T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HEREFORD IRKI SIĞIRLARDA STEAROYL CoA DESATURASE GEN POLİMORFİZMİ

Hazniye NERGİS

ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI

ŞANLIURFA
2016

T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HEREFORD IRKI SIĞIRLARDA STEAROLY CoA DESATURASE GEN POLİMORFİZMİ

Hazniye NERGİS

ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI

ŞANLIURFA
2016

Yrd. Doç. Dr. Selahattin KİRAZ danışmanlığında Hazniye NERGİS'in hazırladığı **"Hereford Irkı Sığırlarda Stearoyl CoA Desaturase Gen Polimorfizmi"** konulu bu çalışma 29/06/2016 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Zootekni Anabilim Dalı'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

İmza

Danışman : Yrd. Doç. Dr. Selahattin KİRAZ

Üye : Yrd. Doç. Dr. Şahin ÇADIRCI

Üye : Yrd. Doç. Dr. Gonca ÖZMEN ÖZBAKIR

Bu Tezin Zootekni Anabilim Dalında Yapıldığını ve Enstitümüz Kurallarına Göre Düzenlendiğini Onaylarım.

Prof. Dr. Recep GÜNDOĞAN
Enstitü Müdürü

Bu çalışma HÜBAK Tarafından Desteklenmiştir.
HÜBAK Proje No: 13054

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖZET i
ABSTRACT ii
TEŞEKKÜR iii
ŞEKİLLER DİZİNİ iv
ÇİZELGELER DİZİNİ v
SİMGELER DİZİNİ vi
1. GİRİŞ 1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR 4
2.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu 4
2.2. Sığırlarda Süt ve Et Verimini Etkileyen Kantitatif Karakter Lokusları 5
2.3. Stearoil-CoA Desaturase Enzimi ve Metabolizmadaki Yeri 6
2.4. Sığırlarda SCD Enziminin Süt ve Et Yağ Asidi Kompozisyonu Üzerine Etkileri 7
2.5. Sığırlarda SCD Geninin Etkileri ve Yapısı 7
2.6. Hereford Sığır Irkı ve Özellikleri 9
2.7. KLA'nın Biyosentezi 10
3.MATERYAL ve YÖNTEM 12
3.1. Materyal 12
3.1.1. Hayvan materyali 12
3.2. Yöntem 12
3.2.1. DNA izolasyonu 12
3.2.2. Moleküler analizler 13
3.2.3. Gen dizilerin değerlendirilmesi 16
3.2.4. SCD geni genotiplerinin belirlenmesi 17
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA 18
4.1. SCD Gen Polimorfizmi 18
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER 22
KAYNAKLAR 24
ÖZGEÇMİŞ 28

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

HEREFORD IRKI SIĞIRLARDA STEAROYL CoA DESATURASE (SCD) GEN POLİFORMİZMİ

Hazniye NERGİS

Harran Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Zootekni Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Selahattin KİRAZ
İkinci Danışman: Doç. Dr. Seyrani KONCAGÜL
Yıl: 2016, Sayfa: 28

Bu Çalışmada, Hereford ırkı sığır populasyonunda Stearoyl CoA Desaturase (SCD) gen polimorfizmi belirlenmiştir. SCD geni ekson V bölgesi gen dizi bilgilerine göre A702G, T762C ve C878T tek nükleotid polimorfizmleri (SNP) tespit edilmiştir. A702G bölgesinde AA, AG ve GG genotiplerinin frekansları sırasıyla; %20.69, 44.83 ve 34.45, T762C bölgesinde TT, TC ve CC genotiplerinin frekansları sırasıyla; %13.79, 62.07 ve 24.14, C878T bölgesinde CC, CT ve TT genotiplerinin frekansları sırasıyla; %44.83, 31.03 ve 24.14 olarak hesaplanmıştır. Bununla beraber, A702G bölgesinde A ve G allel frekansları 0.431 ve 0.569, T762C bölgesinde T ve C allel frekansları 0.448 ve 0.552, C878T bölgesinde C ve T allel frekansları 0.603 ve 0.397 olarak hesaplanmıştır. Ayrıca ilgili SNP'ler bakımından populasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olmadığı belirlenmiştir ($P>0.05$).

