşın, hidroksi aminoasit ve asit aminoasit içeriği çok yüksektir. Glikomakropeptit kısmındaki bu önemli farklar, kappa-kazeinin diğer kazeinlere oranla sıcaklığa karşı stabilitesinde açıklamaktadır (Metin, 1996).

1.4.3 Kazein proteinleri ve türevlerinin süt özellikleri üzerine etkisi

Süt proteinleri ve genetik varyantları üzerine yapılan çalışmalar yarım yüzyılı aşmıştır. Sığır β -laktoglobulinin ana türevlerinin tanımlanmasından bu güne (Aschaffenburg ve Drewy 1957, Jakob ve Puhan, 1992, Lin ve ark.,1992, Farrell 2004, Caroli 2009), özellikle son yıllarda genetik, moleküler biyoloji ve biyokimya alanlarındaki değişen ve gelişen deneysel çalışmalar sayesinde, süt proteinleri ve çeşitleri konusunda önemli derecede hız kazanmıştır (Dinç, 2009).

Sütte bulunan 6 ana süt proteinlerinin (α S₁, α S₂, β ve κ -kazein, β -LG ve α -LA), genetik varyantları olarak ifade edilen otozomal ve ko-dominant allelleri mevcuttur. Genetik varyantlar tek nükleotid polimorfizmine (SNP) neden olabildiği gibi, insersiyon ve delesyonlara da neden olabilir. İlgili genler üzerindeki bu polimorfik bölgeler proteinlerde bulunan amino asit değişikliğine neden olduğunda genetik varyant kabul edilse de, bazen sessiz mutasyonlara da rastlanabilmektedir. Farrell ve ark. (2004) tarafından süt proteinlerinin genetik varyantlarını derlemişler, Caroli ve ark. (2009) bunlara ilaveler yaparak yeniden düzenlemişlerdir (Farrell 2004, Caroli 2009). Buna göre; süt proteinleri ve genetik varyantları tablo 1.2' görülmektedir.

Tablo 1.2: Süt proteinleri ve genetik varyantları

α s1-kazein	A, B, C, D, E, F, G, H, I
α s2- kazein	A, B, C, D
β - kazein	A1, A2, A3, B, C, D, E, F, G, H1, H2, I
κ - kazein	A, A1, B, B2, C, D, E, F1, F2, G1, G2, H, I, J
β -Laktoglobulin	A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, W
α -Laktalbumin	A, B, C

Buna göre, altı ana süt proteinin toplamda 53 allel ifade edilmiştir. Belirlenen bu alleller, *B. taurus* (Taurin), *B. indicus* (Zebu), *B. grunniens* (Yak) ve *B. javanicus* (Malezya yerli sığırı) olmak üzere 4 sığır türünde belirlenmiştir (Caroli 2009).

Dünyanın farklı bölgelerinde, farklı sığır ırkları üzerinde çeşitli süt proteinleri polimorfizm çalışmaları yapılmıştır (Lien ve ark., 1999, Malik ve ark., 2000, Beja-Pereira ve ark., 2006, Jann ve ark., 2004, Ceriotti ve ark., 2004, Farrell 2004, Çardak ve ark. 2005, Comin ve ark 2008, Rachagani ve ark., 2008, Hallen ve ark., 2008, Heck ve ark., 2009, Caroli 2009). Bu çalışmaların temel amaçları; süt protein lokuslarının evrimsel tarihini belirlemek, farklı sığır tür ve ırkları arasındaki akrabalık ilişkilerini incelemek, zaman ve mekanın sığır popülasyonu içinde farklılıklarını gözlemek, sütün özellikleri (süt verimi ve sütün bileşimi süt ürünleri verimi ve kalitesi) ve genetik varyantları arasındaki ilişki, sığırların üreme ve adaptasyon yeteneği üzerine etkisini belirlemektir. Dahası, süt protein varyantları ile peynir verimi ve kalitesi gibi ondan elde edilen ürünlerine etkisi incelenmiştir (Formaggioni ve ark. 1999).

1.5 *κ-kazein* geni ve özellikleri

Sığır genomu 30 çift kromozomdan oluşmaktadır. Çeşitli çalışmalarda sığır genomunun 6. kromozomu (BTA6) üzerinde süt üretimi ve özelliklerini etkileyen QTL varlığı bildirilmektedir (Khatkar, 2004, Smaragdov 2006, Olsen 2005). *κ-kazein* genide sığır genomunun 6. kromozomunda (6q31) yer almaktadır (Ferretti 1990, Threadgill ve Womack 1990, Rijnkels 1992, Sulimova et al 2007; Azevedo ve ark 2008, Çardak 2005, Tsiaras 2005, Rachagani ve Gupta, 2008, Nilsen 2009). *κ*-geninin toplam uzunluğu yaklaşık 13 kb uzunluğunda olup, kappa-kazein proteinini kodlayan dizilerin çoğu 4. ekzonda yer almaktadır (Fiat ve Jolles, 1989).

κ-kazein geni beş ekson ve dört introndan oluşan bir gendir. Ekson dördte, yaklaşık 550 bp'lik bir bölgede, sığırlarda bu gen için bugüne kadar, A, A1, B, B2, C, D, E, F1, F2, G1, G2 H, I ve J olarak isimlendirilen 14 farklı varyantı tespit edilmiştir. (Sulimova ve ark 1996, Prinzenberg 1996, Soria2003, Farrell ve ark.,2004, Chen ve ark, 2008, Prinzenberg ve ark 2008, Caroli ve ark 2009,). Bunlardan A ve B, *κ*-kazein geninin temel allelleridir. Söz konusu alleller, kappa-kazein proteinin 136. Aminoasitinde Trozin(Thr)/İzolösin(İle), 148. aminoasitinde Asparjin(Asp)/Alanin(Ala) aminoasit değişikliği ile iki farklı şekilde görülmektedir (Alexander 1988, Ng-Kwai Hang 1992, Lin ve ark, 1992, FitzGerald 1997). Şekil 1.9'da sığır kappa kazein amino asit dizisi kappa kazein geninin A ve B allelleri görülmektedir.

1
 Glu Glu Gln Asn Gln Glu Gln Pro Ile Arg Cys Glu Lys Asp Glu Arg Phe Phe Ser Asp
 21 31
 Lys Ile Ala Lys Tyr Ile Pro Ile Gln Tyr Val Leu Ser Arg Tyr Pro Ser Tyr Gly Leu
 41 51
 Asn Tyr Tyr Gln Gln Lys Pro Val Ala Leu Ile Asn Asn Gln Phe Lue Pro Tyr Pro Tyr
 61 61
 Tyr Ala Lys Pro Ala Ala Val Arg Ser Pro Ala Gln Ile Leu Gln Trp Gln Val Leu Ser
 81 81
 Asp Thr Val Pro Ala Lys Ser Cys Gln Ala Gln Pro Thr Thr Met Ala Arg His Pro His
 101 105 106 111
 Pro His Leu Ser Phe Met Ala Ile Pro Pro Lys Lys Asn Gln Asp Lys Thr Glu Ile Pro
 121 131 Ile Variet B
 Thr Ile Asn Thr Ile Ala Ser Gly Glu Pro Thr Ser Thr Pro Thr Thr Glu Ala Val Glu
 141 Variet B Ala P 151
 Ser Thr Val Ala Thr Leu Glu Asp Ser Pro Glu Val Ile Glu Ser Pro Pro Glu Ile Asn
 161 169
 Thr Val Gln Val Thr Ser Thr Ala Val

Şekil 1.9: Sığır kappa kazein amino asit dizisi

Şekil 1,9'da κ -kazein A ve B allelleri için, 136. lokustaki Thr/Ile ve 148. lokustaki Ala/Asp amino asit değişimleri görülmektedir. Aynı zamanda, süt rennin enzimine maruz bırakıldığında, 105-106. amino asitteki Phe/Met bağı koparak süt stabilitesini kaybeder. Parçalanma sonunda suda çözünen gliko-makropeptit ve suda çözünmeyen para-kappa kazeinat olmak üzere ikiye ayrılır. Kappa kazein geninin genetik varyasyonları, kazein miselleri oluşumu, yapısı ve stabilizasyonu ile ilgili olarak sütün teknolojik özellikleri ve peynir üretimi üzerine etkisi nedeniyle baskın bir rol oynamaktadır.

κ -kazein geninin A ve B allelleri tüm sığır türlerinin ortak allelleridir. A, A1, B ve H allelleri yaygın olarak görülür iken, B2, C, D, E, F1, F2, G1, G2, I ve J allelleri nadiren görülmektedir. A, A1, B, H ve I allelleri *B. taurus* ve *B. indicus* 'ta, G2 alleli *B. grunniens* 'te, J alleli *B. taurus* ve *B. javanicus* 'ta ve B2, C, D, E, F1 ve G2 allelleri sadece *B. indicus* 'ta görülmektedir (Caroli 2009).

Tablo 1.3’de sığır κ-kazeininin genetik varyanları detaylı olarak verilmiştir. K-kazeininin temel allelleri olan A ve B allellere bağlı olarak incelendiğinde; 136. amino asit A allelinde treonin (ACC) iken B allelinde izolösin(ACT), 148. amino asit A allelinde aspartik asit (GAT) iken, B allelinde (GCT) alanindir (Neelin 1964, Woycik 1964). Buna göre diğer alleller incelendiğinde sırasıyla; C alleli için 97. amino asitte B→C (Arg→His) (Di Stasio 1964), B2 alleli için 153. amino asitte B→B2 (İle→Thr) (Gorodetskij ve Kaledin 1987), D alleli için 97. amino asitte B→D (Arg→His), E alleli için 155. amino asitte A→E (Ser→Gly) (Edhart 1989), F1 alleli için 148. amino asitte A→F1 (Asp→Val) (Sulimova 1992), F2 alleli için 10. amino asitte A→F2 (Arg→His) (İkonen 1996), G1 alleli için 97. amino asitte A→G1 (Asp→Cys) (Edhart 1996), G2 alleli için 168. amino asitte A→G2 (Asp→Ala) (Sulimova 1996), H alleli için 136. amino asitte A→H (Thr→İle) (Prinzenberg 1999), I alleli için 104. amino asitte A→I (Ser→Ala) (Prinzenberg 1999), J alleli için 155. amino asitte B→J (Ser→Arg) (Mahé 1999) ve A1 alleli için 150. amino asitte A→A1 (Pro→Pro) sessiz mutasyon söz konusudur (Prinzenberg 1999, Formaggioni 1999, Carroli 2009).

Tablo 1.3: Sığır κ -kazein geninin genetik varyantları

Pozisyon	Amino asit	Kappa-kazein varyantları													
		A	A1	B	B2	C	D	E	F1	F2	G1	G2	H	I	J
12690	10	<u>CGC</u> <i>Arg(R)</i>								<u>CAC</u> <i>His(H)</i>					
12940	93	<u>ACT</u> <i>Thr(T)</i>			<u>ACC</u> <i>Thr(T)</i>										
12950	97	<u>CGT</u> <i>Arg(R)</i>								<u>IGT</u> <i>Cys(C)</i>					
12951	97	<u>CGT</u> <i>Arg(R)</i>				<u>CAT</u> <i>His(H)</i>	<u>CAT</u> <i>His(H)</i>								
12971	104	<u>ICA</u> <i>Ser(S)</i>											<u>GCA</u> <i>Ala(A)</i>		
13065	135	<u>ACC</u> <i>Thr(T)</i>								<u>ATC</u> <i>Ile(I)</i>		<u>ATC</u> <i>Ile(I)</i>			
13068	136	<u>ACC</u> <i>Thr(T)</i>		<u>ATC</u> <i>Ile(I)</i>	<u>ATC</u> <i>Ile(I)</i>	<u>ATC</u> <i>Ile(I)</i>								<u>ATC</u> <i>Ile(I)</i>	
13096	145	<u>ACT</u> <i>Thr(T)</i>							<u>ACG</u>						
13104	148	<u>GAT</u> <i>Asp(D)</i>		<u>GCT</u> <i>Ala(A)</i>	<u>GCT</u> <i>Ala(A)</i>	<u>GCT</u> <i>Ala(A)</i>			<u>GCT</u> <i>Ala(A)</i>		<u>GCT</u> <i>Ala(A)</i>			<u>GCT</u> <i>Ala(A)</i>	
13111	150	<u>CCA</u> <i>Pro(P)</i>	<u>CCG</u> <i>Pro(P)</i>												
13119	153	<u>ATI</u> <i>Ile(I)</i>			<u>ACT</u> <i>Thr(T)</i>										
13124	155	<u>AGC</u> <i>Ser(S)</i>							<u>GGC</u> <i>Gly(G)</i>						
13162	167	<u>ACT</u> <i>Thr(T)</i>										<u>ACT</u> <i>Thr(T)</i>			
13165	168	<u>GCA</u> <i>Ala(A)</i>		<u>GCG</u> <i>Ala(A)</i>	<u>GCG</u> <i>Ala(A)</i>	<u>GCG</u> <i>Ala(A)</i>						<u>GCG</u> <i>Ala(A)</i>			

Tabloda mutasyonların pozisyonları altı çizili ve kalın olarak, amino asitler italik olarak verilmiştir. (Sulimova ve ark., 1992, Erhardt ve ark., 1996, Prizenberg ve ark., 1996, Formaggioni ve ark., 1999, Farrell ve ark., 2004 ve Caroli ve ark., 2009)

1.6 Etin tanımı ve özellikleri

Et için birçok tanım ifade edilmiş olmasına rağmen en çok karşılaşılanı; “kasaplık hayvanların iskelet kaslarından elde edilmiş gıda maddesi” tanımıdır. İskelet kasları, iskelet üzerine bulunan demetçiklerinden oluşmuştur ve vücut ağırlığının %35-65’ini oluşturmaktadır. Kaslar iskelete doğrudan ya da bağ doku niteliğindeki tendonlar vasıtasıyla bağlanmaktadır. Ayrıca tendonların bağlandığı noktalardan kan damarları ve sinirlerin bağlandığı görülmektedir. Etin elde edildiği büyükbaş, küçükbaş ve kanatlı eti girmekte ve elde edildiği hayvanın adı ile ifade edilmektedir. Doğal olarak etin fiziksel, kimyasal yapısı ile tat-koku gibi duyuşsal nitelikleri elde edilen hayvana göre değişmektedir (Öztan 2003, Anar 2012).

Sığır etinin kimyasal yapısına bakıldığında; % 65-80 su, %16-22 protein, % 3.0 yağlar, % 1.5 protein olmayan azotlu maddeler, % 0.5-1.5 karbonhidrat ve % 1.0 mineral maddelerden oluştuğı görülmektedir (Öztan 2003, Anar 2012).

Etin kasaplık hayvadan kesilerek elde edildiğı göz önünde tutulacak olursa, et kalite ve niteliğı etkileyen en önemli bir kısmını hayvan canlı haldeki performansı oluşturmaktadır. Besi perforfansı olarak ifade edilen bu durum kesime kadar geçen süreç et verimi ve kalitesi etkilemektedir. Bu durumda özellikle sıcak karkas olarak ifade edilen yeni kesilmiş etin kalitesi ve özellikleri etkileyen faktörleri şu şekilde sıralayabiliriz (Ergün ve ark., 2008);

- 1) Hayvanın ırkı
- 2) Cinsiyet
- 3) Yaş
- 4) Orijin
- 5) Kondüsyon
- 6) Bakım ve Sağlık

7) Besleme

Genetik yapının izin verdiği ölçüde kasaplık hayvanlar verilen uygun besin maddelerini ete çevirip gelişerek canlı ağırlık artışı sağlamaktadır. Canlı ağırlık artışı diğer bir ifade ile biyokimyasal büyüme; hipofiz ön lobu, böbrek üstü bezi ve testisten salgılanan büyüme düzenleyici, kas oluşumunu artırıcı, iştah ve besin maddelerinin yeteri miktar alımında etkili hormonlar rol oynamaktadır. Proopiomelanokortin insanlarda obezite, hayvanlarda ise iştah ve besin madde alımı üzerine etkilidir (Kalra ve ark. 1999, Wynne ve ark 2005, Bruns ve ark. 2004, Ergün ve ark. 2008).

1.7 Proopiomelanokortin ve özellikleri

1.7.1 İştah yolağı

Hipotalamus beyinde iştah düzenlenmesi üzerinde etkili olan bir bölgedir. Özellikle gıda alımı ve enerji homeostazisinde önemli rol oynamaktadır. Ancak, hipotalamus enerji homeostazisi üzerinde direkt etkili değildir. Daha çok nöropeptidler aracılığıyla, hipotalamusun arkuat nukleusunda yer alan nöronal devreler tarafından düzenlenir (Wynne ve ark 2005, Kalra ve ark. 1999). Arkuat nukleus içinde beslenme durumunu ve enerji homeostazinin düzenleyen iki devre mevcuttur (Kono ve ark. 2001). Bunlardan ilkinde POMC ve kortikotropin salıcı hormonların içinde bulunduğu anoreksijenik, yani iştah azaltan nöropeptidleri içeren bir devredir. Diğeri ise, nöropeptid Y nin içinde bulunduğu oreksijenik yani iştah artıran peptidlerin bulunduğu devredir.

Enerji dengesine karışan bir diğer hormon leptindir. Leptin yağ dokusu tarafından üretilmektedir (Banks ve ark., 1996). Leptin işlevi, iştah azaltıcı

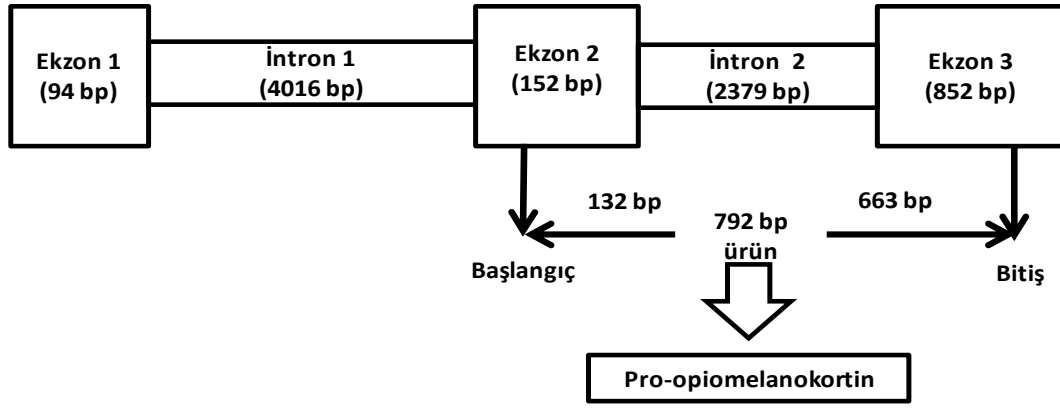
devrenin aktivasyonu ile gerçekleşmektedir. Plazmadaki leptin konsantrasyonundaki değişimi iştah artırıcı ve iştah azaltıcı peptitlerin sentezini düzenler (Wynne ve ark 2005, Ingvarsen ve Boisclair 2001). Bu sayede, leptin gıda alımı, enerji kullanımı ve vücudun bütün enerji dengesinin düzenlenmesinde önemli rol oynar (Houseknecht ve ark. 1998). Proopiomelanokortinin ifade edildiği nöronlar leptinin direkt hedefindedir. Özellikle gıda alımından Proopiomelanokortin peptidleri sorumludur. (Cheung ve ark., 1997). Proopiomelanokortin, MSH tarafından üretilen peptidler aracılığıyla iştahın azaltılması için çalışır. Gıda alımındaki azalma, anorektik α -MSH'a melanokortin 3-reseptör (MC3R) ya da melanokortin 4-reseptör (MC4R) bağlandığında iştahta azalma meydana gelir. MC3R ve MC4R hipotalamik nöropeptit AGRP'nin antagonistidir (Haskell-Luevano ve ark., 1999).

1.7.2 Proopiomelanokortin ve yapısal özellikleri

POMC hipotalamusun akuat nükleusu, hipofizin ön ve orta lobu, deri testis ve bağışıklık sisteminde dahil olduğu birçok dokuda ifade edilebilmektedir.(Pintar ve ark. 984, Bertanga ve ark. 1994, Castro ve ark, Young ve ark. 1998, Deobalt 2009). POMC melanokortin olarak bilinen birçok biyoaktif peptidleri kodlayan bir öncül proteindir. Bu peptidler iştah yolağı içerisinde yer alan, adrenokortikotropin (ACTH), alfa melanosit stimulan hormon (α -MSH), beta melanosit stimulan hormon (β -MSH), gama melanosit stimulan hormon (γ -MSH) ve beta-endorfin (β -END) içerir (Eipper ve Mains 1980, Pritchard ve ark. 2002, Gantz ve Fong 2003).

İnsan, sığır, domuz ve maymun POMC cDNA dizileri hizalandığında %85 oranında homoloji göstermektedir (Can ve ark. 1998). Whitfeld ve ark (1982) yaptığı insan ve sığırlarda, ACTH'nin de içinde bulunduğu özel bölgenin %95 homoloji gösterdiğini tespit etmişlerdir.

*POMC*in insanlarda 2p23.3 kromozom üzerinde (Satoh ve Mori, 1997) ve sığırlarda kromozomu BTA11'de bulunmaktadır (Thue, 2005). Sığır *POMC* cDNA nükleotid dizileri, ilk olarak Nakanishi ve ark. (1979) tarafından rapor edilmiştir. *POMC*, 3 ekzon ve 2 introndan oluşan ve yaklaşık 7493 bp uzunluğunda bir genidir. *POMC*, 792 bp uzunluğunda ve 2. ekzonda başlayıp 3. ekzonda biten bir bölgede kodlanan ve 32 kDa ağırlığında bir propeptid üreten bir genidir (Millington, 2007, Deobalt 2009). Şekil 1.10 de sığır *POMC* geninin yapısı ve proopiomelanokortin üretimi görülmektedir.



Şekil 1.10: Sığır *POMC* geninin yapısı

(Şekil, www.ncbi.nlm.gov veri tabanından yararlanılarak üretilmiştir.)
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore/NC_007309.5 Erişim tarihi: 20/04/2014

Şekil 1.10'da sığır *POMC* geninin yapısı verilmiştir. Proopiomelanokortin proteini 265 amino asitten oluşmaktadır. Amino asit dizisinin ilk 44 amino asiti ikinci ekzon, geriye kalan 221 amino asiti üçüncü ekson tarafından kodlanmaktadır.

Şekil 1.11'de *POMC* amino asit dizisi verilmiştir. Proopiomelanokortin proteinin yapısı sırasıyla; Ala₂₇, Asn₇, Arg₂₃, Asp₁₀, Cys₅, Gln₁₀, Glu₂₉, Gly₂₅, His₄, Ile₃, Leu₁₇, Lys₂₂, Met₆, Phe₉, Pro₁₈, Ser₂₀, Trp₄, Thr₈, Tyr₇, Val₁₁ amino asitlerinden oluşmaktadır.

1 11
 Met Pro Arg Lys Cys Ser Ser Arg Ser Gly Ala Leu Leu Leu Ala Leu Leu Leu Gln Ala
 21 31
 Ser Met Glu Val Arg Gly Trp Cys Leu Glu Ser Ser Gln Cys Gln Asp Leu Thr Thr Gln
 41 51
 Ser Asn Leu Leu Ala Cys Ile Arg Ala Cys Lys Pro Asp Leu Ser Ala Glu Thr Pro Val
 61 71
 Phe Pro Gly Asn Gly Asp Glu Gln Pro Leu Thr Glu Asn Pro Arg Lys Tyr Val Met Gly
 81 91
 His Phe Arg Trp Asp Arg Phe Gly Arg Arg Asn Gly Ser Ser Ser Ser Gly Val Gly Gly
 101 111
 Ala Ala Gln Lys Arg Glu Glu Glu Val Ala Val Gly Glu Glu Pro Gly Pro Arg Gly Asp
 121 131
 Asp Ala Glu Thr Gly Pro Arg Glu Asp Lys Arg Ser Tyr Ser Met Glu His Phe Arg Trp
 141 151
 Gly Lys Pro Val Gly Lys Lys Arg Arg Pro Val Lys Val Tyr Pro Asn Gly Ala Glu Asp
 161 171
 Glu Ser Ala Arn Ala Phe Pro Leu Glu Phe Lys Arg Glu Lys Tyr Gly Glu Arg Leu Glu
 181 191
 Gln Ala Arg Gly Pro Glu Ala Gln Ala Glu Ser Ala Ala Ala Arg Ala Glu Lys Glu Tyr
 201 211
 Gly Leu Val Ala Glu Ala Glu Ala Glu Ala Glu Lys Lys Asp Ser Gly Pro Tyr Lys
 221 231
 Met Glu His Phe Arg Trp Gly Ser Pro Pro Lys Asp Lys Arg Tyr Gly Gly Phe Met Thr
 241 251
 Ser Glu Lys Ser Gln Thr Pro Leu Val Thr Leu Phe Lys Asn Ala Ile Ile Lys Asn Ala
 261
 His Lys Lys Gly Gln

Şekil 1.11: Sığır proopiomelanokortin amino asit dizisi

1.7.3 POMC genin işlenmesi

*POMC*den çok sayıda peptid üretebilmek için translasyon sonrası bir çok ayrılmaların meydana gelmesi gerekmektedir. İlk evrelerde, mRNA tarafından oluşturulan sinyal protein tek bir protein olarak golgi yığınlarından geçilir. Karboksidaz E (CPE) adı verilen sinyal peptidine bağlanır ve düzenlenmiş salgı yoluna (RSP) doğru yöneltir (Cool ve ark., 1997). RSP içindeki proopiomelanokortin granülleri translasyon sonrası prohormon dönüştürücüleri (prohormon convertases-PC1 ve PC2) tarafından ayrılarak biyoaktif peptidler Prohormon dönüştürücüleri (PC), dokuların ayrılma özelliğine bağlı olarak oluşan peptidler, temel dörtlü Proopiomelanokortin amino asitlerini içeren, sekiz çift parçayı hedefler. üretmektedir (Pritchard ve ark., 2002).