ANAHTAR KELİMELER: Hereford, SCD geni, polimorfizm

ABSTRACT

MSc Thesis

HEREFORD IRKI SIĞIRLARDA STEAROLY CoA DESATURASE GEN POLİFORMİZMİ

Hazniye NERGİS

Harran University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Agricultural Structure and Irrigation

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Selahattin KİRAZ
Co-Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Seyrani KONCAGÜL
Year: 2016, Pages: 28

In this study, Stearoly CoA Desaturase (SCD) gene polymorphism was determined in Hereford cattle breed. A702G, T762C and C878T single nükleotid polymorfphisms (SNPs) have been identified based on DNA sequence information of exon V region in SCD gene. AA, AG and GG genotype frequencies were 20.69%, 44.83% and 34.45% in A702G region, and TT, TC and CC genotype frequencies were 13.79%, 62.07% and 24.14% in C878T region, respectively. In addition, A and G allele frequencies were 0.431 and 0.569 in A702G region, T and C allele frequencies were 0.448 and 0.552 in T762C region, and C and T allele frequencies were 0.603 and 0.397 in C878T region, respectively. However, it was found that the population was not at Hardy-Weinberg equilibrium in terms of related SNP genotypes

KEYWORDS: Hereford, Stearoyl CoA Desaturase**,** Polymorhisms

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam süresince yardımlarını esirgemeyen, bilgi ve tecrübesi ile büyük katkıları olan danışman hocalarım Yrd. Doç. Dr. Selahattin KİRAZ ve Doç. Dr. Seyrani KONCAGÜL hocama saygılarımı ve sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Sığırlar üzerindeki çalışma verilerini bize temin eden Yrd. Doç. Dr Ali Murat TATAR'a teşekkür ederim. Her zaman yanımda olan, hiçbir zaman desteğini esirgemeyen dostum Harika KAÇAN'a teşekkür ederim. Ayrıca hayatım boyunca ve çalışmam süresince desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen varlıklarına her daim şükrettiğim eşim Mustafa NERGİS, kız kardeşim Yeşim Elmas ve biricik oğlum Rodin NERGİS'e içtenlikle teşekkür ederim.

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 2.1. Hereford sığır ırkı.....9
Şekil 4.1. SCD geni A702G, T762C, C878T allel ve genotip frekansları.....20

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 2.1. Bos taurus stearoyl-CoA desaturase variant A (SCD)gene, complete cds 8
Çizelge 3.1. Bos taurus stearoyl-CoA desaturase (SCD) gene, exon 5 sekansı 14
Çizelge 3.2. PCR karışımı 15
Çizelge 3.3. PCR amplifikasyon şartları 15
Çizelge 4.1. SCD geni genotip ve allel frekasları 19

SİMGELER DİZİNİ

$MgCl_2$	Magnezyum Klorür
SCD	Stearoly CoA Desaturase
CLA	Konjuge Linoleik Asit
bç	Baz Çifti
DNA	Deoksiribonükleik Asit
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
ºC	Santigrad Derece
µl	Mikrolitre
kb	Kilobaz
pmol	Pikomol
SNP	Single Nucleotide Polymorphisms
mg	Miligram
gr	Gram
kg	Kilogram
A	Adenin
G	Guanin
T	Timim
C	Sitozin
PRL	Prolaktin
mRNA	Mesajcı Ribonükleik Asit
QTL	Kantitatif Karakter Lokusları
FASN	Yağ Asidi Sentaz
MAS	Marker Asisted Selection
OPN	Osteopontin

1. GİRİŞ

Stearoyl CoA Desaturase (SCD) ruminantlarda birleşmiş linoleik asidin endojenez sentezinde katkıda bulunan anahtar bir enzimdir. SCD gen polimorfizmi (çok biçimliliği) ve düzenlenmesi sonucu meydana gelen enzim aktivitesindeki değişikliklerin sütün içindeki diyetten bağımsız Konjuge Linoleik Asit (CLA) içeriğinin çeşitliliğine sebep olduğu hep düşünülegelmiştir. Ayrıca SCD gen polimorfizminin et, süt, yağlı asit bileşimine doğrudan etki ettiğine dair fikirler öne sürülmüştür (Milanesi ve ark., 2007).

Stearoyl-CoA Desaturase (SCD) proteini lipit metabolizmasında önemli role sahiptir. SCD enzimi (EC 1.14.19.1) yağ asidi metabolizmasında anahtar bir enzimdir. SCD enzimi özellikle, doymuş yağ asidi stearik asitten doymamış yağ asidi oleik asidi sentezler. Sığırlarda SCD proteini (NP_776384) 359 amino asitten oluşmaktadır. SCD proteini SCD geni tarafından kodlanır. SCD geni sığırlarda 26. kromozom üzerinde bulunmaktadır. Sığır SCD geni 10.373 bp uzunluğunda olup 4 ekzon bölge içermektedir (Gen ID: 280924, Lokasyon: 21137945-21148317). SCD geni, sığırlarda süt özellikleri üzerinde büyük bir etkiye sahip 26. kromozom üzerindeki QTL (Kantitatif Karakter Lokusları) bölge içerisinde yer almaktadır. SCD geni sığırlarda et ve süt özelliklerini etkileyen aday bir gen olarak seçilebilir. SCD geni üzerinde birçok tek nükleotid polimorfizm Single Nucleotide Polymorphisms (SNP) tanımlanmıştır. Bununla beraber, SCD genindeki SNP'ler ile et ve süt özellikleri arasında bağlantının bulunabilme potansiyeli yüksektir. Bu durum ıslah programlarında hayvansal ürünlerin daha verimli ve ekonomik olarak elde edilmesine olanak sağlar. SCD geni, sığırlarda et ve süt özelliklerinin moleküler ıslahı açısından genetik ilerlemenin daha hızlı olması yanında, marker destekli seleksiyon (MAS = Marker Asisted Selection) için potansiyel oluşturacaktır (Elmas, H., Koncagül S., ve Kiraz S., 2015).

İnsanların beslenme durumları zihinsel ve fiziksel işlevlerini sürdürebilmeleri ile etkileşim içindedir. Ancak yeterli ve dengeli beslenme ile büyüme, sağlıklı

yaşama, gelişme bedensel ve zihinsel işlevlerin devamlılığı sağlanabilir (Çelebi ve Karaca, 2006).

Ruminantlardan elde edilen yiyecek ürünler; birleşmiş linoleik asitlerin (CLA) en doğal kaynağıdır ki bunun insan sağlığı üzerinde olumlu birkaç etkisi (antikarsinogetik: kanser oluşumunu engel olan, antiherogetik: aterom plakların oluşumuna engel olan) ile geometrik ve durumsal linoleik izomerlerin karışımıdır. İmmünomodülatörleri engelleyerek ya da uyararak immünite reaksiyonları düzenleyerek etkiler (Pariza ve ark., 2000).

SCD geni, ruminantlardan elde edilen yiyeceklerin yağ kalitesinin geliştirilmesi ve insan sağlığı üzerindeki sonuçları itibari ile çok ilginç görünüyor. Memelilerde SCD geni birkaç türde gizlenmiş (fare, sığır ve insan gibi) olması saklanmış-korunmuş genomik bir yapıda olduğunu ve 15'ten 24 kb kadar yayılmış altı ekson ve beş introndan oluştuğunu gösteriyor (Keating ve ark., 2005).

Besin maddelerinin bazılarının hastalıkları doğal yollardan önlemesi ve tedavideki etkinliği bilimsel olarak ispat edildikten sonra beslenme desteğinin önemi daha da artmıştır. Böylece doğal sağlık ürünleri ve fonksiyonel besinlere olan talep artmıştır. Besleyici niteliklerinin dışında kronik hastalık riskini azaltan ve vücuda fizyolojik olarak yarar sağlayan besinlere *fonksiyonel besinler* denir (Coşkun, 2005).