PC1 sadece kortikotrof hücrelerde bulunur. Ön hipofizde bulunan kortikotrof hücreler içinde dört bölünme merkezi bulunmaktadır. Bu bölünme merkezlerinin tümünde lizin-arjinin bulunmaktadır. Kortikotrof hücrelerde üretilen peptidler, N-terminal (NT), birleştirici peptid (Joining peptide-JP), adrenokortikotrofin hormon (ACTH) ve beta-lipotrofindir (β -LPH). Gama-lipotrofin (γ -LPH) ve beta-endorfin (β -END) az miktarda üretilir ve kullanımı azdır (Bertagna 1994, Raffin-Sanson ve ark 2003, Millington 2007, Deobalt 2009).

Tablo 1.4: Proopiomelanokortinden üretilen biyoaktif peptidler

Temel özellik	Pozisyon	Uzunluk	Tanımlama
Sinyal Peptid	1-26	26	
Peptid	27-103	77	NPP
Peptid	77-88	11	Melanotropin gamma
Propeptid	106-129	24	
Peptid	132-170	39	Kortikotropin
Peptid	132-144	13	Melanotropin alfa
Peptid	150-170	21	Kortkotropin benzeri aracı peptid
Peptid	173-265	93	Lipotropin beta
Peptid	173-232	60	Lipotropin gamma
Peptid	215-232	18	Melanotropin beta
Peptid	235-265	31	Beta-endorfin
Peptid	235-239	5	Met-enkefalin

(Cohen ve ark. 1980, Nakanishi ve ark. 1978, Nakanishi ve ark. 1979, Nakanishi ve ark. 1981)

Hipofiz bezinin orta lobubda bulunan melanotrof hücrelerin tümünde bölünme merkez kullanılmaktadır. PC1 ve PC2in her ikisinde bu hücre tiplerinde ifade edilmektedir. Melanotrof hücrelerde üretilen peptidler, γ^3 MSH, γ^2 MSH, γ^1 MSH, ACTH ve β -MSHdir (Zhou ve ark1993, Friedman ve ark. 1998, Millington 2007, Deobalt 2009).

Tablo 1.4’de proopiomelanokortin üretilen peptidlerin temel özellikleri, pozisyonları, peptidlerin uzunlukları ve elde edilen peptidler özetlenmiştir.

1.7.4 Proopiomelanokortin peptidlerin işlevi

Pro hormon *POMC* tarafından üretilen α , β , γ -MSH ve ACTH peptidler, MC1R den MC5R ye kadar bağlanmış G-protein reseptörleri aracılık etmektedir (Yeo ve ark. 2000). Proopiomelanokortin peptidine bağlanarak meydana getirdikleri biyolojik fonksiyonlar mevcut dokularda bulunan bu reseptörler sayesinde gerçekleşmektedir (Harmer ve Bicknell, 2005).

MC1R daha çok α -MSH e bağlı olarak deri dokusunda ifade edilmektedir. Saç ve deri pigmentasyonu için önemlidir. MC2R adrenal cortex zona reticularis ve zona fasciculatada ifade edilir ve ACTH aktivasyonu tarafından sınırlandırılır. MC3R ve MC4R beyin dokularında ifade edilmekte olup, iştah ve enerji homeostaz üzerinde etkilidir. α -MSH peptitleri MC4R ile birlikte ligand görevi yapar ve bağlanma sağlandığında iştahın azalmasına neden olur. (Hadley ve Haskell-Luevano 1999, Marsh ve ark 1999, Gantz ve Fong 2003). Poggiolive ark.(1986) yaptığı araştırmada, beynin belirli alanlarına yapılan α -MSH enjeksiyonunun gıda alımı inhibisyonuna neden olduğunu tespit etmişlerdir. Nitekim, Marsh ve ark (1999) MC4Rden yoksun farelere MSH e benzer agonist maddeler verildiğinde farelerin herhangi yanıt vermediğini tespit etmiştir. Huszar ve ark (1997) yaptığı çalışmada MC4Rden yoksun farelerin kontrol göre daha fazla tükettiğini ve 15. haftada 2 kat daha fazla canlı ağırlığa ulaştığını tespit etmişlerdir.

1.7.5 Proopiomelanokortin mutasyonları

İştah yolağı üzerinde *POMC* önemi, vücut ağırlığı ile ilişkili özellikler için önemli bir aday gen yapmaktadır. Nitekim birçok araştırmacı, bu gen üzerinde polimorfizmi belirlemek için birçok çalışma yapmıştır. Örneğin, Krude ve ark. (1998) yaptığı araştırmada *POMC* geninde üç mutasyon tespit etmiş ve bu üç SNPnin insanlarda obezite ile ilişkili olduğunu tespit etmişlerdir.

Thue ve Buchanan (2003), yaptığı çalışmada, sığır *POMC* geninin C 288 T. SNP buldular. Ancak, bu SNP amino ait değişikliğine (AGC/AGT) neden olmamıştır. Daha sonraki araştırmalarda bu sessiz mutasyon, sığırlarda canlı ağırlık ve sıcak karkas ağırlığı ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir (Buchanan ve ark. 2005, Deobalt 2009).

Deobalt ve Buchanan (2011) yaptığı çalışmada sığırlarda *POMC* geni üzerinde 12 bp (TTGGGGGCGCGG) uzunluğunda bir delesyon tespit etmişlerdir. Normal amino asit dizisi SGVGGAAQKRE dizisi verir iken, delesyon sonrası 5 amino asit (VGGAA) azalmış ve çerçeve kayması sonrası amino asit dizisi SGQKRE şeklinde oluşmuştur. Delesyon her zaman 288. nükleotidde belirlenen SNP nin C olduğu durumlarda gerçekleştiği belirtilmiştir (Deobalt and Buchanan, 2011).

Daha önce belirtildiği gibi, *POMC* nin işlenmesi sonucunda birçok biyoaktif peptid oluşmaktadır. Delesyonu oluşması ve buna bağlı olarak amino asit dizisindeki çerçeve kayması durumunda, *POMC* işlenmesi esnasında meydana gelecek olan söz konusu biyoaktif peptidlerin oluşumunda problemler oluşmaktadır. *POMC* nin sığırlarda canlı ağırlık artışı, iştah ve sıcak karkas kalitesi üzerinde etkilidir. Doğal olarak delesyon durumunda sığırlarda canlı ağırlık artışında kayıp, besin madde alımında azalma ve karkas kalitesinde düşüş gözlenmektedir. Delesyonun olmadığı ve SNP noktasında T olan sığırların daha fazla canlı ağırlık artışı ve daha yüksek karkas kalitesine sahip oldukları

belirtilmektedir. Delesyon olması veya delesyon olmasa bile SNP noktasında C olması durumunda canlı ağırlık artışında azalma ve karkas kalitesinde düşüş görüldüğü belirtilmiştir (Deobalt and Buchanan, 2011).

1.7.6 İştah ve Obezite üzerinde Proopiomelanokortin etkisi

*POMC*den türetilmiş peptidler, esas olarak α , β ve γ -MSH, melanocortin reseptörleri MC3R ve MC4R'un ifade edilmesi, beynin iştah kontrolü ile ilgili bölgelerinde gerçekleşmektedir. Bu reseptörler *POMC* peptidlerinin birine bağlandığında sonuç olarak gıda alımında azalma ve enerji kullanımında artış meydana gelmektedir (Yeo ve ark. 2000, Pritchard ve ark. 2002).

Krude ve ark (1998), *POMC* mutasyonuna sahip insanların erken yaşlarda şişmanlama, böbrek yetmezliği ve kızıl saç pigmentasyonun olduğunu tespit etmişlerdir. Bu hastalarda, ACTH, α -MSH ve β -MSH üretim kaybının olası olduğu görülmektedir. Yaswen ve ark (1999), *POMC*den yoksun farelerin normallere göre 2 kat daha fazla ağırlığa sahip oldukları tespit etmişlerdir. Bu farelerde de, sadece obezite değil aynı zamanda adrenal gelişimde kusurlar ve pigmentasyon değişimi gözlemlenebileceği belirtmişlerdir.

Challis ve ark (2002) β -MSH ve β -END arasında dibazik amino asitlerde mutasyon tanımlamıştır. Obez çocuklarda bu mutasyonun genetik olarak obeziteye yatkınlığına neden olabilir (Coll ve ark., 2004). *POMC* peptidlerinin obezite üzerine etkisinin yanında MC4 reseptöründe önemli ölçüde rol oynayabileceği yönündede çalışmalar vardır. Örneğin, Huszar ve ark. (1997) MC4Rden yoksun farelerde hiperfaji (aşırı oburluk), hiperinsulinemia (aşırı insülin salınımı) ve hiperglisemia (yüksek kan glikoz değeri) rapor etmektedir.

Kim ve ark. (2000) domuzlarda MC4R geninde yanlış anlamli mutasyon ile ilgili benzer bulgular tespit etmişlerdir. Bu mutasyonların domuzlarda, yağlanma, ağırlık artışı ve yem alımı ile spesifik genotipler arasında anlamli bir ilişkinin olduğunu rapor etmişlerdir.

Yeo ve ark. (1998) insanlarda MC4Rde çerçeve kaymasına neden olan 4 bp delesyon belirlemişlerdir. Bu delesyon, hem baba hem de çocuklarda obesite ile sonuçlanmıştır. Bu sonuçlarda MC4R mutasyonları ile obezite arasındaki bağlantıyı desteklemektedir.

2. MATERİYAL VE METOT

2.1 Materyal

2.1.1 Hayvan Materyali

Hayvan materyali olarak Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel M¼d¼rl¼ğ¼ne bağlı Bandırma Koyunculuk Araştırma İstasyonunda gen kaynağı koruma kapsamında bulunan, aralarında akrabalık ilişkisi bulunmayan 4'¼ erkek, 84'¼ dişi olmak üzere toplam 88 adet saf Boz ırk sığır kullanıldı.

2.1.2 Çalışmada Kullanılan Kimyasallar

Çalışmada kullanılan kimyasalların tamamı molek¼ler biyoloji için uygun saflıkta olup Sigma, Fermentas, Merck ve Applichem gibi firmalardan yerli aracı kuruluşlar yoluyla elde edildi.

2.1.3 Çalışmada Kullanılan Cam Malzeme ve Plastik Malzemelerin Hazırlanması

Bu çalışmada kullanılan pipet uçları, ependorf tüpleri, PZR tüpleri, otoklava uygun çözeltiler, cam malzemeler ve ısıya dayanıklı diğer tüm malzemeler çalışmaya başlamadan önce 121 °C'de 20 dakika süreyle 1 atmosfer basınçta otoklavlanarak steril edildi. Pipet uçları, ependorf tüpleri, PZR tüpleri ve cam malzemeler 80 °C'de 1 saat bekletilerek kurutuldu. Pipet ve çalışılan yüzey %70'lik alkol ile temizlendi.

2.1.4 Kan Örneklerinin Toplanması

Kan örnekleri Bandırma Koyunculuk Araştırma İstasyonunda bulunan, aralarında akrabalık ilişkisi bulunmayan 4'ü erkek, 84'ü dişi olmak üzere toplam 88 adet saf Boz ırk sığırdan alındı. Kan örnekleri juguler damar içinden enjektör yardımı ile EDTA'lı tüplerde toplandı. Kan örneklerinden genomik DNA izole edilinceye kadar -20 °C'de muhafaza edildi.

Bu çalışma, Balıkesir Üniversitesi Etik Kurulunun izni ile yapılmıştır (23.12.2010/08)

2.2 Metod

2.2.1 Kandan Genomik DNA İzolasyonu

Çalışmada, daha iyi gDNA verimi elde etmek ve maliyeti ucuzlatmak amacıyla, kit ile değil manuel metod olarak Miller ve ark (1998) uyguladığı kanda gDNA izolasyonu metodu uygulandı . Alınanan kan örnekleri sırasıyla:

1. 500 µL kan örneği, 2 µL'lik ependorf tüplerine alınıp ve üzerine 1300 µL distile su eklendikten sonra 5 dakika süre ile vorteks yardımı ile iyice çalkalanıp, 10 dakika 3500 rpm'de santrifüj edildi.
2. Üstteki sıvı alınıp çökelti üzerine 1000 µL distile su ilave edildikten sonra 1 dakika süre ile vorteks yardımı ile iyice çalaktandıktan sonra, 10 dakika 3500 rpm'de santrifüj edildi.
3. Üstteki sıvı atıldıktan sonra çökelti üzerine 250 µL lizis tamponu, 20 µL %10'luk SDS ve 20 µL Proteinaz K eklenerek tüp alt üst edildi ve 10 dakika 72 C°'de 10 dakika bekletildi.
4. Ependorf tüpe 175 µL doyumlanmış amonyum asetat eklenip 1 dakika alt üst edilerek ve 15 dakika oda sıcaklığında bekletildi.
5. 20 dakika 4500 rpm'de santrifüj edilerek üstteki süpernatant pipet yardımı ile başka bir ependorf tüpüne aktarılarak üzerine 1000 µL 95'lik etanol eklenip tüp yavaşça alt-üst edilecek
6. 13000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra üstteki sıvının tamamı alındı,
7. Çökelti üzerine 250 µL %25'lik etanol ilave edilerek yıkandı ve 13000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi.
8. Üstteki sıvı pipetle atıldıktan sonra tüplerin ağzı açık olarak 30 dakika süre ile kurutuldu.
9. 200 µL TE eklenerek gDNA çalışmada kullanılmak üzere hazır hale getirildi.

Genomik DNA izolasyonun kullanılan çözeltiler ve hazırlanışları tablo 2.1'de verilmiştir.

Tablo 2.1: Genomik DNA İzolasyonunda Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanışları

ÇÖZELTİ	KOMPOZİSYONU , ÖZELLİKLERİ VE HAZIRLANIŞI
Doyurulmuş Amonyum Asetat (NH₄Ac)	22.2 g NH ₂ Ac distile su ile 30 mL'ye tamamlandı. Manyetik karıştırıcıda yaklaşık 40 °C'de çözüldü. Filtrasyon yoluyla steril edildi. +4 °C' saklandı.
Çekirdek Lizis Tompnu (pH 8.2)	100 µLTris-base, 4MI NaCl, 40 µL Na ₂ EDTA, 5860 µL distile suda çözüldü. 121 °C'de steril edildi. +4 °C' saklandı
%10'luk SDS	10 g SDS 100 mL olacak şekilde ıltılmış distile ile tamamlandı
Etil Alkol (%75'lik ve %95'lik)	Mutlak alkole sırasıyla 25 mL ve 5 mL steril su eklendi.

(Tris-base 10mM, NaCl 400mM, Na₂EDTA 2mM)

2.2.2 Primer Tasarımı

K-kazeingeni için gDNA'dan elde edilen klonların dizilenmesi ile elde edilen dizilerden genlere, daha önce Cherenek ve ark. (2003) çalışmalarında kullandığı spesifik primer aynısı kullanıldı.

POMC geni için primer dizaynı PRIMER3 programı kullanılarak yapıldı. Primer sıcaklığı normal şartlarda 59 - 61 °C aralığında ve 19 nükleotit uzunluğunda Tablo 2.2'de görüldüğü gibi dizayn edildi. (<http://frodo.wi.mit.edu/primer3/>;))

Tablo 2.2: PZR’de kullanılan primerler ve nükleotit dizileri

Gen Adı	Pimer Dizisi
<i>κ-kazein</i>	F: 5'- GCTGAGCAGGTATCCTAGTTA -3'
	R: 5'- CTTCTTTGATGTCTCCTTAGA -3'
<i>POMC</i>	F: 5'- ATCCTCAGCGGTGGGAGTGG -3'
	R: 5'- TTTCCGCGGAGAGAGACCCC -3'

PZR reaksiyonlarında kullanılan primerler Integrated DNA Technologies (A.B.D.) firmasından temin edildi. Primerler laboratuara gelir gelmez veya -20 °C buzdolabından çıkarıldıktan sonra yaklaşık 15 sn 12.000 rpm’de sentrifüj yapılarak kuru çökeltilerin tüpün dibinde toplanması sağlandı ve 1 ml dH₂O içerisinde çözülerek stok hazırlandı. Her bir primerin son konsantrasyonu 50 nmol olacak şekilde sulandırıldı.

2.2.3 PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) bileşenleri ve protokolü

PZR toplam reaksiyonu 25 µL olacak şekilde Tablo 2.3’de verilen bileşenler PZR tüpüne kondu. Karışıma en son Taq Polimeraz enzimi eklendi. PZR’de kullanılacak malzemeler çalışma esnasında buz üzerinde muhafaza edildi.

Tablo 2.3: PZR Bileşenleri ve Konsantrasyonu

PZR Bileşenleri ve Konsantrasyonu	Kullanılan Miktar
Steril Distile Su	5 µL
PZR Buffer (NH ₄ SO ₄)(10X)	2.5 µL
dNTP (10 mM)	2.5 µL
Taq Polimeraz	0.5 µL
Forward primer (10 µM)	2.5 µL
Reverse primer(10 µM)	2.5 µL
Kalıp DNA	7 µL
MgCl ₂ (25 mM)	1.5 µL
DSMO	1 µL

PZR tüpüne konan bileşenlerin iyice karışması için çok kısa bir süre (1-2 saniye) santrifüjleme yapıldı. Tüpler PZR aletine yerleştirildi. Tablo 2.4’da belirtilen protokole uygun program seçilerek reaksiyon başlatıldı.

Tablo 2.4: PZR Protokolü

BASAMAK	SICAKLIK	ZAMAN	DEVİR SAYISI
Ön Isıtma	95 °C	5 dk	1 Devir
1. Basamak	94 °C	30 sn.	35 Devir
2. Basamak	52 °C	30 sn.	
3. Basamak	72 °C	40 sn.	
4. Basamak	72 °C	5 dk	1 Devir
5. Basamak	4°C	18 sa.	

2.2.4 DNA Agaroz Jel Elektroforezi

κ-kazein ve *POMC* genleri için PZR'de çoğaltılan gDNA örneklerini gözlemek için %0.8'lik agaroz jel elektroforezi yapıldı. Bunun için 0.4 g agaroz tartıldı ve 50 mL 0.5X TBE (1 litre için; 54 g Tris-base, 27.5 g borik asit, 20 mL 0.5 M EDTA (pH 8) tamponu içinde mikrodalga fırında kaynatılarak çözüldü. Karışım 45-50 °C'ye soğutulduktan sonra içerisine 2 µL (0.5 µg / mL) etidyum bromür ilave edilerek, önceden tarakları yerleştirilmiş jel kasetine döküldü ve polimerleşmesi beklendi. Jel polimerleştikten sonra taraklar çekilerek örnek yükleme kuyucukları oluşturuldu. Elektrofrez tankına yerleştirilen kasetin üzerini kaplayıncaya kadar 0.5X TBE tamponu eklendi. 5 µL kalıp gDNA ve 1 µL yükleme boyası ile örnekler yüklendi ve 120 voltaj verilerek 30 dakika yürütüldü. UV transillüminatörde gözlemlendi ve fotoğrafı çekildi.

2.2.5 PZR Sonuçlarının Değerlendirilmesi, Dizileme ve Dizi Analizi

Bu tez çalışmasında, 88 adet Boz ırk sığırdan elde edilen gDNA dan, süt verimi ile ilişkilendirilen *κ-kazein* geni ile et verimi ile ilişkilendirilen *POMC* gen bölgeleri PCRda amplifiye edildi. Elde edilen PCR ürünleri %0.8 agaroz jel elektrofrezinde yürütüldü. Net bant elde edilen örnekler dizilendi. DNA dizilemesi BigDye Cycle Sequencing kit (Applied Biosystems, Fostercity, CA) ile ABI 3130XL Genetic Anaylzer (Applied Biosystems, Fostercity, CA) cihazını kullanan ReFGeN (Gen Araştırmaları ve Biyoteknoloji, Ankara) adlı ticari kuruluşa yaptırıldı. Dijital olarak elde edilen DNA dizileri BioEdit (Hall, 1999) ve FinchTV v1.4 (Geospiza, Seattle, WA) progamlarıyla kromatogram kalitesi kontrol edildikten sonra NCBI (National Center for Biotechnology Information) BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) progamlarının veri tabanlarında homoloji analizine tabi tutuldu ve Boz ırk sığır genomuna ait elde edilen nükleotid dizilerinin diğer sığır ve / veya organizmalarla benzerlik gösterdiği (homolog)

diziler tespit edildi. Dizi analizi sonucunda yeterli kalitede olmayan diziler tekrar edildi. Diziler BioEdit (Hall, 1999) programında κ -kazein geni için 705 bp ve POMC geni için 656 bp uzunluğundan ortak dizi elde edildi.

2.2.6 Filogenetik Analiz

κ -kazein dizilerinin hizalanması Bioedit 7.0.4.1 programının ClustalW alt programı kullanılarak oluşturuldu. Dizilerin hizalanması sonuunda uç kısımları kesilerek tüm diziler için 705 bp eşit uzunlukta veri kümesi elde edildi. Filogenetik ağaç elde etmek için Bioedit 7.0.4.1 programı kullanılarak Neighbour – Joining metodu ile yapılmıştır (Saitou ve Nei, 1987, Thompson ve ark., 1994, Hall 1999). Filogenetik analiz, bu çalışmada elde edilen 88 örnek ve 12 dış grup ile birlikte toplam 100 dizi ile yapıldı. Dış grup olarak kullanılan κ -kazeindizileri NCBI GenBankasından alındı. Bu dış gruplar ve erişim numaraları sırasıyla şu şekildedir: *B. indicus* κ -casein precursor gene ([gi|34485550|AY367770.1](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/gi|34485550|AY367770.1)), *Bos frontalis* κ -caseingene ([gi|294998981|GU991380.1](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/gi|294998981|GU991380.1)), *B. javanicus* κ -casein gene ([gi|2625065|AF030324.1](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/gi|2625065|AF030324.1)), *B. gaurus* κ -casein gene ([gi|2625063|AF030323.1](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/gi|2625063|AF030323.1)), *Bovine* gene for κ -casein([gi|180|X14908.1](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/gi|180|X14908.1)), *B. grunniens* κ -caseingene ([gi|2625071|AF030327.1](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/gi|2625071|AF030327.1)), *B. indicus* breed Horro κ -caseingene ([gi|315143029|HQ589921.1](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/gi|315143029|HQ589921.1)), *B. taurus* breed Sheko κ -caseingene ([gi|315143027|HQ589920.1](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/gi|315143027|HQ589920.1)), *B. indicus* breed Guraghe κ -casein gene ([gi|315143023|HQ589918.1](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/gi|315143023|HQ589918.1)), *B. gaurus* isolate Mondol κ -casein. gene ([gi|428755224|JX862171.1](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/gi|428755224|JX862171.1)), *B. taurus* breed Hereford ([gi|269933123|NW003103979.1](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/gi|269933123|NW003103979.1)), *B. taurus* CSN3-A allele ([gi|36988713|gb|AY380228.1](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/gi|36988713|gb|AY380228.1))(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/Blast.cgi>).

2.2.7 İstatistiksel Analiz

Allel ve genotip frekansları direkt sayım metodu ile hesaplandı. Ki-kare testi kullanılarak popülasyonun Hardy-Weinberg dengesinden olup olmadığı PopGene32 programı kullanılarak kontrol edildi (Yeh ve ark., 2000).

2.2.8 Biyoinformatik analiz

Elde edilen κ -kazein ve *POMC* geni ile ilgili bulgular NCBI Blastn analizi yapıldı. Blastn analizi ile öncelikle elde edilen dizilerin doğruluğu teyit edildi. Daha sonra κ -kazein ve *POMC* genlerinin bulunduğu kromozomlar ve tam olarak kromozom üzerindeki lokasyonları belirlendi.