Baskın olan izomerlerin veya rumenik asitlerin birçoğu cis-9, trans 11 ve cis18:2 mamal bezdeki endojenez sentezleri veya SCD enziminin yağ dokusu tarafından yaratılır (Griinari ve ark., 2000).

Sütte Konjuge Linoleik Asit (CLA) içeriği diyet değişiklikleri tarafından güçlü bir şekilde etkilenir: otlatmak, çim yedirmek, bitki ve balık yağından oluşan diyet eklemeleri daha yüksek CLA içeriğine sebep olur (Stockdale ve ark., 2003; Loor ve ark., 2003). Diyet etkilerinden başka birçok çalışma belirli bir sığırın durumu (Dhiman ve ark., 2002), hayvanın yaşı, (Stanton ve ark., 1997), ve mevsim etkilerinin varlığını da göstermiştir (Lock ve Garnsworty, 2003).

Konjuge linoleik asit; 18 karbon atomu ile çift bağ ihtiva eden ve esansiyel bir omega-6 yağ asidini alan, bağlanmış hale gelen linoleik asidin fazla sayıdaki geometrik ve pozisyonel izomerlerin karışımı olarak ifade edilen ortak bir terimdir. Konjuge linoleik asidin içindeki birleşmiş olan çift bağ, karbon zincirlerinde, 9 ve 10, 11 ve 12, 12 ve 12 veya 11 ve 13. pozisyonda ve birbirinden farklı cis-trans konfigürasyonlarında değişik izomerler şeklinde bulunabilir (Bölükbaşı ve ark., 2005; Köknaroğlu, 2007).

CLA içeriğindeki şahsi bir tek değişimin (üç veya on katı) aynı diyeti alan ineklerde de görüldüğü varsayılmıştır. Sütün CLA içeriğindeki diyetten bağımsız değişikliklerin mamal SCD aktivitelerinden kaynaklandığı ki bu ya ifade düzenlenmesinden ve SCD geninin polimorfizminden yada SCD enziminin geçiş öncesi düzenlenmesinden kaynaklandığı düşünülmüştür (Peterson ve ark., 2002).

Yakın zamandaki bir çalışmada SCD gen polimorfizmi, SCD aktivitesi ve yağlı asit bileşimleri arasında bir ilişki olduğunun altı çizilmiştir (Conte ve ark., 2006).

Konjuge linoleik asit pek çok besin maddesinde belirli düzeyde bulunmakla beraber insan bünyesinde sentezi mümkün değildir (Fritsche ve ark., 1999). Bu sebepledir ki insan diyetlerinde gerek duyulan Konjuge Linoleik Asidin temel kaynağı geviş getiren (ruminant) hayvanlardan sağlanılan et, süt ve özelikle süt ürünlerinden karşılanmaktadır (Chin ve ark., 1992). Ruminant canlıların rumenlerinde bulunan linolenik , linoleik vb çoklu doymamış yağ asitlerinin rumen bakterilerinin yaptığı biyohidrojenasyon sırasında ortaya çıkan ara ürünler CLA izomerleridir (Grinari ve ark., 2000).

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ilk kez 1985 yılında geliştirilmiş ve DNA teknolojisinde bir devri sağlamıştır. Canlılarda genom çalışmaları bu sayede hız kazanmıştır. Amaç istenilen DNA kısımlarının fazla miktarda çoğaltılmasıdır (Arnheim ve Erlich, 1992).