3. BULGULAR

3.1 *κ-kazein* geni ile ilgili bulgular

Boz ırk sığırlara ait alınan kan örnekleri, metod bölümünde anlatıldığı gibi gDNA izole edilerek, hedef *κ-kazein* gen bölgesi PZRde çoğaltıldı. Elde edilen PZR ürünleri %0.8lik agaroz jelde yürütülerek şekil 3.1'deki gibi görüntüledi. Yaklaşık 850-870 bp uzunluğunda bantların elde edildi.



Şekil 3.1: *κ-kazein* jel görüntüsü

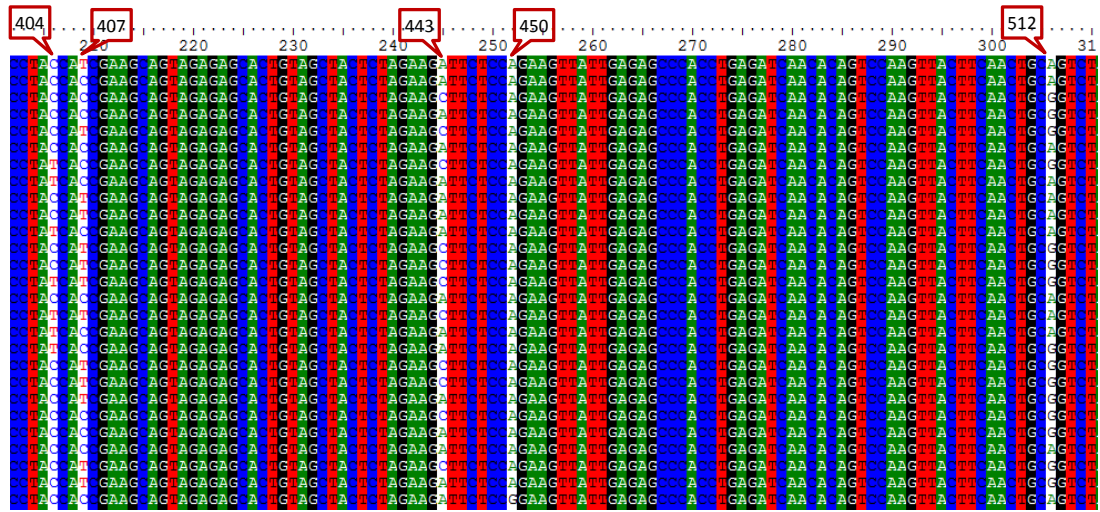
[M: marker (SM 0311 Gene Ruler 1 kb DNA ladder Thermoscientific, USA), 1, 2, 3, 4, 5, 6 ve 7; jelde yürütülen örnekler]

Jelde net bant elde edilen örnekler daha önce belirtildiği gibi dizilendi. Elde edilen dizilerin analizi yapıldı. Öncelikle FinchTV programı yardımı ile dizilerin kalitesi kontrol edildi. Kalitesi yetersiz olan diziler tekrar edildi. Dizi uzunluklarının yaklaşık 850-870 bp uzunluğunda olduğu görüldü. Bütün diziler BioEdit programı yardımıyla hizalandı. Dizilerin fazlalık kısımları kesildikten

sonra tüm diziler 705 bp'lik uzunluğunda eşitlendi. BioEdit programının Accessory Application/Blast/Local Blast/http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST alt programı kullanılarak dizilerin doğrulanması sonucunda 705 bp uzunluğundaki dizinin bir ekzon ve bir intron içerdiği görüldü.

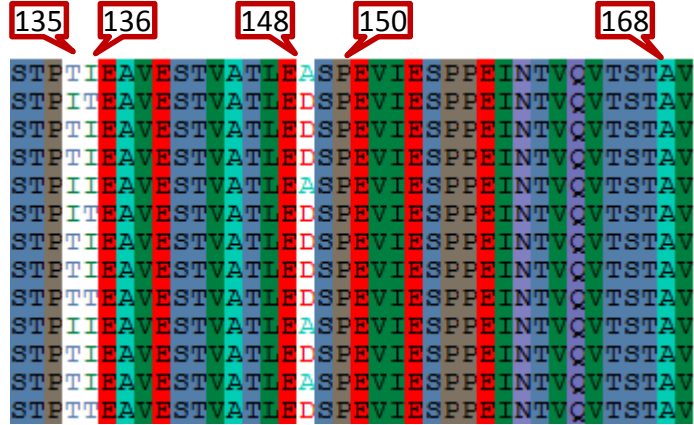
3.1.1 κ -kazein geni ekzon bölgesi ile ilgili bulgular

Elde edilen dizilerin ilk 309 bp uzunluğundaki kısmının ekzon kısmında olduğu görüldü. Ekson kısmında beş tek nokta polimorfizmi (SNP) tespit edildi.



Şekil 3.2: κ -kazein dizisi ve SNP noktaları

Şekil 3.2’de κ -kazein dizisi ve SNP noktaları görülmektedir. Bu noktalar incelendiğinde, κ -kazein geninin nükleotid dizisinde 404 (ACC/ATC), 407 (ACC/ATC), 443 (GAT/GCT), 450 (CCA/CCG) ve 512 (GCA/GCG) nükleotidlerin olduğu tespit edilmiştir. Şekil 3.3’de amino asit dizisi görülmektedir. Amino asit dizisi incelendiğinde ise, 135 (Thr→Ile), 136 (Thr→Ile), 148 (Asp→Ala), 150 (Pro_A→Pro_G) ve 168 (Ala_A→Ala_G) amino asitler olduğu görülmektedir.



Şekil 3.3: κ -kazein amino asit dizisi ve allelleri

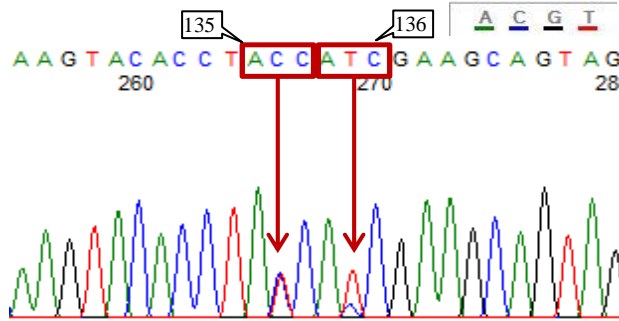
Tablo 3.1’de tespit edilen SNPlar, meydana getirdikleri amino asit değişiklikleri ve buna bağlı olarak oluşan allelleri özetlenmiştir.

Tablo 3.1: κ -kazein geni ekzon bölgesi SNP özeti ve allel tablosu

Aminoasit Sırası					Allel
135.	136.	148.	150.	168.	
T (Treonin) (ACC)	T (Treonin) (ACC)	D (Aspartik Asit) (GAT)	P (Prolin) (CCA)	A (Alanin) (GCA)	A
T (Treonin) (ACC)	T (Treonin) (ACC)	D (Aspartik Asit) (GAT)	P (Prolin) (CCG)	A (Alanin) (GCA)	A1
T (Treonin) (ACC)	I (izolösin) (AIC)	A (Alanin) (GCT)	P (Prolin) (CCA)	A (Alanin) (GCA)	B
T (Treonin) (ACC)	T (Treonin) (ACC)	A (Alanin) (GCT)	P (Prolin) (GCA)	A (Alanin) (GCG)	G2
I (izolösin) (AIC)	T (Treonin) (ACC)	D (Aspartik Asit) (GAT)	P (Prolin) (CCA)	A (Alanin) (GCA)	H

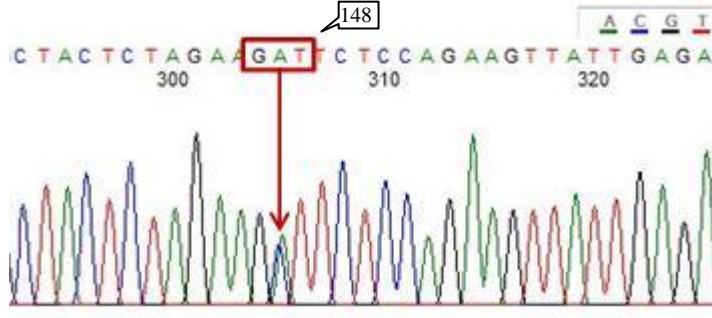
Tespit edilen SNPlerin 135, 136, 148, 150 ve 168. amino asitlerde meydana gelen değişiklikler ve buna bağlı oluşan alleller sırasıyla; TTDPA (Thr/Thr/Asp/Pro_A/Ala_A) olduğunda A alleli, TTDPA (Thr/Thr/Asp/ Pro_G/Ala_A) olduğunda A1 alleli, TIDPA (Thr/Ile/Ala/Pro_A/Ala_A) olduğunda B alleli, TTAPA (Thr/Thr/Asp/Pro_A/Ala_G) olduğunda G2 alleli ve ITDPA (Ile/Tre/Asp/Pro_A/Ala_A) olduğunda ise H alleli olduğu görülmektedir.

Şekil 3.4’de κ -kazein geni ekzon bölgesinde tespit edilen 404. ve 407. nükleotiddeki SNP görülmektedir. 1. SNP incelendiğinde κ -kazein geni dizisi üzerindeki 404. nükleotidde ATC→ACC Şeklinde polimorfizm tespit edilmiştir. Bu polimorfizm κ -kazein 135. amino asitinde Treonin→İzolösin Şeklinde değişikliğe neden olduğu görülmektedir. Doğal olarak κ -kazein geni A allelinde bu nokta ATC (Treonin) olarak görülmektedir. Eğer ACC (İzolösin) olması durumunda, κ -kazein geni H alleli olduğu görülmektedir.



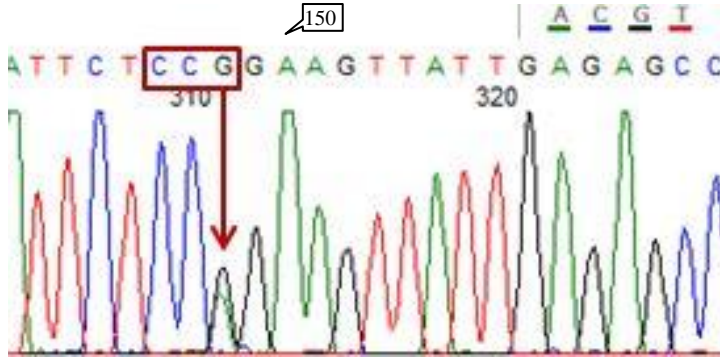
Şekil 3.4: κ -kazein ekzon bölgesi DNA dizisi, 404 ve 407. nükleotiddeki SNPler

İkinci SNP noktası 407. nükleotidde, ATC→ACC Şeklinde polimorfizm tespit edilmiştir. 136. amino asitinde, Treonin→İzolösin Şeklinde değişikliğe neden olduğu görülmektedir. κ -kazein geni 136. amino asiti, temel allel olan A ve B allellerinin belirlendiği ilk noktadır. Bu amino asit Treonin (ATC) olduğunda A allelini, İzolösin (ACC) olduğunda B allelini oluŐurmaktadır.



Şekil 3.5: κ -kazein ekzon bölgesi DNA dizisi, 443. nükleotiddeki SNP

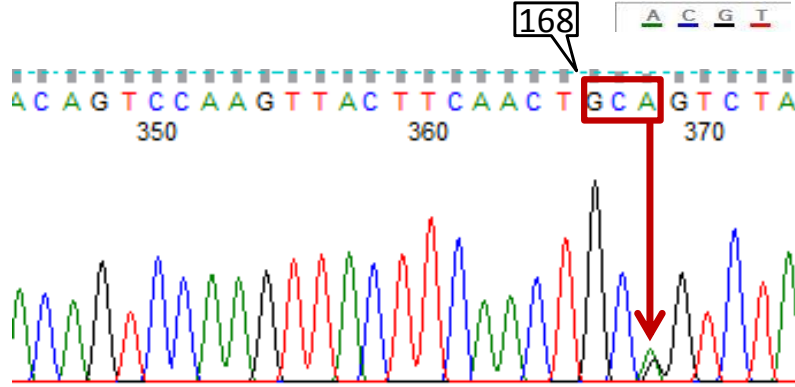
Şekil 3.5’de görüldüğü gibi üçüncü SNP, 443. nükleotidde, $G\mathbf{A}T \rightarrow G\mathbf{C}T$ şeklinde polimorfizm tespit edilmiştir. Meydana gelen bu polimorfizm, 148. amino asitte $D \rightarrow A$ (Aspartik asit \rightarrow Alanin) amino asit değişimine neden olmuştur. Bu amino asit değişimi daha öncede belirtildiği gibi κ -kazein geni temel alleleri olan A ve B allelerini belirleyen amino asitlerdir. Nitekim, 136. amino asitte Treonin ($A\mathbf{T}C$), 148 amino asitte ($G\mathbf{A}T$) olduğunda A alleli, 136. amino asitte İzolösin ($A\mathbf{C}C$), 148 amino asitte Alanin ($G\mathbf{C}T$) olduğunda B alleli oluşmaktadır.



Şekil 3.6: κ -kazein ekzon bölgesi DNA dizisi, 450. nükleotiddeki SNP

Şekil 3.6’de dördüncü SNP noktası görülmektedir. 450. nükleotidde, $CC\mathbf{A} \rightarrow CC\mathbf{G}$ şeklinde polimorfizm tespit edilmiştir. Amino asit dizisine bakıldığında 150 amino asit olan prolin olduğu görülmektedir. Ancak, $CC\mathbf{A} \rightarrow CC\mathbf{G}$ şeklinde tespit edilen polimorfizm amino asit dizisinde değişikliğe

neden olmamıştır. Aynı amino asit olmasına rağmen söz konusu SNPden A allelinden ayırt edilebilmesi için A1 alleli olarak tanımlanmaktadır.

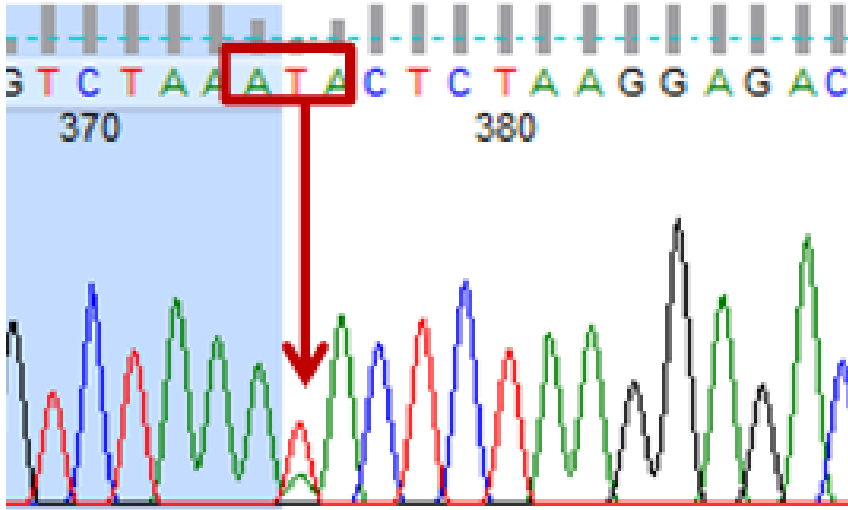


Şekil 3.7: κ -kazein ekzon bölgesi DNA dizisi, 512. nükleotiddeki SNP

Şekil 3.7’de beşinci SNP noktası görülmektedir. 512. nükleotidde, CCA→CCG şeklinde polimorfizm tespit edilmiştir. Amino asit dizisine bakıldığında 168. amino asit olan alanin olduğu görülmektedir. Ancak, GCA→GCG şeklinde tespit edilen polimorfizm amino asit dizisinde değişikliğe neden olmamıştır. Aynı amino asit olmasına rağmen söz konusu SNPden dolayı G2 alleli olarak tanımlanmaktadır.

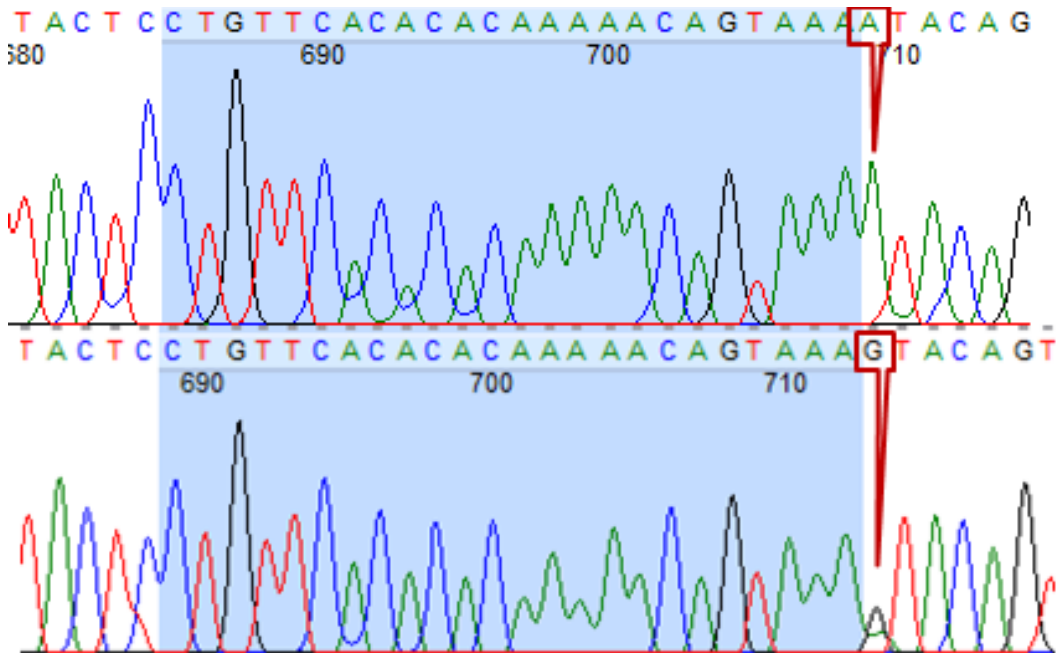
3.1.2 κ -kazein geni intron bölgesi ile ilgili bulgular

κ -kazein intron bölgesinde iki SNP belirlenmiştir. Bu SNPlerden ilki intron bölgesinde belirlenen ilk SNP Şekil 3.8’de görülmektedir. Bu noktada A→T ye bir SNP tespit edilmiştir.



Şekil 3.8: κ -kazein intron bölgesi DNA dizisi, 4. nükleotiddeki SNP noktası

İlk SNP'ye 336 nükleotid mesafede ikinci SNP tespit edilmiştir. Şekil 3.9'da görüldüğü gibi intron bölgesi A→G ye ikinci SNP olduğu görülmektedir.



Şekil 3.9: κ -kazein intron bölgesi DNA dizisi, 340. nükleotiddeki SNP

3.1.3 κ -kazein geni biyoinformatik analizi

Metod bölümünde belirtildiği gibi NCBI Blastn analizi yapılarak biyoinformatik analiz yapıldı. Bu analizler sonucunda elde ettiğimiz dizilerin sığır κ -kazein ait olduğu teyit edildi. Şekil 3.10 de sığır κ -kazein geninin özeti verilmiştir.

CSN3 casein kappa [*Bos taurus* (cattle)]

Gene ID: 281728, updated on 21-Sep-2013

Summary

Symbol CSN3
Full Name casein kappa
Locus tag BOS_6769
See related [BGD:BT10110](#)
Gene type protein coding
RefSeq status PROVISIONAL
Organism [Bos taurus](#)
Lineage Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi; Mammalia; Eutheria; Laurasiatheria; Cetartiodactyla; Ruminantia; Pecora; Bovidae; Bovinae; Bos
Also known as CSNK; CSN10
Annotation information Annotation category: partial on reference assembly

Genomic context

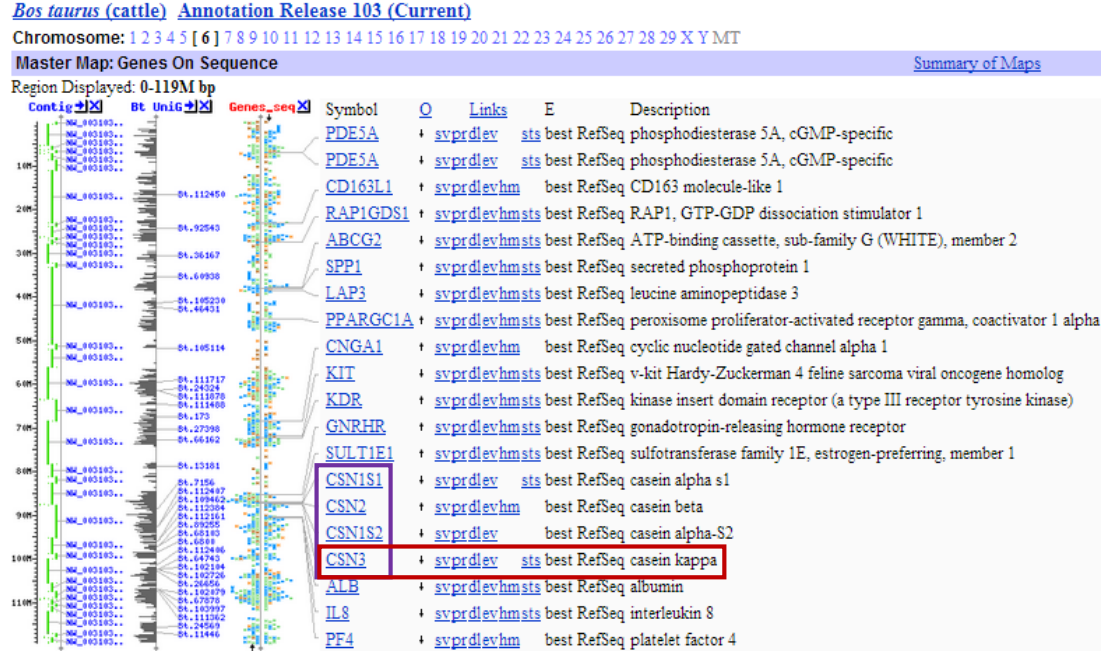
Location: 6q31 See CSN3 in [MapViewer](#)
Sequence: Chromosome: 6; AC_000163.1 (87390197..87392750)

Şekil 3.10: Sığır κ -kazein geni özeti

(http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?cmd=retrieve&dopt=full_report&list_uids=281728) Erişim tarihi: 18/03/2014

Şekil 3.11 de sığır κ -kazein geninin kromozom 6'daki tam yeri görülmektedir. Daha öncede belirtildiği gibi kromozom 6'da, 200-kb uzunluğundaki bir bölümde süt proteinlerinden sırasıyla, α S1, α S2, β ve κ -kazein bulunmaktadır. α S1, α S2, β -kazein genleri birbirine yakın bağlantılı ve evrimsel

bağlantı oluşturur iken, κ -kazein geni bunlardan yaklaşık 70 kb uzağında yer almaktadır (Eigel, 1984, Ferretti ve ark. 1990).