Bir polimeraz zincir reaksiyonu DNA'nın çift sarmalı yüksek ısıda birbirinden ayrılması (denatürasyon), primer ve oligonükleotidlerin bağlanması (hibridizasyon) ve son olarak zincir uzama işleminden (polimerezasyon) oluşan ve bu döngünün çok sayıda tekrar etmesinden oluşur (Temizkan ve Arda, 2004; Klug ve Cummings, 2003). Bu tür döngülerde önce uygulanan başlangıç denatürasyonunda ısı sıcaklığı 92 veya 95°C süresi ise en fazla 1 dakikadır. Denatürasyon basamağının ardından primer ve oligonükleotidler bağlanmaya başlar. Bu aşamada bağlanma ısısı çok önemlidir. Çünkü bağlanma ısısının aşırı derecede düşük olması istenmeyen bağlanmaları artırarak istenilen bölge dışındaki bölgelerinde çoğalmasına sebep olur. Bağlanma aşamasının ardından primerlerin uzama aşaması başlar ve bu aşamada DNA polimeraz enzimi olarak genellikle bakterilerden elde edilen taq DNA polimeraz kullanılır. Polimerazyon için en uygun sıcaklık 72 °C'dir. Toplam döngü sayısı 25-35 arasındadır. Döngü sayısının aşırı miktarda artırılması istenen ürün miktarını artırmaz aksine istenmeyen ürün miktarında artışa sebep olur. Bu nedenle döngü sayısı 40 üzerine çıkarılmaz (Temizkan ve Arda, 2004).

Bir PZR'nin gerçekleşmesi için reaksiyonun temel bileşenlerinin olması gerekir. Bu temel bileşenlerin ilki kalıp DNA'dır. İkincisi ise PZR bileşeni polimerazlardır. Bir başka PZR bileşeni primelerdir. İstenilen DNA bölgesinin çoğaltılmasında kalıp DNA'ya bağlanabilecek primerlere ihtiyaç vardır. Bunlar ticari olarak sentez edilir ve 20-30 nükleotidten oluşmaktadır. Bir diğer PZR bileşeni deoksirobonükleozid trifosfatlardır. Son PZR bileşeni ise tamponlar ve $MgCl_2$ 'dir.

Tüm bu bileşenler kullanılarak bir PZR karışımı hazırlanır ve ısı döngüsü cihazına yerleştirilerek hedef DNA bölgesinden çok sayıda kopya elde edilmesi sağlanır (Temizkan ve Arda, 2004; White, 1993).

2.2. Sığırlarda Süt ve Et Verimini Etkileyen Kantitatif Karakter Lokusları

Sığır, süt ve et ürünleri olarak tarih boyunca oldukça önemli role sahip olmuştur. Çiftlik hayvanlarında 1700'lü yıllarda ilk genetik ilerlemeler meydana gelmiştir. Bu tarihten sonraki çalışmalar süt ve et verimi kalitesini artırmayı amaçlamıştır. Genetik bilimindeki gelişmeler erken dönemde sığırların verim potansiyelleri belirlenmekte, böylece yetiştiricilikte zaman ve para kaybı engellenmektedir (Cockett ve Kole, 2009).

Sığırlarda kantitatif karakter lokuslarını belirlemedeki amaç verim özelliklerinin geliştirilmesinde kullanılan programlarda seleksiyon parametresi olarak kullanılmaktadır (Rothschild ve Soller, 1997).

Bu güne kadar yapılan tüm çalışmalarda ortalama 50-100 tane gen potansiyel bir kantitatif karekter lokusları (QTL) tespit edilmiştir, ama bunların çok azı geniş etkiye sahiptir. Büyük bir kısmının etkisi oldukça düşüktür. Sığırlarda bilinen QTL'nın sadece %17'nin önemli bir etkiye sahip olduğunu ileri sürülmektedir (Hayes ve Goddard, 2001). Geniş etkili genlere BTA1 de yer alan sığır hipofize özel transkripsiyon faktörü (PIT-1) (Renavile ve ark., 1997), 6. kromozomda osteopontin (OPN) (Schnabel ve ark., 2005), peroxysome proliferator-activated receptor-gamma coactivator-1 alpha (PPARGC1A) (Weikard ve ark., 2005), ATP-binding casette subfamily G mmber 2(ABCG2) geni (Cohen-Zinder ve ark., 2005), BTA 14'te yer alan asilkoenzimA: diasilgliserol asiltransferaz (DGAT1) (Grisart ve ark., 2002), BTA 23'te yer alan prolaktin geni (PRL) (Mitra ve ark., 1995) örnek olarak verilebilir. Yine sığırlarda et kalitesi ve yağ içeriği ile ilişkili olduğu ileri sürülen bir gen de mevcuttur (Hirva ve ark., 2011).