Şekil 3.11: Bos taurus kromozom 6'daki genler

(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/mapview/maps.cgi?taxid=9913&chr=6>) Erişim tarihi: 18/03/2014

3.1.4 κ -kazein geni istatistiksel analizi

Tablo 3.2'da elde edilen sonuçların genotip ve allel frekans dağılım tablosu verilmiştir. 135. lokus daha önce belirtildiği gibi Treonin (ACC)→İzolösin (ATC) değişimi olduğunu ve bu değişim κ -kazein A ve H allellerinin olduğu belirtilmişti. 88 örnekten 42'si CC, 35'i CT ve 11'nin TT olduğu görülmektedir. Gözlenen bu durumun CC için 40.12, CT için 38.76 ve TT için 9.12 şeklinde değişmesi beklenmektedir. Bu lokusun allel frekans üzerine etkisi incelediğinde, C'in 0.676^A

ve T'nin 0.324^H olduğu tespit edilmiştir. Genotip frekansına bakıldığında, CC'nin 0.477^{AA}, CT'nin 0.398^{AH} ve TT'nin 0.125^{HH} olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 3.2: Boz ırk sığırın κ -kazein geni genotip ve alel frekans dağılımı

Locus	n		Göz(g)	Bek (B)	Allel frekans		Genotip frekans		χ^2
135. <u>ACC/ATC</u>	88	CC	42	40.12	C	0.676 ^A	CC ^{AA}	0.477	0.8404ns
		CT	35	38.76	T	0.324 ^H	CT ^{AH}	0.398	
		TT	11	9.12			TT ^{HH}	0.125	
136. <u>ACC/ATC</u>	88	CC	35	33.64	C	0.619 ^A	CC ^{AA}	0.398	0.3818ns
		CT	39	41.71	T	0.381 ^B	CT ^{AB}	0.443	
		TT	14	12.63			TT ^{BB}	0.159	
148. <u>GAT/GCT</u>	88	AA	42	43.57	A	0.705 ^A	AA ^{AA}	0.477	0.6554 ns
		AC	40	36.84	C	0.295 ^B	AC ^{AB}	0.455	
		CC	6	7.57			CC ^{AA}	0.068	
150. <u>CCA/CCG</u>	88	AA	74	74.52	A	0.921 ^A	AA ^{AA}	0.841	0.3818ns
		AG	14	12.96	G	0.079 ^{A1}	AG ^{AA1}	0.159	
		GG	0	0.52			GG ^{A1A1}	0.000	
168. <u>CCA/CCG</u>	88	AA	36	38.11	A	0.659 ^A	AA ^{AA}	0.409	0.3152ns
		AG	44	39.77	G	0.341 ^{G2}	AG ^{AG2}	0.500	
		GG	8	10.12			GG ^{G2G2}	0.091	

n: Örnek sayısı, Cöz(G): Gözlenen, Bek(B): Beklenen, A, A1, B ve H allelleri, AA, AA1, A1A1, AB, BB, AG2, G2G2, AH ve HH genotipleri, ns: non-significant, Allel frekansı, Genotip frekansı, χ^2 : Kİ-kare

136. lokus incelendiğinde, Treonin (ACC)→İzolösün (ATC) değişimi olduğunu ve bu değişimin κ -kazein A ve B allelerini belirleyen ilk lokus olduğu belirtilmişti. 88 örnekten 35'si CC, 39'i CT ve 14'nin TT olduğu görülmektedir. Gözlenen bu durumun CC için 33.64, CT için 41.77 ve TT için 12.63 şeklinde değişmesi beklenmektedir. Bu lokusun allel frekans üzerine etkisi incelendiğinde,

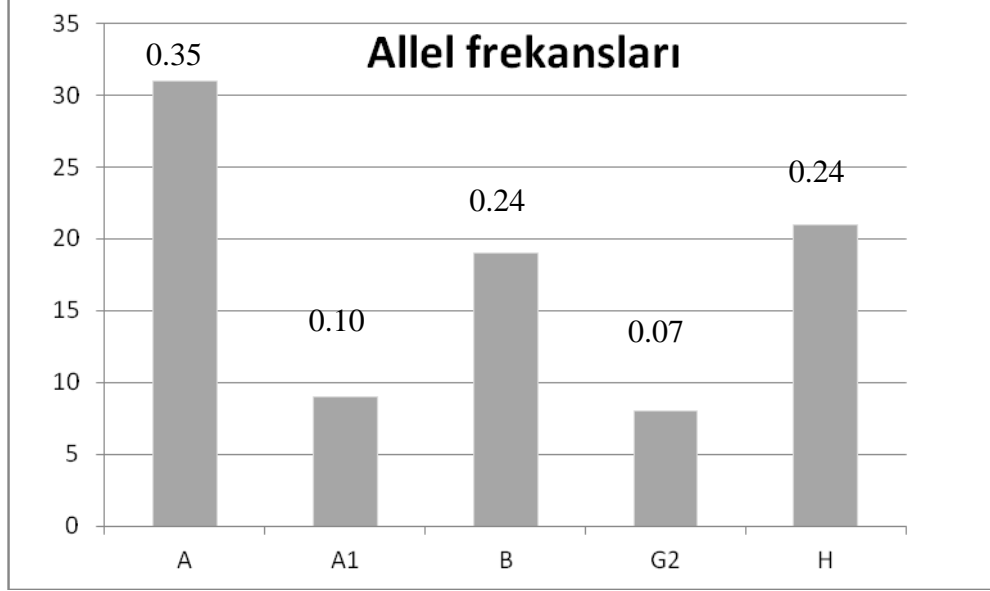
C'in 0.619^A ve T'nin 0.381^B olduğu tespit edilmiştir. Genotip frekansına bakıldığında, CC'nin 0.398^{AA}, CT'nin 0.443^{AB} ve TT'nin 0.159^{BB} olduğu tespit edilmiştir.

148. incelendiğinde Aspartik asit (GAT)→Alanin (GCT) değişimi olduğunu ve bu değişimin κ -kazein A ve B allelerini belirleyen ikinci lokus olduğu belirtilmişti. 88 örnekten 42'si AA, 40'i AC ve 6'nin CC olduğu görülmektedir. Gözlenen bu durumun AA için 43.57, AC için 36.84 ve CC için 7.57 şeklinde değişmesi beklenmektedir. Bu lokusun allel frekans üzerine etkisi incelediğinde, A'in 0.705^A ve T'nin 0.295^B olduğu tespit edilmiştir. Genotip frekansına bakıldığında, AA'nin 0.477^{AA}, AC'nin 0.455^{AB} ve CC'nin 0.068^{BB} olduğu tespit edilmiştir.

150. lokus incelendiğinde CCA→CCG değişimi olduğunu ve bu değişim prolin amino asitinde değişikliğine neden olmadığını ve yine daha önce belirtildiği gibi κ -kazein A ve A1 allelerinin olduğu belirtilmişti. 88 örnekten 74'si AA, 14'i AG olduğu ve homozigot GG'nin olmadığı görülmektedir. Gözlenen bu durumun AA için 74.52, AG için 12.57 ve GG için 0.52 şeklinde değişmesi beklenmektedir. Bu lokusun allel frekans üzerine etkisi incelediğinde, A'in 0.921^A ve G'nin 0.1594^{A1} olduğu tespit edilmiştir. Genotip frekansına bakıldığında, AA'nin 0.477^{AA}, AG'nin 0.398^{AA1} ve GG'nin 0.000^{A1A1} olduğu tespit edilmiştir.

168. lokus incelendiğinde GCA→GCG değişimi olduğunu ve bu değişim alanin amino asitinde değişikliğine neden olmadığını ve yine daha önce belirtildiği gibi bu lokusun G2 allelinin olduğu belirtilmişti. 88 örnekten 36'si AA, 44'i AG olduğu ve 8'i GG'nin olmadığı görülmektedir. Gözlenen bu durumun AA için 38.11, AG için 39.77 ve GG için 10.12 şeklinde değişmesi beklenmektedir. Bu lokusun allel frekans üzerine etkisi incelediğinde, A'in 0.659^A ve G'nin 0.341^{G2} olduğu tespit edilmiştir. Genotip frekansına bakıldığında, AA'nin 0.409^{AA}, AG'nin 0.500^{AG2} ve GG'nin 0.091^{G2G2} olduğu tespit edilmiştir.

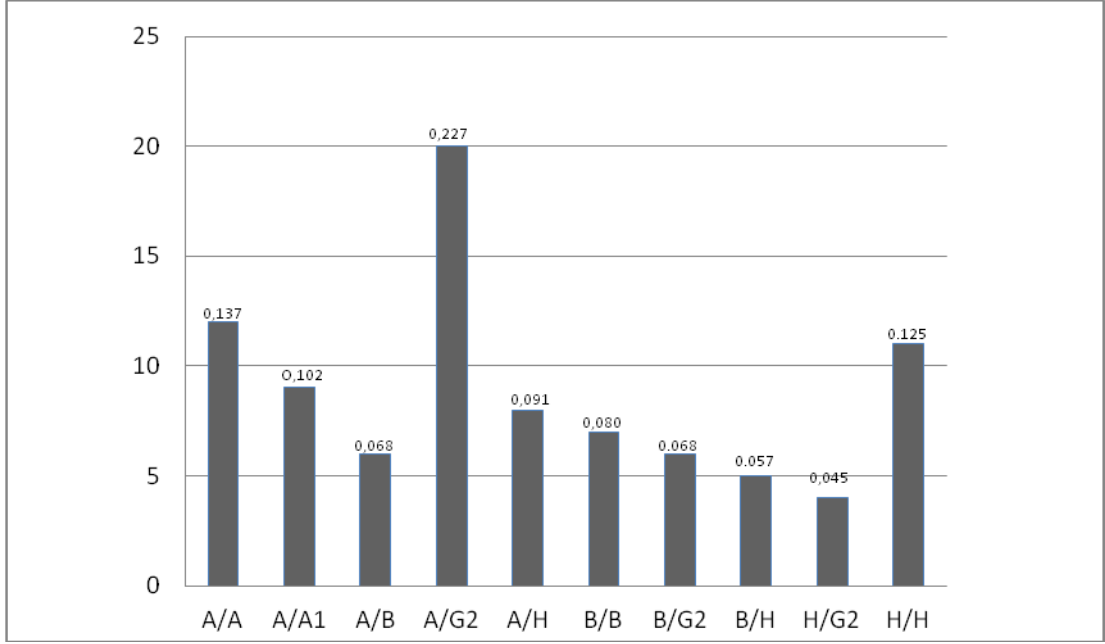
Metod bölümünde belirtildiği gibi κ -kazein geni allel ve genotip frekansları elle sayım yöntemine göre belirlenmiştir



Şekil 3.12: κ -kazein geni allel frekans grafiği

Şekil 3.12’de κ -kazein geni allel frekansları grafik halinde gösterildi. Elde edilen sonuçlara göre, 88 adet Boz ırk sığırın 31’i A, 9’u A1, 21’u B, 6’i G2 ve 21’i H alleleline sahip olduğu tespit edildi. Allel frekanslarına bakıldığında sırasıyla; 0.352, 0.102, 0.239, 0.068 ve 0.239 olarak tespit edildi.

Şekil 3.13’de κ -kazein geni verilerinden elde edilen genotip frekansları görülmektedir. Toplam 88 Boz ırk sığırdan 12’si AA, 9’u AA1, 6’sı AB, 20’si AG2, 8’i AH, 7’si BB, 6’sı BG2, 5’i BH, 4’ü HG2 ve 11’i HH genotipleri olarak tespit edilmiştir. Genotip frekanslarına bakıldığında sırasıyla; 0.136, 0.102, 0.068, 0.227, 0.091, 0.080, 0.068, 0.057, 0.045 ve 0.125 olarak tespit edilmiştir.



Şekil 3.13: κ -kazein geni genotip frekans grafiği

POPGENE 32 programı kullanılarak elde edilen χ^2 değerleri sırasıyla 0.8404, 0.3818, 0.6554, 0.3818 ve 0.3152 olarak tespit edilmiştir. Elde edilen bu değerlerin tesadüflere bağlı olduğunu, yani örnekleri oluşturan bireylerin birbirlerini etkilemediği söyleyebiliriz. Bu nedenle elde edilen χ^2 değerleri istatistiksel olarak önemsiz olarak değerlendirilmektedir. Bu durumda, araştırmamıza konu olan Boz ırk sığır sürüsünün Hardy-Weinberg dengesinde olduğunu söyleyebiliriz.

3.1.5 κ -kazein geni filogenetik ağaçları

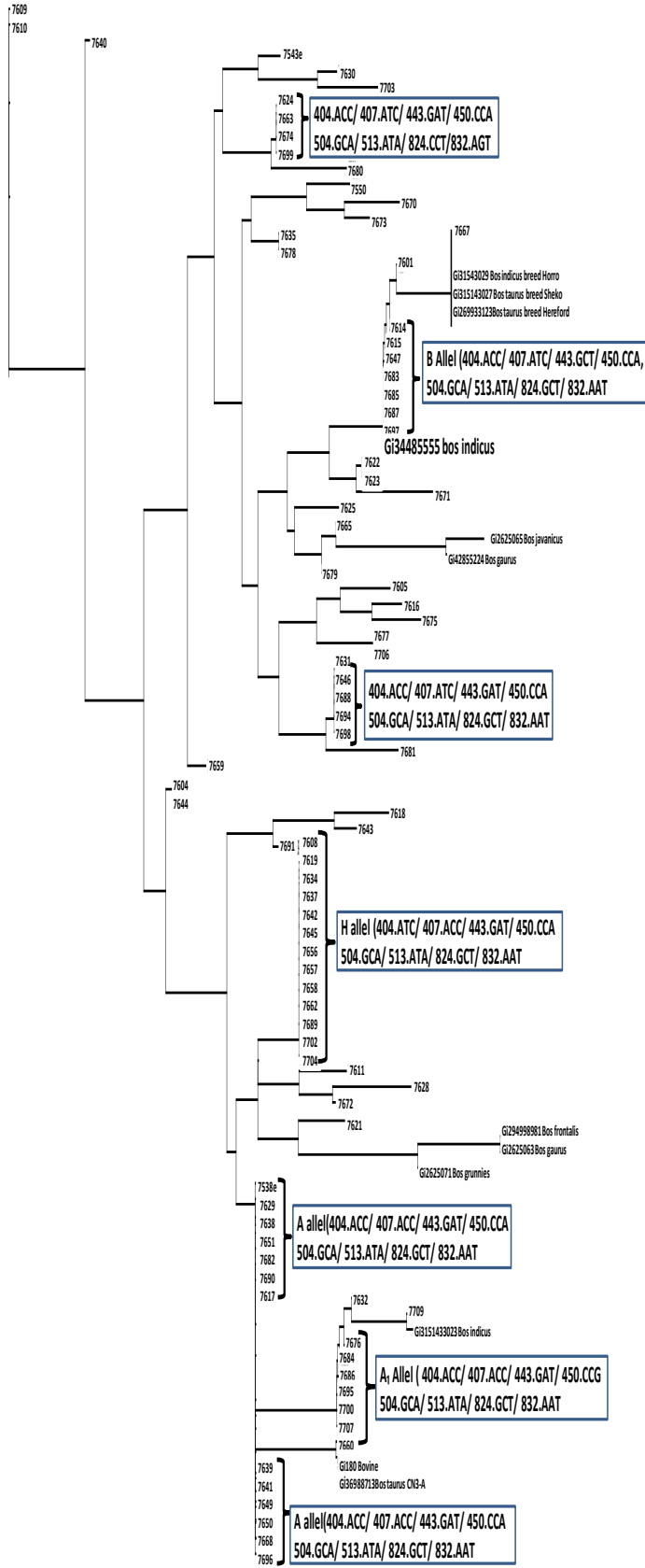
Daha öncede belirtildiği gibi κ -kazein geni için çoğaltılan bölge bir ekzon ve bir intron içermektedir. Metod bölümünde belirtildiği gibi tüm dizi, ekzon, intron ve amino asit olmak üzere toplam dört filogenetik ağaç oluşturulmuştur. Filogenetik ağaçlar üzerinde görülen numaralar kan örneklerini aldığımız Boz ırk

sığırların kulak numaraları ile dış grupların erişim numaralarıdır. Kutucuklar içerisinde grupların ortak dizi ve allelleri verilmiştir.

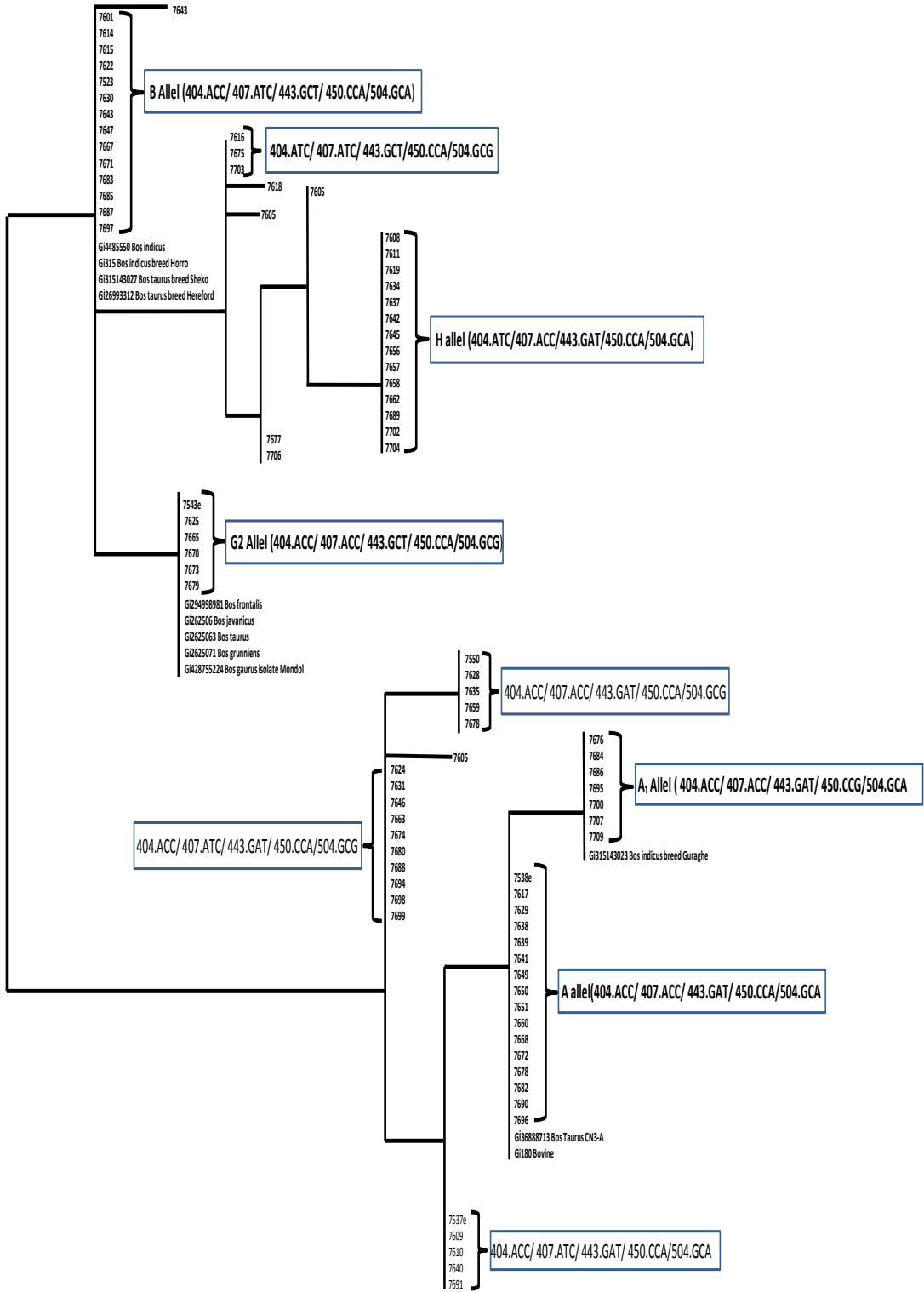
Şekil 3.14'da *κ-kazein* geninin bütün dizi görülmektedir. Filogenetik ağaca bakıldığında çok dallı bir yapının oluştuğu görülmektedir. Filogenetik ağaç dikkatle incelendiğinde, düşük süt verimi ve bileşimi ile ilişkilendirilen *κ-kazein* geni A, A1.H ve G2 allellere sahip sığırların filogenetik ağaç içinde birbirine yakın ve özellikle ağacın dış kısmına doğru buldukları görülmektedir. *κ-kazein* B alleleline sahip sığırların ise, A, A1 H ve G2 allellerinden uzak bölge bulunduğu görülmektedir.

Şekil 3.15'de *κ-kazein* geni ekzon bölgesi filogenetik ağacına bakıldığında, bütün diziye ait filogenetik ağaca göre daha az dallı bir yapının oluştuğu görülmektedir. Yine dikkat çekici bir şekilde özellikle B alleli ağacın dış kısmına doğru yer aldığı görülmektedir. A ve A1 allellerinde birbirine yakın, B alleleline göre uzak bölgede yer aldığı görülmektedir.

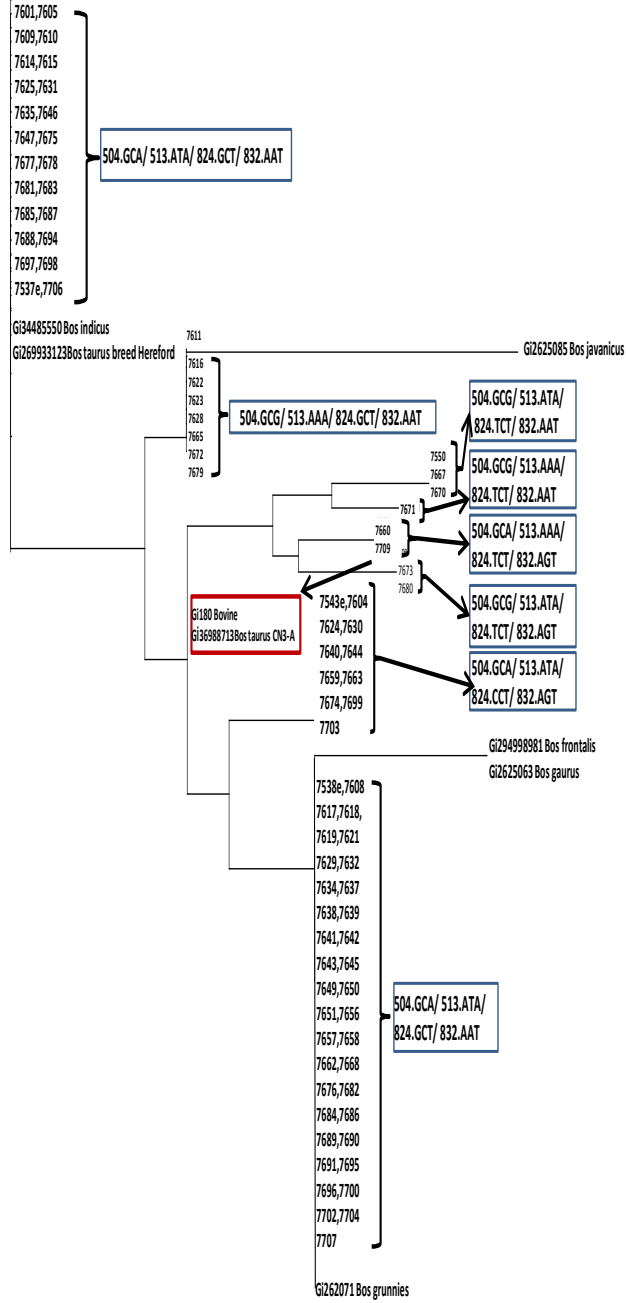
Şekil 3.16'de *κ-kazein* geni intron bölgesi incelendiğinde de, filogenetik ağacın çok dallı yapıda olduğu görülmektedir.



Şekil 3.14: κ -kazein geni dizisi filogenetik ağacı

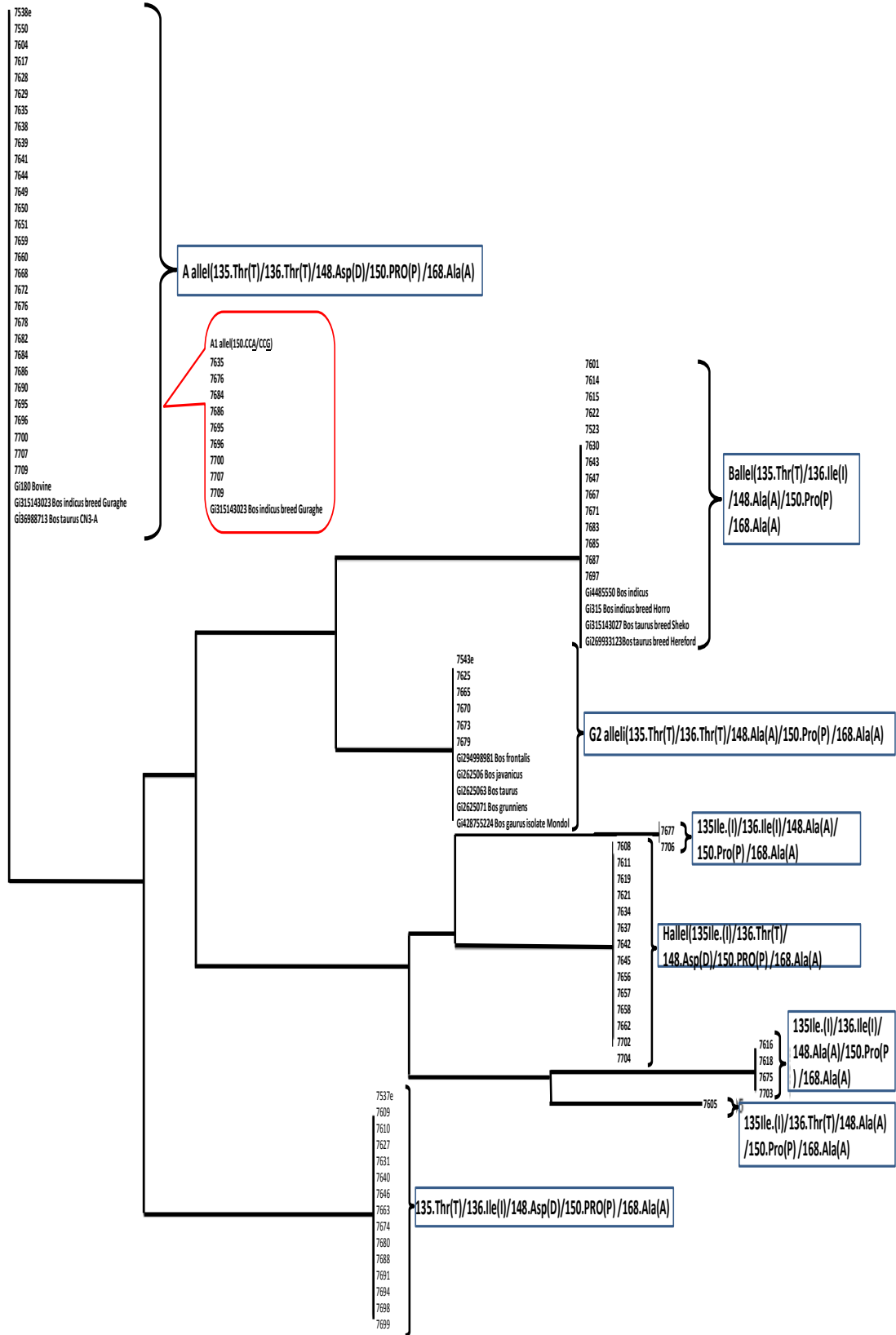


Şekil 3.15: κ -kazein geni ekzon bölgesi filogenetik ağacı



0.001

Şekil 3.16: κ -kazein geni intron bölgesi filogenetik ağacı



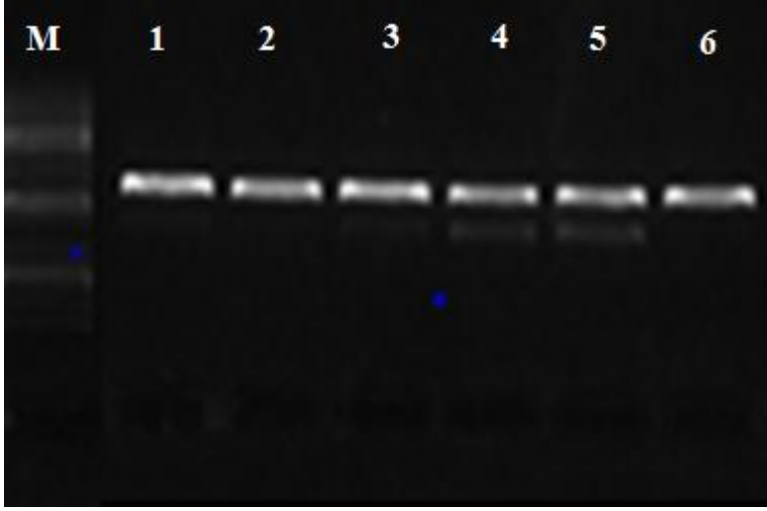
Şekil 3.17: κ -kazein geni amino asit dizisi filogenetik ağacı

Şekil 3.17’de κ -kazein aminoasit dizisi filogenetik ağacın çok daha az dallı bir yapı kazandığı görülmektedir. Filogenetik ağaç incelediğinde A1 allelinin, A alleli içinde olduğu görülmektedir. Bunun sebebi, A1 allelini belirleyen 150 amino asit olan prolindir. Daha önce belirtildiği gibi 450. nükleotidde CCA→CCG bir SNP nin olduğu ancak bu nükleotid değişikliğinin amino asit değişikliğine neden olmamaktadır. Bu yüzden ekzon filogenetik ağacında ayrı görülen A1 allelini oluşturan bireyle, amino asit filogenetik ağacında A alleli içinde yer almaktadır.

κ -kazein geni filogenetik ağaçlarının çok dallı yapıda olduğu ve özellikle düşük süt verimi ve kompozisyonu ile ilişkilendirilen κ -kazein A allelinin filogenetik ağacın dış kısmına doğru ve yüksek süt verimi ve kompozisyonu ile ilişkilendirilen κ -kazein B allelinden uzak bir bölgede lokalize olduğu görülmektedir. Aynı zamanda filogenetik ağaç oluşturulan dış gruplarında filogenetik ağaç içinde dağılmış olması dikkate değerdir. Çünkü filogenetik ağaç oluşturulmuş iken kullanılan dış gruplar söz konusu Boz ırk sığırlara, κ -kazein geni yönünden daha az benzerlik gösteren sığırlardan seçilmiştir. Normal şartlarda bu durumda bu dış grupların, oluşturulan filogenetik ağacın dış kısmına doğru lokalize olması beklenir. Tam tersine dış grupların filogenetik ağaç içinde dağılmış durumda olduğu görülmektedir. Bu durum bize sığırlar arasında κ -kazein geni yönünden önemli bir seçim baskısının olduğu ve bu seçim baskısının özellikle düşük süt verimi ve bileşimi ile ilişkilendirilen κ -kazein A alleli yönünde olduğunu göstermektedir.

3.2 POMC geni ile ilgili bulgular

Boz ırk sığırlara ait alınan kan örnekleri, metod bölümünde anlatıldığı gibi gDNA izole edilerek, hedef POMC gen bölgesi PZRde çoğaltıldı. Elde edilen PZR ürünleri %0.8lik agaroz jelde yürütülerek şekil 3.18 deki gibi görüntüldü. Yaklaşık 950-970 bp uzunluğunda bantların elde edildi.



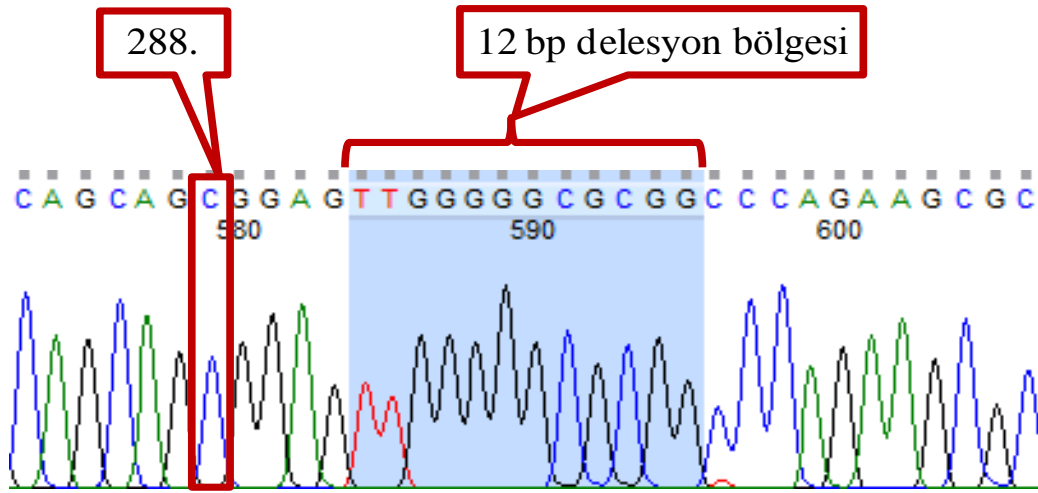
Şekil 3.18: *POMC* geni jel görüntüsü

[M: marker (SM 0311 Gene Ruler 1 kb DNA ladder, ThermoScientific, USA), 1, 2, 3, 4, 5 ve 6 jelde yürütülen örnekler]

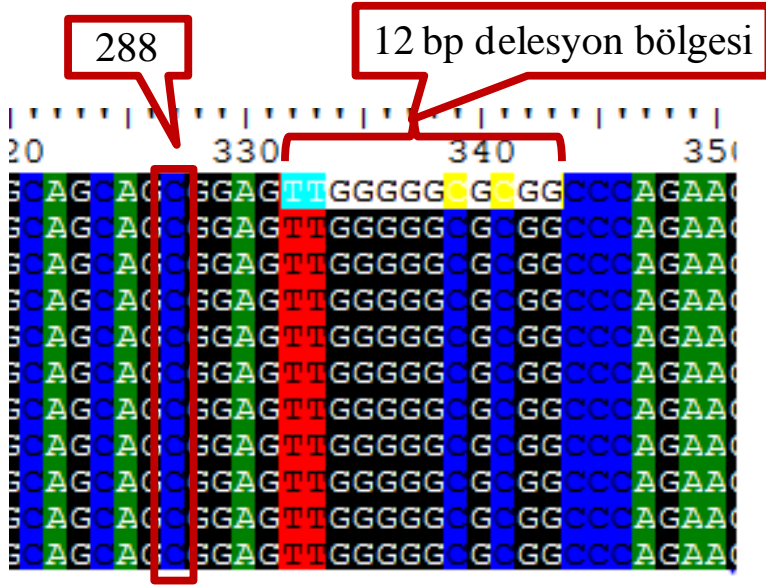
Jelde net bant elde edilen örnekler daha önce belirtildiği gibi dizilendi. Elde edilen dizilerin analizi yapıldı. Öncelikle FinchTV programı yardımı ile dizilerin kalitesi kontrol edildi. Kalitesi yetersiz olan diziler tekrar edildi. Dizi uzunluklarının yaklaşık 950-970 bp uzunluğunda olduğu görüldü. Bütün diziler BioEdit programı yardımıyla hizalandı. Dizilerin fazlalık kısımları kesildikten sonra tüm diziler 696 bp'lik uzunluğunda eşitlendi. BioEdit programının Accessory Application/Blast/Local Blast/http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST alt programı kullanılarak diziler doğrulandı. 696 bp uzunluğundaki dizinin bir intron ve bir ekzon içerdiği görüldü. Bu SN'lerin; bütün *POMC* gen dizisi üzerinden c.6522C>G, c.6553G>T ve c.6596G>T intron ve c.6706 T>C'nin ise ekzon bölgesinde olduğu görüldü. Bütün dizi NCBI veri tabanından (NCBI Reference Sequence: NC_007309.5) teyit edildi. Tespit edilen SN'lerin ilk üçünün *POMC* genini 2. intronundaki 2261., 2292. Ve 2335. nükleotidler olduğu Ekson bölgesindeki c.6706T>C'nin ise *POMC* geni üzerinde c.198 T>C olduğu görüldü.

3.2.1 *POMC* geni ekzon bölgesi ile ilgili bulgular

Giriş kısmında belirtildiği gibi, bazı sığırlarda 12 bp uzunluğunda bir delesyonun olduğu ve bu delesyon bölgesinin 5 nükleotid öncesinde C→T ye bir SNP tespit edildiğini ifade edilmişti.

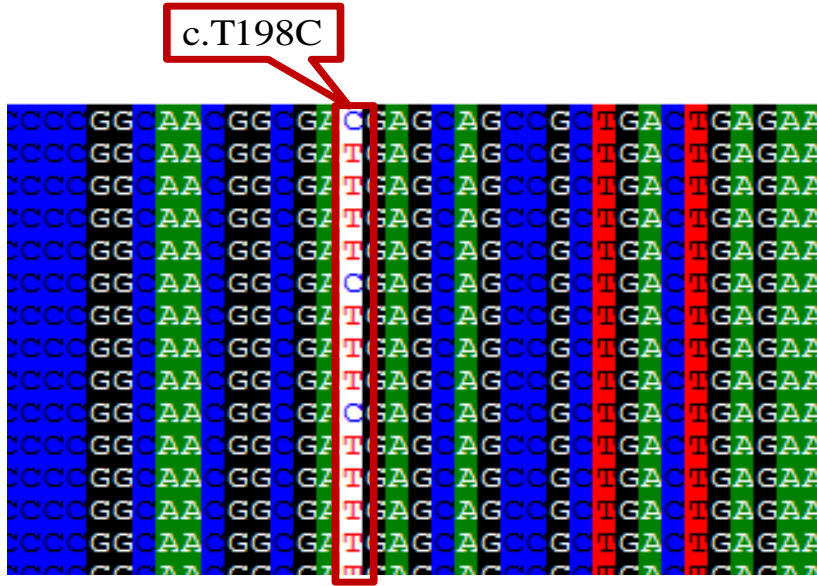


Şekil 3.19: *POMC* geni DNA dizisi, SNP ve delesyon bölgesi-1

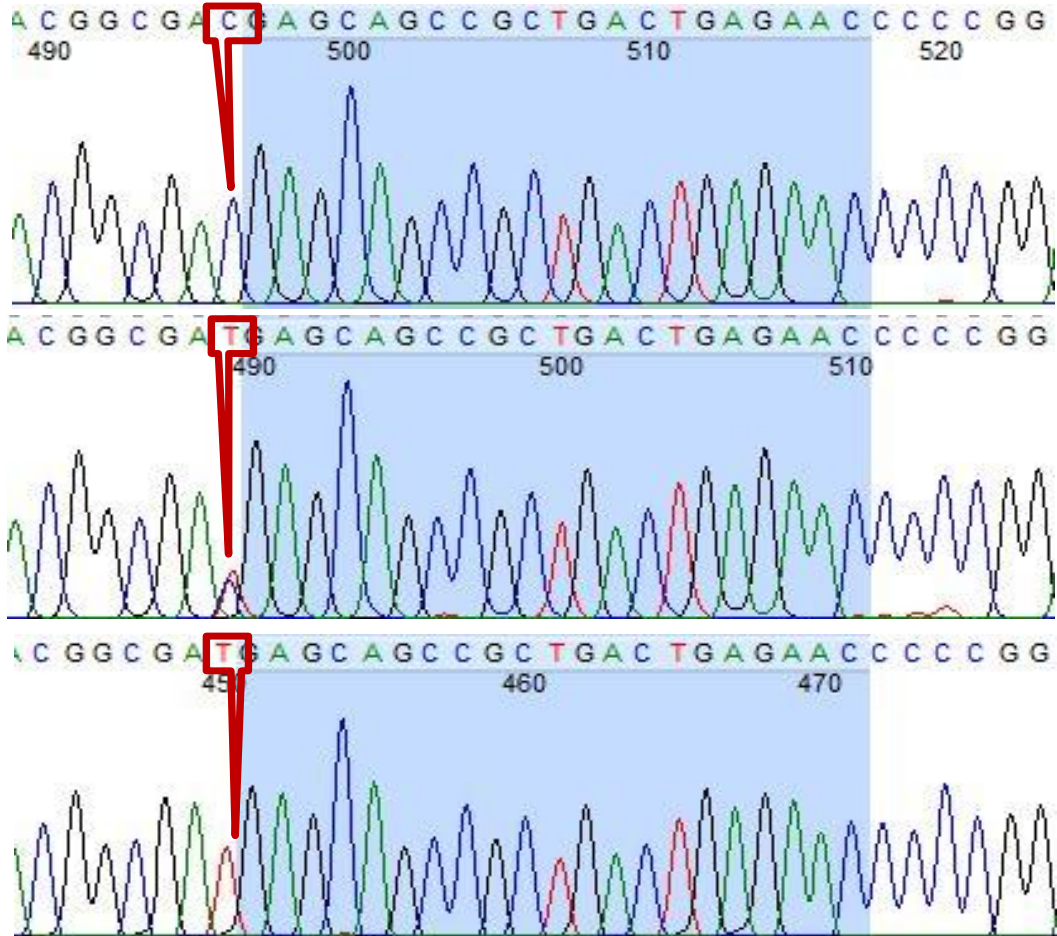


Şekil 3.20: *POMC* gen dizisi, SNP ve delesyon bölgesi-2

Şekil 3.19 ve şekil 3.20’de görüldüğü gibi Boz ırk sığırların *POMC* geninde delesyonun olmadığı ve daha önce ifade edilen SNP noktasında ise her zaman C tespit edilmiş, yani bu noktada herhangi bir mutasyon görülmemiştir.



Şekil 3.21: *POMC* geni ekson bölgesi DNA dizisi, 198. nükleotiddeki SNP

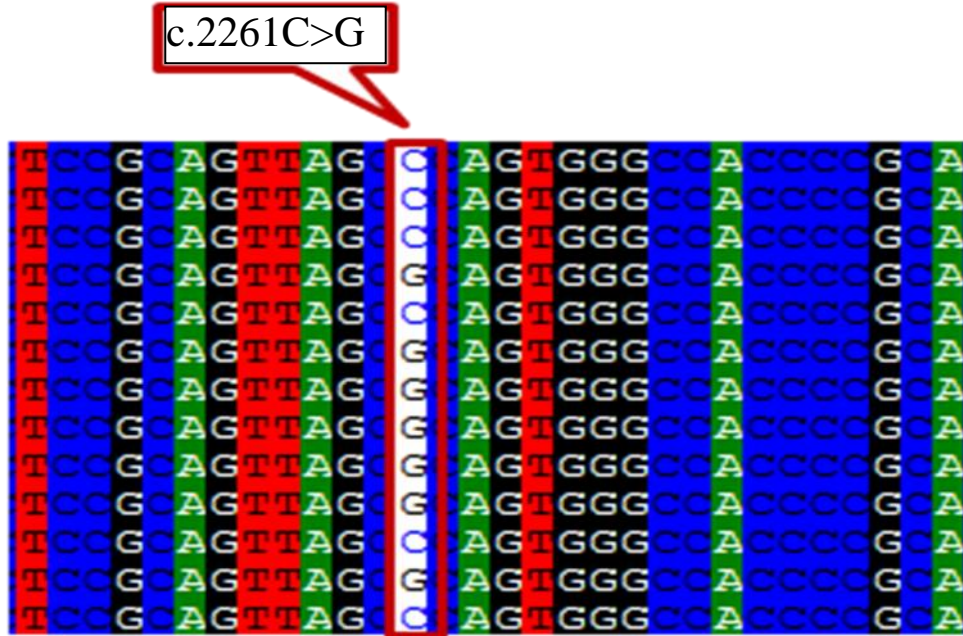


Şekil 3.22: *POMC* geni ekson bölgesi DNA dizisi, 198. Nükleotiddeki SNP

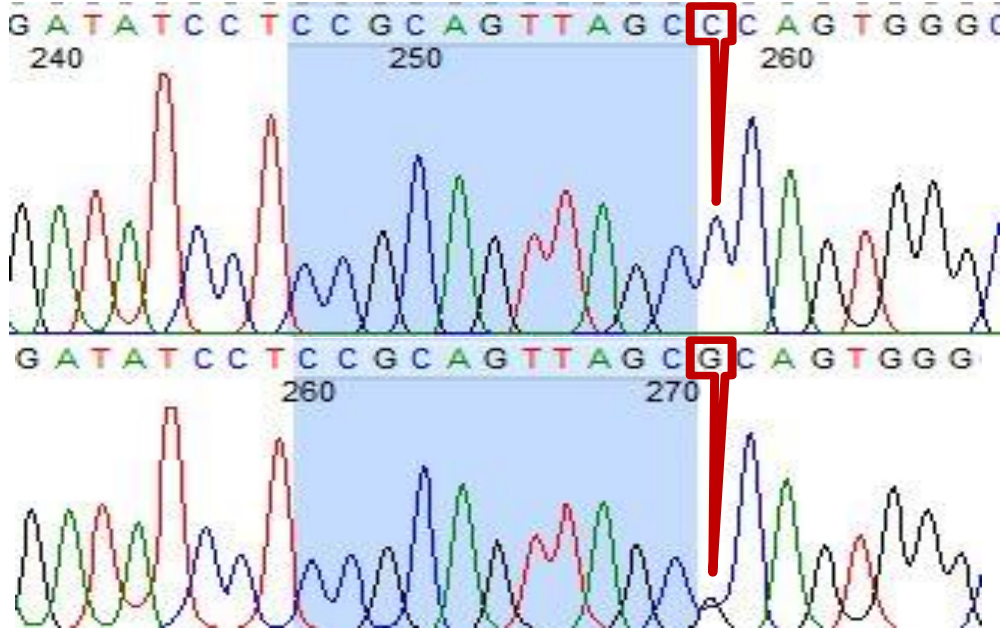
POMC geni ekson bölgesinde, *POMC* geni 198. nükleotidinde gerçek dizi üzerinde bir T→C ye SNP belirlenmiştir. Belirlenen bu SNP amino asit kodonuna bakıldığında GAT/GAC şeklinde gerçekleştiği görülmektedir. Her iki durumda aspartik asit (D) amino asiti elde edilgi için tespit edilen bu SNP sessiz bir mutasyondur. Belirlenen bu sessiz mutasyon şekil 3.21 ve şekil 3.22’de görülmektedir.

3.2.2 *POMC* geni intron bölgesi ile ilgili bulgular

POMC geni intron noktasında üç SNP belirlendi. Bu SNPlerden ilki bütün dizi üzerinde c.6522C>G, intron üzerinde c.2261C>G olduğu görüldü. Şekil 3.23 ve şekil 3.24’de *POMC* geni birinci SNP noktaları görülmektedir.

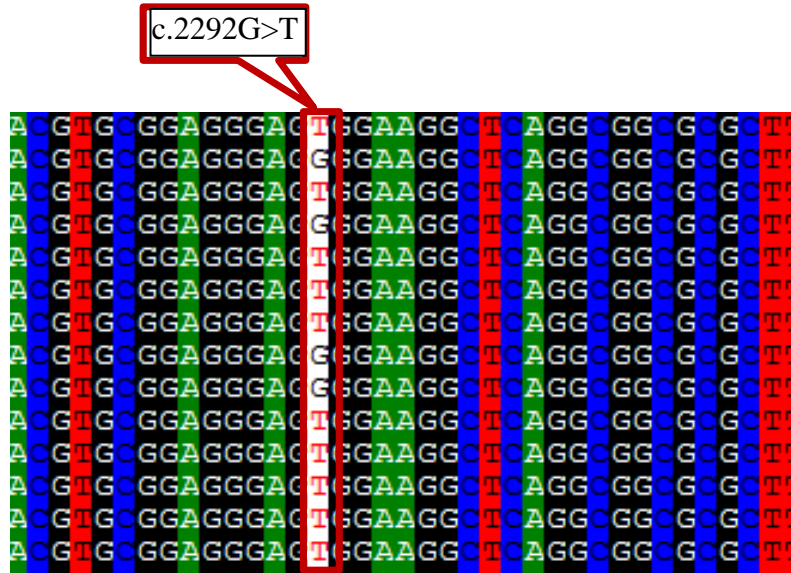


Şekil 3.23: *POMC* geni intron bölgesi DNA dizisi, 2261. nükleotiddeki SNP resmi-1

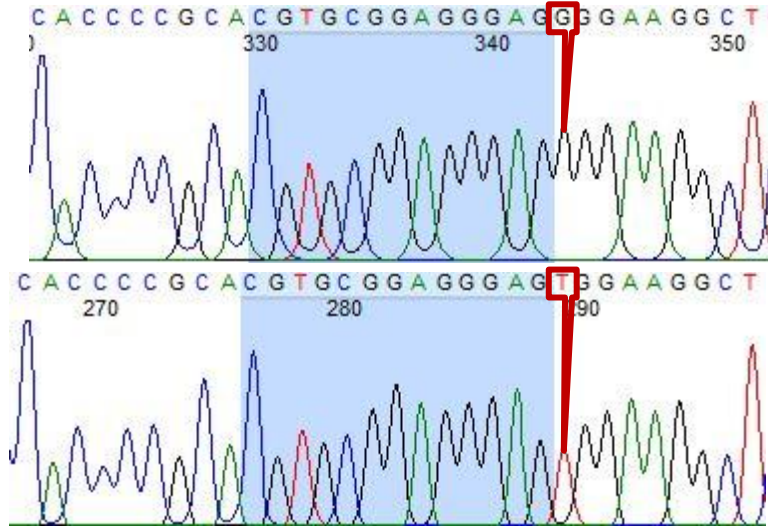


Şekil 3.24: *POMC* geni intron bölgesi DNA dizisi, 2261. Nükleotiddeki SNP resmi-2

POMC geninde ikinci SNP, bütün dizi üzerinde c.6553G>T, intron üzerinde c.2292G>T olduğu görüldü.. Şekil 3.25 ve şekil 3.26'da *POMC* geni ikinci SNP noktaları görülmektedir.



Şekil 3.25: *POMC* geni intron bölgesi DNA dizisi, 2292. nükleotiddeki SNP resmi-1

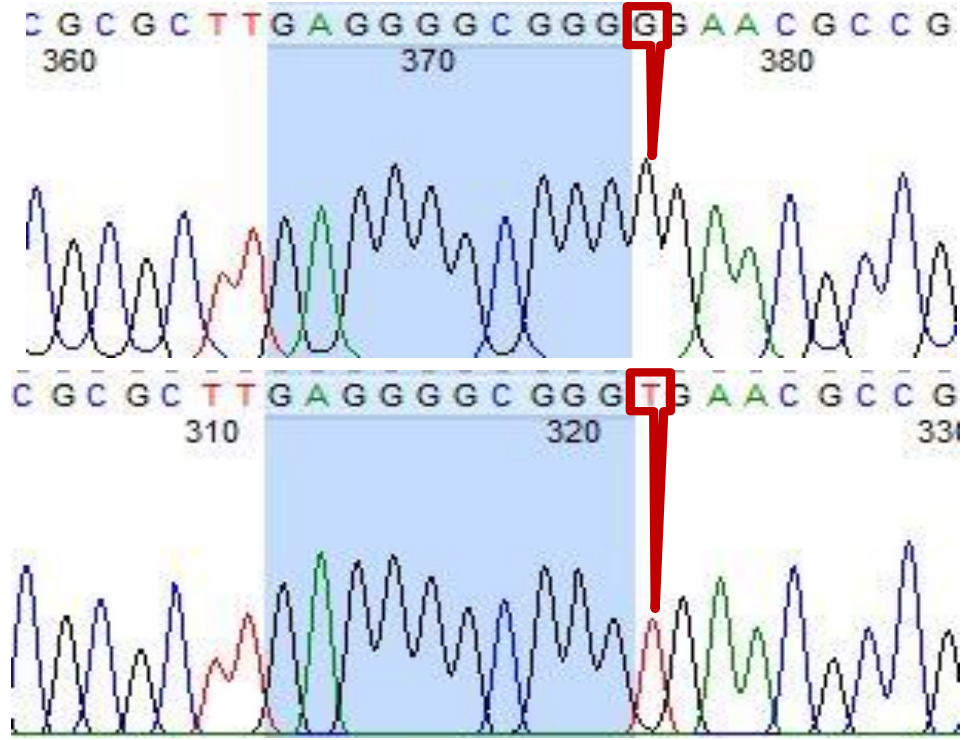


Şekil 3.26: *POMC* geni intron bölgesi DNA dizisi, 2292. nükleotiddeki SNP resmi-2

POMC geninde üçüncü SNP, bütün dizi üzerinde c.6596G>T, intron üzerinde c.2335G>T olduğu görüldü. Şekil 3.27 ve şekil 3.28'de *POMC* geni ikinci SNP noktaları görülmektedir.