2.3. Stearoil-CoA Desatürase Enzimi ve Metabolizmadaki Yeri

Oleik ve palmitik asitler apidaz dokuda yer alan ana depo yağ asitleridir. Yağ asitlerinin denovo sentezinde FASN enzimi palmitik asitte durmasına rağmen metabolizmanın son ürünü genellikle oleik asittir (Nelson ve Cox, 2004).

SCD enziminin iki önemli etki yüzeyi vardır. İlki palmitioil-CoA'dır. Δ^9 pozisyonuna bir çift bağın eklenmesiyle palmitoleoil-CoA'ya ikincisi ise palmitoil-CoA'nın uzaması yani 2 karbon eklenmesiyle oluşan stearoil-CoA'dır. Aynı şekilde Δ^9 pozisyonuna bir çift bağın eklenmesi sonucunda oleil-CoA'ya dönüşür. (Ntambi, 1995). SCD'nin katalizlediği bu reaksiyonla sentezlenen tekli doymamış yağ asitleri fosfolipid, trigliserid ve kolesterol esterleri gibi birçok lipidin önemli bir kaynağını oluşturur (Ntambi ve Miyazaki, 2004).

Alınan gıdalar da SCD aktivitesini etkilemektedir. Doymamış yağ asitleri ve kolesterolden zengin bir beslenme karaciğerde desatüraz aktivitesinde bir artışa neden olmaktadır (Chung ve ark., 2000). Bunun tersi, çoklu doymamış yağ asitlerinden linoleik asit gibi zengin gıdalar da bir azalmaya neden olmaktadır (DeWille ve Farmer, 1992).

Çok düşük yoğunluktaki lipoproteinlerin karaciğerde depolanması veya salgılanması B-100 sentezine bağlıdır. Bunun sentezi içinde yeteri miktarda oleik asidin olması gerekir. Oleik asit ise ya SCD tarafından katalizlenen bir reaksiyon ile sentezlenir ya da gıdalar ile alınır (Miyazaki ve ark., 2002).

Bağışıklık sistemi, çoklu yağ asidinin kompozisyonunda ve miktarındaki değişimlere çok duyarlıdır. Daha önce yapılan araştırmalarda stearik asidin T-lenfosit polimerazasyonu ve fonksiyonları için potansiyel bir engelleyici olduğunu göstermiştir. T-lenfositlerin stearik aside olan hassasiyeti SCD aktivitesindeki yetersizlikten kaynaklanmaktadır. Buna rağmen stearik asit seviyesi T-lenfositleri etkilememektedir. Bunun asıl sebebi SCD izoformu ifadelendirilmesi sonucunda stearik asidin oleik aside dönüşümüdür (Garbay ve ark., 1998).

Sonuç olarak örneklerden de anlaşıldığı gibi SCD aktivitesi obezite, diyabet, kardiyovasküler rahatsızlıklar, cilt hastalıkları, nörolojik hastalıklar ve kanserle yakından ilişkilidir (Ideta ve ark., 1998).

2.4. Sığırlarda Stearoil-KoA Desaturase Enziminin Süt ve Et Yağ Asidi Kompozisyonu Üzerine Etkileri

İnsanlar için sağlıklı hayvansal ürünler elde etmekte sütün ve etin yağ asidi miktarları ve kompozisyonları çok önemlidir (Mele ve ark., 2007). Standart bir inek sütü %5 çoklu doymamış, %25 tekli doymamış ve %70 doymuş yağ asidi içerir (Grummer, 1991). Süt yağ asidi bu kadar yüksek doymuş yağ asidi içerdiği için hiperkolesteromik olarak nitelendirilir. İnsan sağlığına en faydalı ve olması istenilen süt yağ asidi oranı %30 doymuş, %60 tekli doymamış ve %10 çoklu doymamış yağ asidi içermesidir. Bu orana ulaşmak için rasyon içeriklerinde birçok oynama yapılmış ancak istenilen sonuca ulaşılmamıştır. Bu da araştırmacıları genetik çalışmalara yöneltmiştir (Stoop ve ark., 2008).