Şekil 3.27: *POMC* geni intron bölgesi DNA dizisi, 2335. nükleotiddeki SNP resmi-1



Şekil 3.28: *POMC* geni intron bölgesi DNA dizisi, 2335. nükleotiddeki SNP resmi-2

3.2.3 *POMC* geni biyoinformatik analizi

Metod bölümünde belirtildiği gibi NCBI Blastn analizi yapıldı. Analiz sonucunda, Boz ırk sığırlardan elde ettiğimiz pro-opimelanokortin dizilerin doğruluğu teyit edildi. Şekil 3.29’da sığır *POMC* genini özeti verilmiştir.

Şekil 3.30’de sığırlara ait kromozom 11’deki gen dağılımı görülmektedir. Aynı zamanda *POMC* geninin kromozom 11’deki yeri görülmektedir

POMC proopiomelanocortin [*Bos taurus* (cattle)]

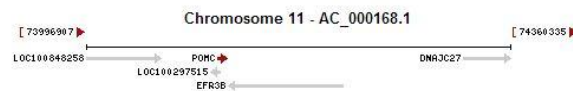
Gene ID: 281416, updated on 28-Dec-2013

Summary

Symbol: POMC
Full Name: proopiomelanocortin
Locus tag: BOS_11800
See related: [BGD:BT11259](#); [Ensembl:ENSBTAG00000007897](#)
Gene type: protein coding
RefSeq status: PROVISIONAL
Organism: [Bos taurus](#)
Lineage: Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi; Mammalia; Eutheria; Laurasiatheria; Cetartiodactyla; Ruminantia; Pecora; Bovidae; Bovinae; Bos

Genomic context

Location: chromosome: 11
Sequence: Chromosome: 11; AC_000168.1 (74109268..74116894) [See POMC in MapViewer](#)



Şekil 3.29: *POMC* geni kromozom özeti

(http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?cmd=retrieve&dopt=full_report&list_uids=281416) Erişim tarihi: 18/03/2014

Bos taurus (cattle) Annotation Release 103 (Current)

Chromosome: 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 [11] 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 X Y MT

Master Map: Genes On Sequence

[Summary of Maps](#)

Region Displayed: 0-107M bp

Contig	Bt UniG	Genes_seq	Symbol	Links	E	Description
NW_085104...	Bt.112377		XDH	+ svpr dlev hm sts	best RefSeq	xanthine dehydrogenase
NW_085104...	Bt.112378		SLC8A1	+ svpr dlev hm sts	best RefSeq	solute carrier family 8 (sodium/calcium exchanger), member
NW_085104...	Bt.106435		LHCGR	+ svpr dlev hm sts	best RefSeq	luteinizing hormone/choriogonadotropin receptor
NW_085104...	Bt.49165		FSHR	+ svpr dlev hm sts	best RefSeq	follicle stimulating hormone receptor
NW_085104...	Bt.106472		NRXN1	+ svpr dlev hm sts	best RefSeq	neurexin 1
NW_085104...	Bt.65322		IL1A	+ svpr dlev hm sts	best RefSeq	interleukin 1, alpha
NW_085104...	Bt.49117		IL1B	+ svpr dlev hm sts	best RefSeq	interleukin 1, beta
NW_085104...	Bt.111716		ACTR2	+ svpr dlev hm sts	best RefSeq	ARP2 actin-related protein 2 homolog (yeast)
NW_085104...	Bt.65326		ANXA4	+ svpr dlev hm sts	best RefSeq	annexin A4
NW_085104...	Bt.112157		POMC	+ svpr dlev hm sts	best RefSeq	proopiomelanocortin
NW_085104...	Bt.47771		ROCK2	+ svpr dlev hm sts	best RefSeq	Rho-associated, coiled-coil containing protein kinase 2
NW_085104...	Bt.106467		GGTA1	+ svpr dlev hm sts	best RefSeq	alpha-galactosyltransferase 1 (glycoprotein)
NW_085104...	Bt.35796		NR5A1	+ svpr dlev hm sts	best RefSeq	nuclear receptor subfamily 5, group A, member 1
NW_085104...	Bt.112390		ENDOG	+ svpr dlev hm	best RefSeq	endonuclease G
NW_085104...	Bt.112055		ASS1	+ svpr dlev hm sts	best RefSeq	argininosuccinate synthase 1
NW_085104...	Bt.106443		CEL	+ svpr dlev hm sts	best RefSeq	carboxyl ester lipase (bile salt-stimulated lipase)
NW_085104...	Bt.4351		PAEP	+ svpr dlev hm sts	best RefSeq	progesterone-associated endometrial protein
NW_085104...	Bt.103020		DBH	+ svpr dlev hm sts	best RefSeq	dopamine beta-hydroxylase (dopamine beta-monooxygenase)
NW_085104...	Bt.80417		PTGDS	+ svpr dlev hm	best RefSeq	prostaglandin D2 synthase 21kDa (brain)
NW_085104...	Bt.111611					
NW_085104...	Bt.6246					
NW_085104...	Bt.106327					
NW_085104...	Bt.112339					
NW_085104...	Bt.100492					
NW_085104...	Bt.106057					
NW_085104...	Bt.111876					
NW_085104...	Bt.112343					
NW_085104...	Bt.107457					
NW_085104...	Bt.106615					

Şekil 3.30: *Bos taurus* kromozom 11'deki genler ve *POMC* geninin yeri

(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/mapview/maps.cgi?TAXID=9913&chr=11&maps=cntg-r%2CugBt%2Cgenes>) Erişim tarihi: 18/03/2014

3.2.4 POMC geni istatistiksel analizi

Metot kısmında belirtildiği gibi elde edilen veriler PopGen32 programı yardımı ile analiz edilmiş ve sonuçlar tablo 3.3’de özetlenmiştir. Buna göre araştırmamıza konu olan 88 Boz ırk sığırdan 43’ü TT, 34’ü TC ve 11’i CC olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçların ilerleyen generasyonlarda TT için 40.88, TC’nin 38.40 ve CC’nin 8.80 olarak değişmesi beklenmektedir. Allel frekansına bakıldığında T için 0.682 ve C için 0.318 olduğu görülmektedir. Genotip frekansı, TT, TC ve CC genotipleri için sırasıyla 0.296, 0.454 ve 0.250 olarak tespit edilmiştir.

Tablo 3.3: Boz ırk sığırın POMC geni genotip ve allel frekans dağılımı

Lokus	n		Göz (G)	Bek (B)	Allel frekans		Genotip frekans		χ^2
237. GAT/GAC	88	TT	43	40.80	T	0.682	TT	0.296	0.2788ns
		TC	34	38.40	C	0.318	TC	0.454	
		CC	11	8.80			CC	0.250	

n: Örnek sayısı, Göz(G): Gözlenen, Bek(E): Beklenen, ns: non-significant, Allel frekansı, Genotip frekansı, χ^2 : Ki-kare

İstatistiksel olarak incelendiğinde χ^2 değeri 0.2788 olarak tespit edilmiştir. Elde edilen bu değer tesadüflere bağlı olduğunu, yani örnekleri oluşturan bireylerin birbirlerini etkilemediği söyleyebiliriz. Bu nedenle elde edilen χ^2 değerleri istatistiksel olarak önemsiz olarak değerlendirilmektedir. Bu durumda, araştırmamıza konu olan Boz ırk sığır sürüsünün Hardy-Weinberg dengesinde olduğunu söyleyebiliriz.

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

Ekonomik açıdan öneme sahip çiftlik hayvanlarındaki genetik araştırmalar, verim özelliklerini (et ve süt verimi gibi), bu verilere bağlı olarak elde edilen hayvansal ürünlerin kalitesine olan etkilerini ve sağlık durumlarını etkileyen genlerin tanımlanması ve haritalanması konusunda yoğunlaşmaktadır. Bu konuda yapılan birçok genom taramaları sonucunda günümüzde birçok QTL tanımlanmış ve aday gen çalışmalarıyla büyüme, beslenme, enerji metabolizmasının düzenlenmesi ve verimi ile ilişkilendirilen genler tespit edilmeye çalışılmaktadır. Bu araştırmalardaki asıl amaç, verim özelliklerini etkileyen genler ve bu genlerin genetik çeşitliliğine neden olan mutasyonları ortaya çıkararak, genomun görev ve yapı yönüyle genlerin birbirleriyle ve dış çevre ile etkileşimlerini ortaya koymaktır. Bu çalışmalar, et ve süt verimi ile ilişkilendirilen genlerin yapı ve fonksiyonlarının belirleyerek kısa sürede ve daha doğru seleksiyon programlarının uygulanmasına katkı sağlamaktadır (Ashwell ve ark. 2004, Akış I, 2009)

Çiftlik hayvanlarında uygulanan ıslah programlarında temel amaç, verim özellikleri üstün olan bireylerin seçilerek daha sonraki nesillere aktarılması ve fenotipik özellikleri yönünden geliştirilmesidir. Ancak bazı özelliklerin ileriki yaşlarda ortaya çıkması veya bazı özelliklerin cinsiyete bağlı olması gibi nedenlerden dolayı fenotipik seleksiyon çalışmaları yetersiz kalabilmektedir. Daha önce belirtildiği yapılan birçok çalışmada ortaya konan, hayvanlarda verim üzerine etkili olduğu düşünülen genler ve bunlar arasında QTL olarak belirlenen aday genler sayesinde klasik fenotipik seleksiyondaki yetersizlikler ortadan kaldırılarak daha hızlı ve kesin sonuç alınan seleksiyonların yapılabilmesi olanaklı hale gelmektedir. Nitekim QTL olarak kesinlik kazanmış genlerden oluşturulmuş markör kitler ticari olarak hayvancılık konusunda ileri ülkelerde kullanılmaya başlanmıştır (Elmacı ve Öner, 2007). Hatta genetik kapasitesi üstün olduğu düşünülen hayvanların çiftleştirilmeleri sonrasında bir-iki nesil sonra doğabilecek yavruların verimleri tahmin edilerek seleksiyon sonrası hataları azaltabilecek çalışmalar yapılmaktadır.

Süt sığırlarında yapılan seleksiyonunda, κ -kazein allel ve genotip frekansları ile süt verimi arasındaki ilişkiyi ortaya koyan ve marker destekli seleksiyon (MAS) olabileceğini destekleyen çok sayıda veri bulunmaktadır. (Lien ve Rogne 1993, Sulimova 2007). Kappa kazein, süt kalitesi ve bileşimi ile bilinen bir ilişki nedeniyle, süt proteini polimorfizmi gibi özel ilgi çekmektedir. (Scheepers ve ark., 2010). Nitekim, sığır κ -kazein A ve B alleleri üzerine yapılan birçok çalışma sonucunda, B alleli taşıyan ineklerin sütünün A alleli taşıyanlara göre, daha iyi ısı direncine sahip olması, daha kısa pıhtılaşma süresi, peynir yapımında tercih edilen daha iyi ve farklı boyutlarda pıhtı oluşumu gibi özelliklerinden dolayı tercih daha üstün olduğu yönünde veri bulunmaktadır. κ -kazein B alleli sadece peynir verimi ve kalitesi ile değil aynı zamanda sütün protein içeriği ve süt verimi gibi önemli parametreler açısından da korelasyon halindedir (Schaar 1985, Marzali 1986, Grosclaude 1988, Patel 2007, Sulimova 2007). Raj ve ark. (2008) göre κ -kazein B alleli sütte yüksek yağ, protein ve kazein ve önemli ölçüde rennet enzimi ile koagülasyonu ile ilişkilidir.

κ -kazein BB genotip ineklerin ürettiği süt, AA genotip ineklerin ürettiği sütlere göre, anlamlı bir şekilde daha fazla peynir vermektedir (Patel ve ark., 2007). Botaro ve ark. (2009) AA genotipi ile karşılaştırıldığında AB ve BB genotip ineklerin daha yüksek süt yağ içeriğine sahip olduğunu belirtmektedir. Azevedo ve ark (2008) göre BB genotipine sahip olan ineklerin sütünden elde edilen peynir verimi AA genotipine göre %10 yüksek olduğu belirtilmiştir.

Diğer yandan, yapılan bazı çalışmalarda, yüksek süt verimiyle κ -kazein AA genotipi arasında bir bağlantısı olabileceği bildirilmektedir (Barłowska ve ark. 2007; Litwińczuk ve ark. 2006; Winkelman ve Wickham 1997). Öte yandan Creamer ve Harris'e (1997) göre; krema ve günlük yüksek süt verimi, κ -kazein AB genotipli ineklerden elde edildiği bildirmiştir. Król (2003) Hereford ırkı sığır üzerine yaptığı araştırmalarda, yüksek süt verimi κ -kazein AB genotipi ile ilişkili olduğu sonucuna varmıştı. Barłowska ve ark (2012) yaptıkları derlemede; sığır süt proteinlerinin genetik varyantları ile süt verimi ve kompozisyonu arasındaki ilişkiye bakıldığında; süt verimi yönünden κ -kazein AB>AA>BB, toplam protein

yönünden BB>AB>AA, kazein yönünden BB>AB>AA, serum proteinleri yönünden AA>AB>BB, süt yağı yönünden BB>AB>AA şeklinde bir sıralama olduğunu belirtmişlerdir.

κ-kazein geni ile ilgili yerli ırk sığırlarda yapılan çeşitli araştırmalarda allel ve genotip frekansları verilmiştir. Jann ve ark. (2004) Boz ırk sığırlarında A, B ve H alleli için sırayla 0.41, 0.24, 0.33, Yerli Kara sığırlarda A, A1, B ve H alleli için sırayla 0.24, 0.03, 0.41 ve 0.33 olarak belirtmiştir. Dinç ve ark. (2007) Boz ırk, Doğu Anadolu Kırmızısı, Yerli Kara ve Güney Doğu Anadolu Kırmızısı sığırlarında *κ-kazein* A ve B allel frekanslarını sırasıyla, 0.68-0.32, 0.67-0.33, 0.64-0.36 ve 0.54-0.43 olarak tespit etmişlerdir. Dinç ve ark. (2010) Boz ırk, Doğu Anadolu Kırmızısı, Yerli Kara ve Güney Doğu Anadolu Kırmızısı sığırlarında *κ-kazein* AA, AB ve BB genotip frekansları sırasıyla; 0.5106-0.3829-0.1064, 0.5122-0.2927-0.1951, 0.4286-0.4524-0.1190 ve 0.4375-0.4375-0.1250 olarak belirtmişlerdir.

Bulgular kısmında belirtildiği gibi *κ-kazein* A, A1, B, G2 ve H allel frekansları sırasıyla; 0.352, 0.102, 0.239, 0.068 ve 0.239 olarak tespit edildi. *κ-kazein* AA, AA1, AB, AG2, AH, BB, BG2, BH, HG2 ve HH genotip frekansları sırasıyla 0.136, 0.102, 0.068, 0.227, 0.091, 0.080, 0.068, 0.057, 0.045 ve 0.125 olarak tespit edilmiştir. Jann ve ark. (2004) yaptığı çalışmada belirtilen A allel frekansının (0.41) tespit ettiğimiz allel frekansından (0.352) daha düşük gibi görülmesine rağmen, daha öncede belirttiğimiz gibi A1 allelinin her zaman A alleli ile birlikte görüldüğünü göz önünde tutarsak (0.352+0.102=0.454) allel frekanslarının paralellik gösterdiğini söyleyebiliriz. Dinç ve ark. (2007) belirttiği A allel frekansı (0,68) frekansı anlamlı şekilde farklılık göstermektedir. Ancak yaptıkları çalışmada, kesilen parça uzunluğu polimorfizmi (RFLP) yöntemini kullandıkları için sadece *κ-kazeinin* A ve B allel frekaslarını tespit etmişlerdir. A1 ve H alellerinin A alleli ile birlikte görüldüğü gözönünde tutulursa yine elde ettiğimiz verilerle paralellik göstermektedir.

κ-kazein A1 alleli her iki araştırmacıda Boz ırk sığırlarda tanımlamamıştır. Jann ve ark. (2004) Yerli Kara sığırlarda 0.03 olarak belirtmiş, tespit ettiğimiz (0.102) allel frekansı ile kendi içinde yaklaşık üç kat anlamlı bir fark görülsede her iki frekansın düşük oranda görüldüğü söylenebilir.

κ-kazein B alleli frekansına bakıldığında Jann ve ark. (2004) 0.33 ve Dinç ve ark. (2007) 0.32 olarak belirttikleri allel frekansına göre, 0.239 olarak tespit ettiğimiz frekansı allel frekansının daha düşük olduğu görülmektedir. K-kazeinin G2 (0.068) allelinin, B alleli ile beraber görüldüğü göz önünde tutulursa paralellik gösterdiği görülmektedir. Prinzenberg ve ark.(1999) A1 allelinin Zebu sığırlarında tanımlamıştır. Rosero ve ark (2012) 12 sığır ırkı üzerinde yaptığı çalışmada Casanareno sığırlarında 0.150 ve Brahman sığırlarında 0,136 olarak nispeten yüksek olduğunu belirtmiştir.

Nadiren görülen *κ-kazein* G2 allel ilk olarak protein düzeyinde Erhardt (1996) tarafından, Sulimova ve ark. (1996) tarafından Yak (*B. mutus grunniens*) sığırları ile Avrupa mandalarında, bundan birkaç yıl sonra Prinzenberg ve ark. (1999) tarafından nesli tükenmekte olan ırklarda DNA düzeyinde tanımlandı. 148. aminoasitte Ala (GCT) ve 168. amino asitte Ala (GCG) olduğunda *κ-kazein* G2 alleli olarak belirtmiştir. Yaptığımız çalışmada *κ-kazein* G2 allel frekansını 0.068 olarak tespit edildi. Ancak, genotip frekansına bakıldığında ise homozigot G2 görülmemiştir.

κ-kazein H alleli 0.239 olarak tesit edildi. Genotip frekansı 0.125 olarak tespit edildi. Daha öncesinde belirtildiği gibi *κ-kazein* H alleli *B. Indicus* (Zebu) sığırlarda tanımlanmıştır. Jann ver ark. (2004) tespit ettiği H alleli ferkansına (0.33) göre tespit ettiğimiz frekans daha düşük olduğu görülmektedir.

κ-kazein geni filogenetik ağaçlarına bakıldığında özellikle bütün dizi filogenetik ağacı (şekil 3.14) çok dallılığın olduğu görülmektedir. Metod

bölümünde de belirtildiği gibi, Filogenetik ağaç oluşturulurken kullanılan dış grupların ağacın dış kısımlarına doğru yer alması beklenir. Ancak dikkat çekici bir şekilde ağacın içinde dağıldığı görülmektedir. Ekzon bölgesi filogenetik ağacına bakıldığında filogenetik yüksek süt verimi ile ilişkilendirilen κ -kazein B alleli ile düşük süt verimi ile ilişkilendirilen A allelinin ağaç üzerinde birbirinden uzak bölgede lokalize olduğu görülmektedir. Daha öncesinde belirtildiği gibi A1 alleli her zaman A alleli ile birlikte görüldüğünden dolayı A allelinin yakınında lokalize olduğu görülmektedir. Aynı şekilde G2 allelide B allelinin yakınında lokalize olduğu görülmektedir (Şekil 3.15). İntron bölgesi protein sentezinde etkili olmamasına rağmen elde edilen ağacın nispeten az olmasına rağmen çok dallı ve dış grupların ağaç içinde dağılma durumu bu ağaçta da görülmektedir (Şekil 3.16). Amino asit filogenetik ağacına (Şekil 3.17) bakıldığında normal şartlarda ekzon ağacına benzer bir ağaç beklenirken A1 ve G2 allelerinin sessiz mutasyon olmasından dolayı nispeten daha farklı bir ağaç olduğu görülmektedir. Oluşturulan bu ağaçlarda görülen bu çok dallı yapı ve dış grupların ağaç içinde dağılmış olması bize, sığırlarda κ -kazein geni yönünden güçlü bir seçim baskısının olduğunu göstermektedir.

Pro-opiomelanokartin geni 7479 bp den oluşan bir gendir. Gill ve ark. (2010) 254 C>T ye (6764 C>T) bir SNPnin olduğunu ve sığırlarda et kalitesi üzerinde, özellikle bel gözü kası boyutu üzerinde etkili olabileceğini ifade etmişlerdir. Daha önce belirtildiği gibi, Deobald ve Buchanan (2009) c.288C>T ye (6798 C>T) sessiz mutasyon olduğunu ve 293-...-305 bazlar arasında 12 bp uzunluğunda bir delesyon gözlemlendiğini belirtmişlerdir. Liu ve ark. (2013) Çin yerli ırk Qinchuan, Nanyang, Jiexian, Xia'nın ve Luxi sığırlarında (*B.indicus*) yaptıkları çalışmada; c.6586T>G, c.6694C>T, c.6706T>C, c.6769C>T, c.6796C>T, c.6810C>T ve c.7216C>T ye olmak üzere yedi adet SNP tespit etmişlerdir. Daha önce belirtildiği gibi çalışmamızda üçü intron, biri ekzon bölgesinde olmak üzere, dört adet SNP tespit edildi. Bütün dizi üzerinde bu SNPlar c.6522C>G, c.6553G>T, c.6587G>T ve c.6706T>C ye olarak tespit edildi. Gill ve ark., (2010) buldukları SNP noktasında C olduğu görüldü. Deobald ve Buchanan (2009) yaptığı çalışmaya göre delesyonun olmadığı 288. Bazda C tespit

edildi. Liu ve ark. (2013) yaptıkları çalışmada bütün dizi üzerindeki c.6706T>C olarak belirlenen SNPyi Boz ırk sığırlarda ortak SNP olarak tespit edildi.

PCR temelli moleküler analizlerin, canlıların DNA yapılarını inceleme ve anlamada kayda değer kolaylıklar sağladığı açıktır. Ancak bunlardan PCR-RFLP gibi analizler hedef noktanın dışındaki meydana gelebilecek değişiklikleri görmemize olanak vermemektedir. Dizi analizi bize bireysel farklılıkları dahi ortaya koymamızda önemli avantajlar sağlamaktadır. (Öztabak ve ark. 2010, Kök ve ark 2013). Dizi analizi sonucu tespit edilen SNPlar sayesinde diğer ırk ve türler arasındaki genetik ilişkide ortaya konabilmektedir.

Anadolu sığırların evciltildiği ilk merkez ve aynı zamanda *B. Indicus* ile önemli seviyede integrasyon merkezi olarak kabul edilmektedir (Loftus ve ark. 1999). Ortadoğu bölgesi de *B. Taurus* ve *B. indicus* arasında melez bir bölge olarak kabul edilir. Nitekim, Edwards ve ark. (2007) yaptığı çalışmaya göre, Zebu sığırlarında teşhis ettiği üniparental mitokondri ve Y-kromozom haplotiplerinin, yerli ırk sığırlarda %14 ile %35 oranında benzerlik gösterdiği ve en yüksek benzerliğin Yerli kara sığırdaki olduğu görülmektedir. Coğrafik olarak bu iki alt tür ortak allellerinin Avrupa ve Afrika'ya doğru ilerledikçe kademeli olarak azaldığı görülmektedir (Edwards ve ark., 2007, Akış ve Öztabak 2013).

Nitekim çalışmamızda, Boz ırk sığır κ -kazein geninde tespit ettiğimiz SNPlerin A, A1, B, G2 ve H allellerinin olduğu belirlendi. Daha öncede belirtildiği gibi A ve B alleleri κ -kazein geninin temel allelleridir. Ancak, A1 ve H alleleri *B. Indicus* da (Prinzenberg ve ark. 1999) G2 alleli *B.grunniens* de (Sulimova ve ark. 1996) tanımlanmıştır. Yine çalışmamızda Boz ırk propiomelanokortin geni üzerinde c.6522C>G, c.6553G>T, c.6596G>T ve c.6706T>C SNPler belirlendi. Bu SNPlerden 6706 T>C, *B. Indicus*'da görülmektedir (Liu ve ark. 2013). Elde edilen bu bulgularda, *B. Taurus* ile *B. indicus* ve *B. grunniens* arasındaki integrasyonu desteklemektedir.

Boz ırk sığırında içinde bulunduğu Türkiye yerli ırk sığırların yüksek et ve süt verimine sahip kültür ırkı sığırlara göre düşük verim özelliklerine göre sahip olduğu bilinmektedir. Ancak buna karşın olumsuz iklim şartlarına dayanırlılığı, kötü bakım şartlarında, kötü kalite besin maddelerini iyi değerlendirebilmeleri, başta paraziter olmak üzere hastalıklılara karşı direncinin yüksek olması olumlu özellikleridir. Bu özellikleri etkileyen alellerin çeşitli etkinlikler aracılığıyla Zebu miras olduğu kabul edilmektedir (Akış ve Öztapak 2013).

Araştırmaya konu olan Boz ırk sığırlarda süt verimi ve bileşimi ile ilişkilendirilen κ -kazein geni ve et verimi kompozisyonu ile ilişkilendirilen *POMC* geni ile ilgili elde edilen veriler ışığında sonuç olarak;

1. Yüksek süt verimi ile ilişkilendirilen κ -kazein B alleli frekansının Boz ırk sığırlarda düşük olduğu, Boz ırk sığırlar ile ilgili literatürde yeralan düşük süt verim özelliği ile paralellik gösterdiği,
2. Deobalt ve Buchanan (2009) belirttiği *POMC* geni üzerinde tespit ettikleri delesyonun Boz ırk sığırlarda görülmediği, aynı zamanda tespit ettikleri (C288T) SNP noktasında yüksek et verimi ile ilişkilendirilen T olmadığı, düşük et verimi ile ilişkilendirilen C görüldüğü ve yine literatürdeki Boz ırk sığırlar ile ilgili düşük et kapasitesine sahip olması ile paralellik gösterdiği,
3. κ -kazein geni tüm dizi, intron , ekzon ve amino asit filogenetik ağacına bakıldığında çok dallık görüldüğü, özellikle filogenetik ağaç oluşturulurken kullanılan dış grupların ağaç içinde dağılmış durumda olması, bu durumun κ -kazein geni yönünden ineklerde önemli derecede seçim baskısına neden olduğu,
4. Tespit edilen kappa-kazein A1 ve H allelerinin *B. indicus* ta tanımlanması ve G2 allelinin *B. grunniens* sığırlarda tanımlanması Boz ırk sığırların *B. indicus* ve *B. grunniens* ile akrabalık ilişkisi olduğu,

5. *POMC* geni 6706 T>C SNPnin *B. Indicus* ta görülmesi, aynı şekilde Boz ırk sığırların *B. indicus* ile akrabalık ilişkisi olduğu söylenebilir.

Moleküler ve biyoteknolojik yöntemlerin ulaştığı son nokta ve hatta bu yöntemler ışığında geliştirilen ticari markörler sayesinde ekonomik öneme sahip hayvanların verim yönlerine göre geliştirilmelerinde doğruluk payı yüksek, kesin ve hızlı karar vermeye olanak sağlamaktadır. Ancak, sadece et ve süt verimi yönünden değil Boz ırk başta olmak üzere yerli ırk sığırlarımızın hastalıklara karşı gösterdiği direnç, zor iklim koşullarına gösterdiği direnç ve kötü yemleri iyi değerlendirebilme özelliğininde göz ardı edilmemesi gerekir.

Tarım faaliyetlerinin mekanizasyona dayanması ve düşük verim yönünden düşük olması Boz ırk sığıra olan ilginin azalmasına neden olmuştur. Hatta günümüzde Boz ırk sığırların yok olma tehlikesinden dolayı gen kaynağı koruma kapsamına alınmıştır. Bu konuda yapılan genetik çalışmaların sınırlı olması ve bu açıdan bakıldığında elde varolan sığır varlığı ile Boz ırk sığırların genetik yapılarının tanımlanması daha büyük önem arz etmektedir.

Anadolu coğrafyası birçok bitki ve hayvanın kaynağı ve evciletme noktasını oluşturmakta ve hatta başka kaynaktaki hayvanlarla etkileşimi merkezi olmuştur. Özellikle sığırlarımızın evciltme ve genetik süreçteki tarihsel ve coğrafik etkilerinin ortaya konması büyük önem arz etmektedir. Bu nedenle, mt DNA dizileri, Y-kromozom haplotipleri, dizi analizleri ve büyük SNP panelleri gibi genetik belirteçler kullanılmalıdır (Edwards ve ark. 2007, Özdemir ve Doğru 2008, Akiş ve Öztürk 2013). Hatta, daha ileri moleküler tekniklerin kullanılması bu sürecin aydınlatılmasında büyük önem arzedecektir.

5. KAYNAKLAR

Akış I. (2009). Doğu Anadolu Kırmızısı, Güney Anadolu Kırmızısı e Boz ırk sığırlarında büyüme hormonu reseptör geni polimorfizimlerinin Belirlenmesi. Doktora Tezi. *İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, İstanbul

Alderson, L. (1992). The categorisation of types and breeds of cattle in Europe. *Archivos de zootecnia*, 41 (154), 325-334.

Alexander L.J., Stewart A.F., Mackinlay A.G., Kapelinskaya T.V., (1988). Isolation and characterization of the bovine kappa-casein gene. *Eur. J. Biochem.* 178, 395-401.

Alpan O. ve Aksoy A.R. (2012) *Sığır yetiştiriciliği ve besiciliği*. Bursa, Milsan Basın San. Tic. A.Ş.

Altınalan A, (2005). Türkiye'deki yerli sığır ırklarının mikrosatellit DNA markırlarla genetik karakterizasyonu. Doktora Tezi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.

Anar Ş. (2012). *Et ve Et Ürünleri Teknolojisi*. Bursa. Dora Yayıncılık.

Anonymous (1985) *Genus Bos Cattle Breeds of the World*. MSD AGUET. Division of Merck CO., Inc., Rahway, .J., U.S.A.

Aschaffenburg, R. & Drewry, J. (1957). Genetics of the beta-lactoglobulins of cows' milk. *Nature*, 180, 376-378.

Aschaffenburg R. (1961) Inherited casein variants in cow's milk. *Nature*, 4(192),431-2

Auld R. C., (1888) The Wild cattle of Great Britain. *The American Naturalist* 22(258), 498-509. <http://www.jstor.org/stable/2451419> .

Ashwell M.S., Heyen D.W., Soenstegaard T.S., Van Tassell C.P., Da Y., Van Raden P.M., Ron M., Weller J.I., Lewin H.A. (2004) Detection of QTL affecting milk production, health, and reproductive traits in Holstein cattle. *J. Dairy Sci.*, 87, 468–475.

Azevedo A.L.S., Nascimento C.S., Steinberg R.S., Carvalho M.R.S., Peixoto M.G.C.D., Teodoro R.L., Verneque R.S., Guimarães S.E.F., Machado M.A.. (2008). Genetic polymorphism of the kappa-casein gene in Brazilian cattle. *Genetics and Molecular Research*, 7 (3): 623-630

Baker, C.M. and Manwell, C. (1980). Chemical classification of cattle. 1. Breed groups. *Anim. Blood Groups B \dot{I}* , 11, 127-150.

Banks, W. A., Kastin, A. J., Huang, W., Jaspan, J. B. and Maness, L. M. (1996). Leptin enters the brain by a saturable system independent of insulin. *Peptides*, 17, 305-311

Bishop, M.D., Hawkins, G.A., and Keener, C.L., 1995. Use of DNA markers in animal selection. *Theriogenology*, 43, 61-70.

Botaro B. G., Real de Lima Y. V, Cortinhas C. S., Prada e Silva L. F., Rennó F. Veiga dos Santos P. M., (2009). Effect of the kappa-casein gene polymorphism, breed and seasonality on physicochemical characteristics, composition and stability of bovine milk. *Rev. Bras. Zootecn.*, 38 (12), 2447-2454.

Beja-Pereira A., Caramelli D., Lalueza-Fox C., Vernesi C., Ferrand N., Casoli A., Goyache F., Royo L. J., Conti S., Lari M., Martini A., Ouragh L., Magid A., Atash A., Zsolnai A., Boscato P., Triantaphylidis C., Ploumi K., Sineo L., Mallegni F., Taberlet P., Erhardt G., Sampietro L., Bertranpetit J., Barbujan G., Luikart G. And Bertorelle G. (2006). The origin of European cattle: Evidence from modern and ancient DNA. *P. Natl. Acad. Sci. USA*, 103 (21), 8113–8118.

Bertagna, X. (1994). Proopiomelanocortin derived peptides. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 23, 467-484.

Bovenhuis, H., van Arendonk, J. A. M., Davis, G., Elsen, J.-M., Haley, C. S., Hill, W. G., Baret, P. V., Hetzel, D. J. S. and Nicholas, F. W. (1997). Detection

and mapping of quantitative trait loci in farm animals. *Livest. Prod. Sci.*, 52, 135-144.

Boichard D., Grohs C., Bourgeois F., Cerqueira F., Faugeras R., Neau A., Rupp R., Amigues Y., Boscher M.Y., Leveziel H. (2003). Detection of genes influencing economic traits in three French dairy cattle breeds. *Genet. Sel. Evol.*, 35, 77–101.

Braunschweig M.H., (2008). Associations between 2 paternal casein haplotypes and milk yield traits of Swiss Fleckvieh cattle. *J. Appl. Genet.*, 49, 69–74.

Barłowska, J., Litwińczuk, Z., Król, J. ve Kędzierska-Matysek, M. (2007). Relationship of β -lactoglobulin and k-casein genetical variants with chosen indexes of milk technological usefulness of Red Polish and Whitebacks cows. *Ann. Anim. Sci.*, 1, 43-47

Barłowska J., Wolanciuk A., Litwińczuk z. Ve Król, J. M. (2012). Milk Proteins' Polymorphism in Various Species of Animals Associated with Milk Production Utility. *Milk Protein*, Chapter 9,235-264.

Botaro BG, Real de Lima YV, Cortinhas CS, Prada e Silva LF, Rennó FP, Veiga dos Santos M (2009). Effect of the kappa- casein gene polymorphism, breed and seasonality on physicochemical characteristics, composition and stability of bovine milk. *R. Bras. Zootec*, 38(12); 2447-2454.

Bruns, K.W., Pritchard, R.H. and Boggs, D.L. (2004). The relationship among body weight, body composition, and muscular fat content in steers. *J Anim Sci*, 82, 1315-1322

Buchanan F.C., Thue T.D., Yu P., Winkelman-Sim D.C. (2005). Single Nucleotide Polymorphisms in the Corticotrophin-releasing Hormone and Proopiomelanocortin Genes are Associated with Growth and Carcass Yield in Beef Cattle. *Anim Genet*, 36, 127-131

Can G., Abdel-Malek Z., Porter-Gill P.A., Gill P., Boyce, S., Grabowski G.A., Nordlund J. and Farooqui J. (1998). Identification and sequencing of a

putative variant of proopiomelanocortin in human epidermis and epidermal cells in culture. *J Investig Dermatol*, 111, 485-491

Caroli A., Chessa S., Bolla P., Budelli E., Gandini G.C., (2004). Genetic structure of milk protein polymorphisms and effects on milk production traits in a local dairy cattle. *J. Anim. Breed Genet*, 121, 119–127.

Caroli A.M., Chessa S., Erhardt G.J., (2009). Invited review: milk protein polymorphisms in cattle: Effect on animal breeding and human nutrition. *J Dairy Sci*; 92, 5335-5352.

Castro, M.G. and Morrison, E. (1997). Post-Translational processing of proopiomelanocortin in the pituitary and in the brain. *Crit Rev Neurobiol*, 11, 35-57.

Challis, B.G, Pritchard, L.E., Creemers, J.M., Dekokangue, J., Keogh J.M., Luan, J., Wareham, N.J., Yeo, G.S., Bhattacharyya, S., Froguel, P., White, A., Farooqi, S. and O’Rahilly. (2002). A missense mutation disrupting a dibasic prohormone processing site in pro-opiomelanocortin (*POMC*) increases susceptibility to early-onset obesity through a novel molecular mechanism. *Hum Mol Genet*, 11, 1997-2004.

Chen, S. Y., Costa, V., Azevedo, M., Baig, M., Malmakov, N., Luikart, G., Erhardt, G. & Beja-Pereira, A. (2008). Short Communication: New Alleles of the Bovine κ -Casein Gene Revealed by Resequencing and Haplotype Inference Analysis. *J. Dairy Sci.*, Vol. 91, 3682–3686.

Chereneck P., Bulla J. (2002) Simultaneous analysis of sex determination and κ -casein genotypes from bovine preimplantation embryos. *Czech J. Ani. Science*; 47(8): 00–00

Cheung C.C., Clifton D.K. ve Steiner R.A., (1997). Proopiomelanocortin neurons are direct targets for leptin in the hypothalamus. *Endocrinology*, 138, 4489-4492.

Cohen S.N., Chang A.C.Y., Nakanishi S., Inoue A., Kita T., Nakamura M., Numa S. (1980). Studies of cloned DNA encoding the structure for the

bovine corticotropin-beta-lipotropin precursor protein. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 343,415-425

Coll, A.P., Farooqi, I.S., Challis, B.G., Yeo, G.S.H. and O’Rahilly. (2004).

Proopiomelanocortin and energy balance: insights from human and marine genetics. *J Clin Endocrinol Metab*, 89, 2557-2562.

Creamer, L. K. & Harris, D. P. (1997). Association between milk protein polymorphism and milk production traits. Proc. IDF Seminar “*Milk Protein Polymorphism II*” North Palmerston, New Zeland, pp. 22-37

Cymbron T, Freeman AR, Isabel Malheiro M, Vigne JD, Bradley DG, (2005). Microsatellite diversity suggests different histories for Mediterranean and Northern European cattle populations. *Proceedings of the Royal Society B*, 272, 1837–1843.

Çardak A.D., (2005). Effects of genetic variants in milk protein on yield and composition of milk from Holstein-Friesian and Simmentaler cows. *South African J. Anim Sci*, 35:(1), 41-47

Dekkers J.C.M., Hospital F. (2002) The use of molecular genetics in the improvement of agricultural populations. *Nat. Rev. Genet.*, 3, 22–32.

DegerØl M. and Fredskild B., (1972). Archeology: *The Urus* (*Bos primigenius Bojanus*) and *Neolithic Domesticated Cattle* (*Bos taurus domesticus* Linné) in Denmark, with a Revision of *Bos*-remains from the Kitchen Middens: Zoological and Palynological Investigations. *American Anthropologist*. 74 (4), 944–945.

Delfour A, Jolles J, Alais C, Jolles P. Caseino-glycopeptides, (1965). Characterization of a methionine residue and of the N-terminal sequence. *Biochem Biophys Res Commun*,19,452–5.

Demirci M. (1999), *Süt Teknolojisine Giriş*, Trakya Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Yayın no :105, Tekirdağ,

Deobald H.M. (2009). Characterization of pro-opiomelanocortin gene variants and their effect on carcass traits in beef cattle. , Master thesis the Department of Animal and Poultry Science University of Saskatchewan.

Deobald H.M. ve Buchanan F.C. (2011) Characterization of two Pro-opiomelanocortin gene variants and their effects on carcass traits in beef cattle. *BMC Genetics*, 12(2),

Devran Z. (2003) Moleküler İşaretçilerin Dayanıklılık Islahında Kullanılması. <http://batem.gov.tr/yayinlar/derim/2003/01-06.pdf> Erşim tarihi: 28/08/2013

Dinc H., Kepenek E.S., Koban E., Ozkan E.,Togan I. (2007). Determination of genotyping four milk protein related genes in native cattle breeds of Turkey. *3rd Joint Meeting of the Network of Universities and Research Institutions of Animal Science of the South Eastern European Countries*, Thessaloniki 10-12 February 2007

Dinc H., Ozkan E., E.S., Koban E., Togan I. “ Genotyping of beta-casein, kappa-casein and beta-lactoglobulin genes for the management and conservation of native Turkish cattle breeds”, (eds: Dolares Sanches Bengoa, David Powell), TOP Biodiversity 2010, Conference Proceedings İntercollege- Larnaka, Cyprus.,

Dinç H., (2009), Genotyping of Beta-Casein, Kappa-casein and Beta-lactoglobulin in Turkish Native Cattle Breeds and efforts to delineate BCM-7 on Human PMBC, Doctoral Thesis. The Graduate School of Natural and Applied Sciences of Middle East Technical University, Ankara

Di Stasio L., Merlin P. (1978). A new k-casein variant in cattle. *Proceedings XVIth Intern. Conf. Animal Blood Grps and Biochem. Polimorph.*, Leningrad, USSR", 97.

Drogemuller, C., Hamann, H. and Distl, O. (2001). Candidate gene markers for litter size in different German pig lines. *J. Anim. Sci.* 79, 2565-2570.

Edwards, M.D. and Page, N.J., 1994. Evaluation of marker assisted selection through computer simulation. *Theor. Appl. Genet.* 88, 376-382.

Edwards CJ, Baird JF, MacHugh DE, (2007). Taurine and zebu admixture in Near Eastern cattle: a comparison of mitochondrial, autosomal and Y-chromosomal data. *Anim Genet*, 38: 520-524.

Eigel, W.N., Butler, J.E., Ernstrom, C.A., Farrell, H.M., Harwalkar, V. R., and Jenness, R. (1984). Nomenclature of proteins of cow's milk: Fifth revision. *J. of Dairy Sci.*, 67(8), 1599-1631.

Eipper, B. and Mains, R.E. (1980). Structure and biosynthesis of proadrenocorticotropin/endorphin and related peptides. *Endocr Rev*, 1, 1-27.

Elmacı C., Öner Y., (2007). Et Sığırcılığında Moleküler Genetik Yaklaşımlar 1, *Hay. Üret.* 48(2): 45-48,

Epstein H. (1971). The origin of domestic animal of Africa. *Aficana Pub. Corp.* (New York).

Erhardt, G. (1996). Detection of a new κ -casein variant in milk of Pinzgauer cattle. *Ani. Genet.*, 27, 105-107.

Ergün A., Çolpan İ., Yıldız G., Küçükersan S., Tuncer Ş.D., Yalçın S., Küçükersan M.K., Şehu A. (2008). *Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları*. Ankara, Pozitif Matbaacılık.

Erhardt G. (1989). κ -Kaseine in Rindermilch Nachweis eines weiteren Allels (κ -CnE) in verschiedenen Rassen. *J. of Ani. Breed and Genet.* 106, 225-231

Erhardt, G. (1996). Detection of a new kappa-casein variant in milk of Pinzgauer cattle. *Anim. Genet.* 27:105–107

Ertuğrul M, Akman N, Dellal G, Goncagül T., (2000). Hayvan gen kaynaklarının korunması ve Türkiye hayvan gen kaynakları. <http://www.tmmobzmo.org.tr/docs/11.doc> Erişim tarihi: 18/07/2013

European Cattle Genetic Diversity Consortium., (2006). Marker-assisted conservation of European cattle breeds: an evaluation. *Ani Genet.*, 37 (5):475–481.

Formaggioni, P., Summer, A., Malacarne, M., (1999), Milk protein polymorphism: detection and diffusion of the genetic variants in *Bos* genus. *Ann. Fac. Med. Vet. Un. Parma.* 19: 127-165.

Farrell, H.M., Jimenez-Flores, R., Bleck, G.T., Brown, E.M., Butler, J.E. and Creamer, L.K., (2004). Nomenclature of the proteins of cows' milk – sixth revision. *J Dairy Sci.*, 87, 1641-1674.

Felius, M. (1985). *Genus Bos: Cattle Breeds of the World.* MSD-AGVET; Merck and Co.: Rahway, NJ, USA,

Felius, M. (1995). *Cattle Breeds, an Encyclopedia*; Misset Uitgeverij: Doetinchem, The Netherlands,

Felius M., Koolmees P. A., Theunissen B., European Cattle Genetic Diversity Consortium and Lenstra J. A. (2011). On the Breeds of Cattle Historic and Current Classifications . *Diversity*, 3, 660-692

Ferretti L., Leone P., Sgaramella V., (1990). Long range restriction analysis of the bovine casein genes. *Nucleic Acids Res.* 18, 6829-6833.

Fiat A.M. ve Jolles P., (1989). Caseins of various origins and biologically active casein peptides and oligosaccharides: structural and physiological aspects. *Mol. Cell Biochem.* 87: 5-30.

FitzGerald R.J., Hill J.P. (1997): The relationship between milk protein polymorphism and the manufacture and functionality of dairy product. *In: Milk Protein Polymorphism.* Bulletin IDF. IDF, Brussels Belgium: 355–371.

FitzGerald R.J. Exploitation of casein variants. In: Welch RAS, Burns DJW, Davis SR, Popay AI, Prosser CG, editors. *Milk Composition, Production and Biotechnology.* Oxford: CAB International, 1997:153–72.

Formaggioni, P., Summer, A., Malacarne, M., and Mariani, P. (1999). Milk protein polymorphism: Detection and diffusion of the genetic variants in *Bos* Genus. *Ann. Fac. Med. Vet. Un.*, 19, 127-165. Download site: <http://old.unipr.it/arpa/facvet/annali/1999/formaggioni/formaggioni.htm> Erişim tarihi: 18/07/2013

Fox P.F ve Brodtkorb A. (2008). The casein micelle: Historical aspects, current concepts and significance. *Review. Int Dairy J*, 18,677-684,

Fries R., Eggen A., Womack J.E., (1993). The bovine genome map, *Mamm. Genome*, 4, 40-408.

Gantz, I. and Fong, T.M. (2003). The melanocortin system. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 284, 468-474.

Georges M., Nielsen D., Mackinnon M., Mishra A., Okimoto R., Pasquino A.T., Sargeant L.S., Soerensen A., Steele M.R., Zhao X., Womack J.E., Hoeschele I. (1995) Mapping QTL controlling milk production in dairy cattle by exploiting progeny testing. *Genetics*, 139, 907–920.

Gill J. L., Bishop S. C., McCorquodale C ., Williams J. L and Wiener P. (2010). Associations between single nucleotide polymorphisms in multiple candidate genes and carcass and meat quality traits in a commercial Angus-cross population. *Meat Sci.*, 86, 985–993

Ginger M.R., Grigor M.R., (1999). Comperative aspects of milk caseins. *Comp. Biochem Phys B.*, 124, 133–145

Giudice E.M., Cirillo G., Santoro N., DiUrso L., Carbone M.T., Di Toro R., Perrone L. (2001). Molecular screening of the proopiomelanocortin (POMC) gene in Italian obese children: report of three new mutations. *Int J Obes*, 25:61-67.

Gorodetskij S.I., Kaledin A.S. (1987). Analysis of nucleotide sequence of bovine k-casein. *Genetika*, 23(4), 596-604

Grosclaude, F., (1988). Genetic Polymorphism of the Main Bovine Lactoproteins: Relationships with Milk Yield, Composition, and Cheese Yielding Capacity, *INRA Prod. Anim.*, 1, 5–17.

Hall TA (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analyses program for Windows 95/98/ NT. *Nucleic Acids Symposium Series*; 41, 95–98.

Hallen, E., Wedholm, A., Andren, A., & Lunden, A. (2008). Effect of beta-casein, kappa-casein and beta-lactoglobulin genotypes on concentration of milk protein variants. *J of Anim Breed and Genetics*, 125, 119-129.

Haskell-Luevano, C., Chen, P., Li, C., Chang, K., Smith, M.S., Cameron, J.L. and Cone, R.D. (1999). Characterization of the neuroanatomical distribution of agouti-related protein immunoreactivity in the rhesus monkey and the rat. *Endocrinology*, 140, 1408-1415.

Heck, J. M. L., Schennink, A., van Valenberg, H. J. F., Bovenhuis, H., Visker, M. H. P. W., & van Arendonk, J. A. M., *et al.* (2009). Effects of milk protein variants on the protein composition of bovine milk. *J. Dairy Science*, 92, 1192-1202.

Hoeschele, I., Ulimari, P., Grignola, F. E., Zhang, Q. and Gage, K. M. (1997). Advances in statistical methods to map quantitative trait loci in outbreed populations. *Genetics*, 147, 1445-1457.

Holt C. P. ve Sam D. *Beef cattle husbandry: study course*. Halverson, United States. Forest Service. Southern Region. Fisheries, Wildlife, and Range Management Staff Unit. Range Management Group, Atlanta U.S. (1983).

Howard M. M., (1961). The early Domestication of cattle and the Determination of their Remains. *Journal Animal Breeding and Genetics*. 767(1-4), 252-264.

Houseknecht, K.L., Baile, C.A., Matteri, R.L. and Spurlocks, M.E. (1998). The biology of leptin: a review. *J Anim Sci* 76, 1405-1420.