SCD ruminantlarda süt yağ kompozisyonuna etki eden en önemli enzimdir. İneklerde meme dokusunda konjuge linoleik asit oluşumunun temel sorumlusudur (Bauman, 1999). Ayrıca (Corl ve ark., 2001) süt yağının yağ asidinin %78'nin endojen olarak oluşumu ve salınımından da sorumludur.

Araştırmalar sığır etinin yumuşaklığı ve mermer gibi olmasının oleik asit konsantrasyonu ile arasında olumlu bir ilişki olduğunu göstermişlerdir (Waldman ve ark., 1968).

2.5. Sığırlarda SCD Geninin Etkileri ve Yapısı

SCD'nin SCD1 ve SCD5 olmak üzere iki adet izoformu sığırlarda belirlenmiştir. SCD1 en çok mRNA miktarında, meme dokusu ve apidozda rastlanmasına karşın çok farklı dokularda da ifadelenmiştir. SCD5 ise en fazla beyin dokusunda ifadelendirilmiştir (Chung ve ark., 2000).

Çizelge 2.1. Bos taurus stearoyl-CoA desaturase variant A (SCD) gene, complete cds

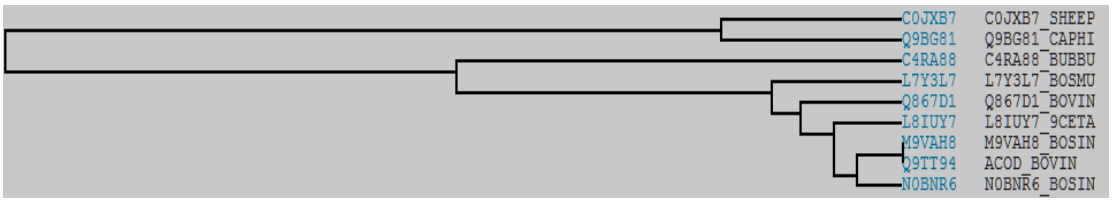
```
M9VAH8  M9VAH8_BOSIN     1 MPAHLLQEEISSSYTTTTTITAPPSRVLQNGGGKLEKTPLYLEEDIRPEMRDDIYDPTYQ      60
Q9TT94  ACOD_BOVIN       1 MPAHLLQEEISSSYTTTTTITAPPSRVLQNGGGKLEKTPLYLEEDIRPEMRDDIYDPTYQ      60
N0BNR6  N0BNR6_BOSIN     1 MPAHLLQEEISSSYTTTTTITAPPSRVLQNGGGKLEKTPLYLEEDIRPEMRDDIYDPTYQ      60
L8IUY7  L8IUY7_9CETA     1 MPAHLLQEEISSSYTTTTTITAPPSRVLQNGGGKLEKTPLYLEEDIRPEMRDDIYDPTYQ      60
Q867D1  Q867D1_BOVIN     1 MPAHLLQEEISSSYTTTTTITAPPSRVLQNGGGKLEKTPLYLEEDIRPEMRDDIYDPTYQ      60
L7Y3L7  L7Y3L7_BOSMU     1 MPAHLLQEEISSSYTTTTTITAPPSRVLQSGGGKLEKTPLYLEEDIRPEMRDDIYDPTYQ      60
C4RA88  C4RA88_BUBBU     1 MPAHLLQEEISSSYTTTTTITAPPSRVLQNGGGKLEKTPLYLEEDIRPETRDDIYDPTYQ      60
C0JXB7  C0JXB7_SHEEP     1 MPAHLLQEEISSSYTTTTTITAPPSRVLQNGGGKLEKTPLYLEEDIRPEMRDDIYDPTYQ      60
Q9BG81  Q9BG81_CAPHI     1 MPAHLLQEEISSSYTTTTTITAPPSKVLQNGGGKLEKTPLYLEEDIRPEMRDDIYDPTYQ      60
                            *************************:***.****************** **********

M9VAH8  M9VAH8_BOSIN    61 DKEGPKPKLEYVWRNIILMSLLHLGALYGITLIPTCKIYTYIWVLFYYLMGALGITAGAH      120
Q9TT94  ACOD_BOVIN      61 DKEGPKPKLEYVWRNIILMSLLHLGALYGITLIPTCKIYTYIWVLFYYLMGALGITAGAH      120