Hu F., Liu J. F., Zeng Z. B., Ding X. D., Yin C. C., Gong Y. Z., Zhang Q. (2010). QTL Identification Using Combined Linkage and Linkage Disequilibrium Mapping for Milk Production Traits on BTA6 in Chinese Holstein Population. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 23, (10) : 1261 – 1267

Hurley W. (2012). *Milk Protein*, Published by InTech Janeza Trdine 9, 51000 Rijeka, Croatia.

Huszar, D., Lynch, C.A., Fairchild-Huntress, V., Dunmore J.H., Fang, Q., Berkemeier, L.R., Gu, W., Kesterson, R.A., Boston, B.A., Cone, R.D., Smith, F.J., Campfield, L.A., Burn, P. and Lee, K. (1997). Targeted Disruption of the Melanocortin-4 Receptor Results in Obesity in Mice. *Cell*, 88, 131-141.

Ikonen T., Ruottinen O., Erhardt G., Ojala M. (1996). Allele frequencies of the major milk proteins in the Finnish Ayrshire and detection of a new k-casein variant. *Anim. Genet.*, 27, 179-181.

Ingvartsen K.L. and Boisclair Y.R. Pintar (2001). Leptin and the regulation of food intake, energy homeostasis and immunity with special focus on periparturient ruminants. *Domest Anim Endocrinol*, 21, 215-250.

Jann O.C., Ibeagha-Awemu E.M., Ozbeyaz C., Zaragoza P., Williams J.L., Ajmone-Marsan P., Lenstra J.A., Moazami-Goudarzi K, Erardt G., (2004). Geographic distribution of haplotype diversity at the bovine casein locus. *Genet Sel Evol*, 36, 243–257.

Jakob, E., Puhán, Z. (1992). Technological properties of milk as influenced by genetic polymorphism of milk proteins - a review. *Int. Dairy J.*, 2: (3), 157-178.

Jolle`s J., Alais C., Jolle`s P., (1968). The tryptic peptide with rennin-sensitive linkage of cow's k-casein. *Biochim Biophys Acta*, 168, 591–3.

Jolle`s P., Fiat A., (1979). The carbohydrate portions of milk glycoproteins. *J Dairy Res*, 46, 187–91.

Kalra S.P., Dube, M.G., Pu,S., Xu, B., Horvath, T.L. and Kalra, P.S. (1999). Interacting appetite-regulating pathways in the hypothalamic regulation of body weight. *Endocr Rev.*, 20, 68-100

Kashi, Y., Hallerman, E. and Soller, M., 1990. Marker asisted selection of candidate bulls for progeny testing programs. *Anim. Prod.*, 52, 21-31.

Kaygısız A., Doğan M. (1999), Siyah Alaca ineklerde süt protein polimorfizminin genetiği ve süt verim özellikleri iel ilişkisi, *Turkish J Vet Ani Sci*, 23:(3), 447-454.

Khatkar, M. S., P. C. Thomson, I. Tammen and H. W. Raadsma. (2004). Quantitative trait loci mapping in dairy cattle: review and meta-analysis. *Genet. Sel. Evol*, 36, 163-190.

Kinghorn, B. P., van Arendonk, J. A. M. and Hetzel, J. (1994). Detection and use of major genes in animal breeding. *Ag Biotech News and Information*, 6(12): 297-302.

Kim, K.S., Larsen, N., Short, T., Plastow, G. and Rothschild, M.F. (2000). A missense variant of the porcine melanocortin-4 receptor (*MC4R*) gene is associated with fatness, growth, and feed intake traits. *Mamm Genome*, 11, 131-135.

Koczan D., Hobom G., Seyfert H.M., (1991). Genomic organization of the bovine alpha-s1 casein gene. *Nucleic Acids Res*, 19, 5591–5596.

Kolbehdari D., Wang Z., Grant J.R., Murdoch B., Prasad A., Xiu Z., Marques E., Stothard P., Moore S.S. (2009) A whole genome scan to map QTL for milk production traits and somatic cell score in Canadian Holstein bulls, *J. Anim. Breed. Genet*, 126, 216–227.

Kök S. ve Soysal M. I. (2006). The Last Survivors of Grey cattle resisting extinction. A case study of characteristics and sustainability of traditional systems of native Grey cattle breeds. *Options Méditerranéennes : Série A. Séminaires Méditerranéens*; n. 78. 55-63.

Kök S, Atalay S, Savascı S, Eken HS. (2013). Characterization of Calpastatin Gene in Purebred and Crossbred Turkish Grey Steppe Cattle, *Turkish J Vet Ani Sci*, 19 (2), 203-206.

Kono M., Nagata, H., Umemura, S., Kawana, S. and Osamura, R.Y. (2001). In situ expression of corticotropin-releasing hormone (*CRH*) and proopiomelanocortin (*POMC*) genes in human skin. *The FASEB J*. 15, 2297-2299.

Król, J. (2003). The association between genetic variants of milk proteins with milk yield of beef cattle and the results of rearing of their offspring. Part I Hereford breed (in Polish). *Annales UMCS*, Sec. EE, 1, 81-89

Krude H., Biebermann H., Lucj W., Horn R, Brabant G., Gruter A. (1998). Severe-early onset obesity, adrenal insufficiency and red hair pigmentation caused by POMC mutations in humans. *Nat Genet*, 19, 155-157.

Ng-Kwai Hang KF, Grosclaude F. (1992). Genetic polymorphisms of milk proteins. In: Fox PF, editor. *Advanced Dairy Chemistry*. London: Elsevier, 405–55.

Lin, C.Y., Sabour, M.P., Lee, A.J. (1992). Direct typing of milk proteins as an aid for genetic improvement of dairy bulls and cows: a review. *Animal Breeding Abstracts*, 1, 1–10.

Lien S, Rogne S. (1993). Bovine casein haplotypes: number, frequencies and applicability as genetic markers. *Anim Genet*, 24, 373-376.

Lien, S., Gomez-Raya, L., Steine, T. (1995). Associations Between Casein Haplotypes and Milk Yield Traits. *J. Dairy Sci*, 78, 2047-2056.

Liu Y., Zan L., Li L., Xin Y. (2013). Proopiomelanocortin gene polymorphisms and its association with meat quality traits by ultrasound measurement in Chinese cattle. *Gene*, 529, 138–143

Litwińczuk, A., Barłowska, J., Król, J. & Litwińczuk, Z. (2006). Milk protein polymorphism as a marker of functional traits of dairy and beef cattle (in Polish). *Vet. Med.*, 62, 1, 6-10

Loftus RT, MacHugh DE, Bradley DG, Sharp PM, Cunningham EP. (1994). Evidence for two independent domestications of cattle. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91, 2757–2761.

Loftus R.T., Ertuğrul O., Harba A.H., El-Barody M. A. A. and Macchugh D.E., (1999). A microsatellite survey of cattle from a centre of origin: the Near East. *Mol Ecol*, 8, 2015–2022

Lauvergne, J.J. 1979. Modeles de repartition des populations domestiques animales apres migration par vagues a partir d.un centre d.origine. *Ann. Genet. Sel. Anim.*, 11(1), 105-110

Luikart G, Gielly L, Excoffier L, Vigne JD, Bouvet J, Taberlet P. (2001). Multiple maternal origins and weak phylogeographic structure in domestic goats. *Proc. Natl. Acad. Sci. ces*, 98 (10):5927–5932.

Mackinlay A. G., Wake R. G., (1965). Fractionation of S-carboxy-methyl- κ -casein and characterization of the componenets. *Biochim. Biophy. Acta*, 104, 167-180

Mahé M.F., Miranda G., Queval R., Bado A., Zafindrajaona P.S., Grosclaude F. (1999). Genetic polymorphism of milk proteins in African *Bos taurus* and *Bos indicus* populations. Characterization of variants α s1-Cn H and k-Cn J. *Gen. Sel, Evol*, 31, 239-253.

Martin-Burriel I., Garcia-Muro E. and Zaragoza P., (1999). Genetic diversity analysis of six Spanish native cattle breeds using microsatellites. *Anim Genet*, 30, 177–182.

Marzali, A.S. and Ng-Kwai-Haug, K.F. (1986), Effects of Milk Composition and Genetic olymorphism on Cheese Composition, *J. Dairy Sci.*, 69, 2533–2542.

McTavish E.J., Decker J.E., Schnabel R.D., Taylor J.F., Hillis D.M., (2013). New World cattle show ancestry from multiple independent domestication events. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 110 (15), 1398-1406.

Mercier J.C., Viloite J.L., (1993). Structure and function of milk protein genes. *J Dairy Sci*, 76, 3079–3098.

Metin M., *Süt Teknolojisi, Sütün Bileşimi ve İşlenmesi*, Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Yayınları No:33, genişletilmiş 3. Baskı, İzmir, Türkiye. (1996)

Miller M., Dykes D.D., Polesky H.F. (1998). A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucl Acids Res*, 16, 1215

Millington G.W.M. (2007). The role of proopiomelanocortin (*POMC*) neurons in feeding behaviour. *Nutr Metab*, 4, 1-16

Nakanishi G., Inoue A., Kita T., Numa S., Chang A.C.Y., Cohen S.N., Nunberg J., Schimke R.T. (1978) Construction of bacterial plasmids that contain the nucleotide sequence for bovine corticotropin-beta-lipotropin precursor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 75,6021-6025..

Nakanishi S., Inoue A., Kita T., Nakamura M., Chang A.C.Y., Cohen S.N., Numa S. (1979). Nucleotide sequence of cloned cDNA for bovine corticotropin-beta-lipotropin precursor. *Nature*, 278, 423-427

Nakanishi S., Teranishi Y., Watanabe Y., Notake M., Noda M., Kakidani H., Jingami H., Numa S. (1981) . Isolation and characterization of the bovine corticotropin/beta-lipotropin precursor gene. *Eur. J. Biochem*, 115, 429-438

Nakhasi H.L., Grantham F.H., Gullino P.M., (1984). Expression of k-caseinin normal and neoplastic rat mammary gland is under the control of prolactin. *J Biol Chem*, 259, 14894–8. O

Neelin J.M. (1964). Variants of κ -Casein Revealed by Improved Starch Gel Electrophoresis. *J. of Dairy Sci.* 47(5), 506-509

Nilsen H., Olsen H. G., Hayes B., Sehested E., Svendsen M., Nome T., Meuwissen T., Lien S. (2009) Casein haplotypes and their association with milk production traits in Norwegian Red cattle. *Genet Selec Evol*, 2009, 41 (24), 1-12

Ng-Kwai-l-lang, K.F. & Grosclaude, F. Genetic polymorphism of milk proteins. In *Advanced dairy chemistry - Vol. 1: Proteins*, [ed. Fox, P.P.]. Elsevier Science Publishers Ltd, London, pp. 405-455. (1992).

Perkins D. J. (1969) Fauna of Çatal Hüyük: evidence for early cattle domestication in Anatolia. *Science*, 164, 177–178.

Pintar J.E., Schachter B.S., Herman, A.B., Durgerian, S. and Krieger, D.T. (1984). Characterization and localization of proopiomelanocortin messenger RNA in the adult rat testis. *Science*, 225, 632-634.

Pritchard L.E., Turnbull, A.V. and White, A.J. (2002). Proopiomelanocortin processing in the hypothalamus: impact on melanocortin signaling and obesity. *J Endocrinol*, 172, 411-421.

Rachagani S., Gupta I.D., (2008). Bovine kappa-casein gene polymorphism and its association with milk production traits. *Genet Mol Biol*, vol. 31 (4.), 893-897.

Raj G.S.D., Shetty M. G, Govindaiah C. S., Nagaraja S. M. Byregowda S M., Jayashanjkar M. R. (2008) Molecular characterization of kappa-casein gene in buffaloes. *Sciences Asia*, 34, 435-439.

Ridout, C.R. and Donini P., (1999). Use of AFLP in cereals research. *Trends in Plant Sci*, 4, 76-79.

Rijnkels, M., Kooiman, P.M., Boer, H.A. Pieper, F.R., (1997). Organization of the bovine casein gene locus. *Mamm. Genome* 8, 148-152.

Rijnkels M., (2002). Multispecies comparison of the casein gene loci and evolution of casein gene family. *J Mammary Gland Biol*, 7(3), 327-345.

Otaviano A.R., Tonhati H., Sena J.A.D., Ceron Muñoz M.F., (2005). Kappa-casein gene study with molecular markers in female buffaloes (*Bubalus bubalis*). *Genet Mol Biol*, 28 (2), 237-241.

Olsen H. G, Lien S., Gautier M., Nilsen H., Roseth A., Berg P.R., Sundaasen K.K., Svendsen M., Meuwissen T.H.E., (2005). Mapping of a Milk Production Quantitative Trait Locus to a 420-kb Region on Bovine Chromosome 6. *Genetics* 169, 275–283

Özdemir M., Doğru Ü. (2008). Sığırların Verim Özellikleri Üzerine Etkili Önemli Moleküler Markörler. *Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg.* 39 (1), 127-135,

Özkan E, (2005). Türkiye’de yetiştirilen yerli ve kültür sığır ırklarının genetik yapılarının mikrosatelitler ile incelenmesi. *Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*. Doktora Tezi

Özşensoy Y., Kurar E., Doğan M., Bulut Z., Altunok V., Işık A., ve Çamlıdağ A. (2010). Türkiye’de Bulunan Bazı Yerli Sığır Irklarının STR Markörler ile Genetik Karakterizasyonu. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi 3 (1)*, 155-163.

Özşensoy Y., Kurar E., (2012). Markör Sistemleri ve Genetik Karakterizasyon Çalışmalarında Kullanımları. *J Cell and Mol Biol*, 10(2), 11-19.

Öztabak K, Toker NY, Ün C, Akış I, Mengi A, Karadağ O, Soysal D. (2010). Leptin gene polymorphisms in native Turkish cattle breeds. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 16 (6): 921-924.

Öztan A. (2003). *Et Bilimi ve Teknolojisi*. Ankara. TMMOB Gıda Mühendisleri Odası Yayınları Kitapları Serisi Yayın NO:1.

Patel R.K., Chauhan J.B., Singh K.M., Soni K.J. (2007). Allelic Frequency of Kappa-Casein and Beta-Lactoglobulin in Indian rossbred (Bos taurus × Bos indicus) Dairy Bulls. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 31(6),399-

Pengyuan L., Jun Z., Xiangyang L. and Yan L. (2003). A method for marker-assisted selection based on QTLs with epistatic effects. *Genetica*, 119 75–86

Poggioli, R., Vergoni, A.V. and Bertolini, A. (1986). ACTH-(1-24) and α -MSH antagonize feeding behavior stimulated by kappa opiate agonists. *Peptides*, 7, 843-848.

Pritchard L.E., Turnbull A.V., White A.J. (2002). Pro-opiomelanocortin processing in the hypothalamus: impact on melanocortin signaling and obesity. *J Endocrinol*, 172, 411-21.

Prinzenberg E.M, Hiendleder S., Ikonen T., Erhardt G., (1996). Molecular genetics characterization of new bovine kappa-casein alleles CSN3F and CSN3G and genotyping by PCR–RFLP. *Anim Genet*, 27,347–349.

Prinzenberg E.M., Krause I., Erhardt G. (1999) - SSCP analysis at the bovine *CSN3 locus* discriminates six alleles corresponding to known protein variants (A, B, C, E, F, G) and three new DNA polymorphisms (H, I, A(1)). *Animal Biotech.*, 10(1-2), 49-62.

Prizenberg E.M., Jianlin H., Erhardt G., (2008). Genetic variation in the K-casein gene (*CSN3*) of Chinese Yak (*Bos grunniens*) and phylogenetic analysis of *CSN3* sequences in the genus *Bos*. *J Dairy Sci*, 91 (3), 1198-1203.

Rosero JA, Álvarez LA, Muñoz JE, Durán CV, Rodas AG. (2012). Allelic frequency of the Kappa-Casein gene in Colombian and creole cattle breeds. *Colomb Cienc Pecu*, 25,173-182.

Schaar, J., Hansson, B., and Pettersson, H., (1985). Effects of Genetic Variants of κ -Casein and Beta Lactoglobulin on Cheese-Making, *J. Dairy Res.*, 52, 429–437.

Saitou NM (1987). The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol Biol Evol*, 4, 406–425.

Satoh H. and Mori S. (1997). Subregional assignment of the proopiomelanocortin gene (*POMC*) to human chromosome band 2p23.3 by fluorescent in situ hybridization. *Cytogenet Cell Genet*, 76, 221-222.

Scheepers R.C., Marle-Köster E., Visser C. (2010). Genetic variation in the kappa-casein gene of South African goats. *Small Rumin. Res.* 93: 53-56.

Schnabel R.D., SoEnstega Ard T.S., Taylor J.F., Ashwel M.S. (2005) Whole genome scan to detect QTL for milk production, conformation, fertility and functional traits in two US Holstein families. *Anim. Genet.*, 36, 408–416.

Schrooten C., Bink M.C.A.M., Bovenhuis H. (2004),. Whole genome scan to detect chromosomal regions affecting multiple traits in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 87, 3550–3560.

Schmidt D.G., Both P, De Koning P.J. (1966). Fractionation and Some Properties of κ -Casein Variants. *J Dairy Sci*, 49(7), 776–782

Schultz E. And Kaiser T. M. (2007) Feeding strategy of Urus Bos primigenius Bojunus, 1827 from the Holocene of Denmark, *Courier Forschungsinstitut Senckenberg*. 259, 155-164

Smaragdov M.G, (2006). Genetic mapping of loci responsible for milk quality parameters in dairy cattle. *Genetika*, 42,5-21.

Smaragdov M.G, Prinzenberg E.M., Zwierzchowski L. (2006). QTL mapping in cattle: theoretical and empirical approach. *Anim. Sci. Papers and Rep.*, 24, 69–110.

Snelling W. M., Chiu R., Schein J. E., Hobbs M., Abbey C. A, Adelson D. L, Aerts J., Bennett G. L., Bosdet I. E., Boussaha M., Brauning R., Caetano A. R., Costa M. M., Crawford A. M., Dalrymp B.P, Eggen A., Wind A.E., Floriot S., Gautier M., Gill C. A., Green R. D, Holt R., Jann O., Jones S. J.M., Kappes S. M., Keele J. W., de Jong P.J., Larkin D. M., Lewin H. A., McEwan J. C, McKay S., Marra M. A., Mathewson C. A, Matukumalli L. K., Moore S. S., Murdoch B., Nicholas F. W., Osoegawa K., Roy A., Salih H., Schibler L., Schnabel R. D., Silveri L., Skow L. C., Smith T P. L., Sonstegard T. S., Taylor J. F., Tellam R., Van Tassell C. P., Williams J. L., Womack J. E., Wye N. H., Yang G., Zhao S., The International Bovine BAC Mapping Consortium (2007). *Genome Biology*, 8, R165,

Soria, L.A., Iglesias, G.M., Huguet, M.J. and Mirande, S.L. (2003). A PCR RFLP test to detect Allelic variants of the bovine kappa-casein gene. *Anim. Biotech.*, 14,1-5.

Staub, J.E., F.C. Serquen and M. Gubta. (1996). Genetic markers, map construction, and their application in plant breeding. *Hort Science*, 31, 729-740.

Sulimova G.E., Sokolova S.S., Semikozova O.P., Nguet L.M., Berberov E.M. (1992). Analysis of DNA polymorphism of clustered gene in cattle: casein genes and genes of the *BoLA* major hystocompatibility complex. *Genetika*, 26(5): 18-26.

Sulimova G.E., Badagueva Yu.N., Udina I.G. (1996) Polymorphism of the k-casein gene in populations of the subfamily Bovinae. *Genetika*, 32 (11), 1576-1582.

Sulimova G.E., Ahani Azari A., Rostamzadeh J., Mohammad Abadi M.R., Azebny O.E., (2007). K-casein gene (*CSN3*) allelic polymorphism in Russian cattle breeds and its information value as a genetic marker. *Russ J Genet+*, vol. 43: (1), 73-79.F

Temizkan, G., Yılmaz S., Öztürk ., Arı Ş., Ertan A., Arda N. *Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler*. İ.Ü. Biyoteknoloji ve Genetik Mühendisliği Araştırma ve uygulama Merkezi (Biyogem). Nobel Tıp Kitabevleri. İstanbul (2004).

Thompson JD, Higgins DG, Gibson TJ (1994). CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Symposium*;. Series 22, 4673–4680.

Tambasco D.D., Paz C.C.P., Tambasco-Studart M.D., Pereira A.P., Alencar M.M., Freita A.R., Coutinho L.L, Packer, I.U., Regitano, L.C.A. (2003). Candidate genes for growth traits in beef cattle crosses *Bos taurus* x *Bos indicus*. *J Anim. Breed. Genet.* 120, 51-56.

Threadgill D.W., Womack J.E., (1990). Genome analysis of the major bovine milk protein genes. *Nucl Acids Res*, 18,6935-6942.

Thue T.D. and Buchanan F.C. 2003. Linkage mapping of *POMC* to bovine chromosome 11. *Anim Genet*, 34, 146-160

Troy CS, MacHugh DE, Balley JF, Magee DA, Loftus TR, Cunningham P, Chamberlain AT, Sykes BC, Bradley DG., (2001). Genetic evidence for Near-Eastern origins of European cattle. *Nature*, 410, 1088–1091.

Tsiaras A.M, Bargouli G.G, Banos G, Boscós C.M., (2005), Effect of kappa-casein and beta-lactoglobulin loci on milk production traits and reproductive performance of Holstein cows. *J Dairy Sci*, 88,327–333.

Üçüncü M. (2005). *Süt ve Mamülleri Teknolojisi*. Meta Basım matbaacılık Hizmetleri, İzmir, Türkiye

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. *Bioch Genet*,46, 820-827.

Wang D.G., Fan J.B., Siao C.J., Berno A., Young P., Sapolsky R., Ghandour G., Perkins N., Winchester E., Spencer J., Kruglyak L., Stein L., Hsie L., Topaloglou T., Hubbell E., Robinson E., Mittmann M., Morris M.S., Shen N., Kilburn D., Rioux J, Nusbaum C., Rozen S., Hudson T.J., Lipshutz R., Chee M. ve Lander E.S. (1998). Largescale identification, mapping, and genotyping of single-nucleotide polymorphisms in the human genome. *Science*. 280:(5366), 1077–1082,.

Wedholm A., Larsen L.B., Lindmark-Mansson H., Karlsson A.H., Andre'n A., (2006). Effect of protein composition on the cheese-making properties of milk from individual dairy cows. *J Dairy Sci*, 89, 3296– 3305.

Whitfeld P.L., Seeburg P.H., Shine J. (1982). The human pro-opiomelanocortin gene: organization, sequence, and interspersion with repetitive DNA. *DNA*, 1, 133-143

Viitala S.M., Schulman N.F., De Koning D.J., Elo K., Kinoshita R., Virta A., Virta J., Maki-Tanila A., Vilkki J.H. (2003). QTL affecting milk production traits in Finnish Ayrshire dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 86, 1828–1836.

Winkelman, A. M. & Wickham, B. W. (1997). Associations between milk protein genetic variants and production traits in New Zealand dairy cattle. In: Milk protein polymorphism. Proceedings of the IDF Seminar held in Palmerston North, New Zealand. *Int Dairy Fed*, 38-46.

Vreeman H.J., Both P., Brinkhuis J.A., Van der Spek C., (1977). Purification and some physicochemical properties of bovine κ -casein. *Biochem.Biophys. Acta*.491, 93-103.

Woychik J.H. (1965). Phenotyping of κ -casein. *J. of Dairy Sci*. 48, 496-497

Woychik H. J., Kalan E. B. And Noelken M.E. (1966). Chromatographic isolation and partial characterization of reduced k-casein components. *Biochemistry*. 5 (7), 2276-2282.

Wynne, K., Stanley S., McGowan, B. and Bloom, S. (2005). Appetite Control. *J Endocrinol*. 184, 291-318.

Yaswen, L., Diehl, N., Brennan, M.B. and Hochgeschwender, U. (1999). Obesity in the mouse model of pro-opiomelanocortin deficiency responds to peripheral melanocortin. *Nature*, 5, 1066-1070.

Yeh F, Yang RC, Boyle T. Popgene (v. 1.32), (2000) . Microsoft Windows based free ware for Population Genetic Analysis. Retrieved from

Yeo, G.S., Farooqi, I.S., Challis, B.G, Jackson, R.S. and O’Rahilly, S. (2000). The role of melanocortin signaling in the control of body weight: evidence from human and murine genetic models. *Q J Med*, 93, 7-14.

EKLER

6. EKLER

EK A Tez Çalışması Kapsamında Yapılan Bilimsel Çalışmalar

1. Kabasakal A., Seyrek K., Dündar E., Ün C. 2012 “Boz Irk Sığırlarda Et ve Süt Verimi İle İlişkili Genlerin Analizi” 2. Moleküler Biyoloji ve Biyoteknoloji Kongresi. Antalya