N0BNR6  N0BNR6_BOSIN    61 DKEGPKPKLEYVWRNIILMSLLHLGALYGITLIPTCKIYTYIWVLFYYLMGALGITAGAH      120
L8IUY7  L8IUY7_9CETA    61 DKEGPKPKLEYVWRNIILMSLLHLGALYGITLIPTCKIYTYLWVLFYYLMGALGITAGAH      120
Q867D1  Q867D1_BOVIN    61 DKEGPKPKLEYVWRNIILMSLLHLGALYGITLIPTCKIYTYIWVLFYYLMGALGITAGAH      120
L7Y3L7  L7Y3L7_BOSMU    61 DKEGPKPKLEYVWRNIILMSLLHLGALYGITLIPTCKIYTYLWVLFYYLMGALGITAGAH      120
C4RA88  C4RA88_BUBBU    61 DKEGPKPKLEYVWRNIILMFLLHLGALYGITLIPTCKIYTYLWVLFYYLMGALGITAGAH      120
C0JXB7  C0JXB7_SHEEP    61 DKEGPKPKLEYVWRNIILMGLLHLGALYGITLIPTCKIYTFLWVLFYYVISALGITAGVH      120
Q9BG81  Q9BG81_CAPHI    61 DKEGPKPKLEYVWRNIILMGLLHLGALYGITLIPTCKIYTFLWVLFYYVMSALGITAGVH      120
                            ****************** ********************::******::.*******.*

M9VAH8  M9VAH8_BOSIN   121 RLWSHRTYKARLPLRVFLIIGNTMAFQNDVFEWSRDHRAHHKFSETDADPHNSRRGFFFS      180
Q9TT94  ACOD_BOVIN     121 RLWSHRTYKARLPLRVFLIIGNTMAFQNDVFEWSRDHRAHHKFSETDADPHNSRRGFFFS      180
N0BNR6  N0BNR6_BOSIN   121 RLWSHRTYKARLPLRVFLIIGNTMAFQNDVFEWSRDHRAHHKFSETDADPHNSRRGFFFS      180
L8IUY7  L8IUY7_9CETA   121 RLWSHRTYKARLPLRVFLIIGNTMAFQNDVFEWSRDHRAHHKFSETDADPHNSRRGFFFS      180
Q867D1  Q867D1_BOVIN   121 RLWSHRTYKARLPLRVFLIIGNTMAFQNDVFEWSRDHRAHHKFSETDADPHNSRRGFFFS      180
L7Y3L7  L7Y3L7_BOSMU   121 RLWSHRTYKARLPLRVFLIIGNTMAFQNDVFEWSRDHRAHHKFSETDADPHNSRRGFFFS      180
C4RA88  C4RA88_BUBBU   121 RLWSHRTYKARLPLRVFLIIGNTMAFQNDVFEWSRDHRAHHKFSETDADPHNSRRGFFFS      180
C0JXB7  C0JXB7_SHEEP   121 RLWSHRTYKARLPLRVFLIIANTMAFQNDVFEWSRDHRAHHKFSETDADPHNSRRGFFFS      180
Q9BG81  Q9BG81_CAPHI   121 RLWSHRTYKARLPLRVFLIIANTMAFQNDVFEWSRDHRAHHKFSETDADPHNSRRGFFFS      180
                            ********************.****************************************

M9VAH8  M9VAH8_BOSIN   181 HVGWLLVRKHPAVKEKGSTLNLSDLRAEKLVMFQRRYYKPGVLLLCFILPTLVPWYLWDE      240
Q9TT94  ACOD_BOVIN     181 HVGWLLVRKHPAVKEKGSTLNLSDLRAEKLVMFQRRYYKPGVLLLCFILPTLVPWYLWDE      240
N0BNR6  N0BNR6_BOSIN   181 HVGWLLVRKHPAVKEKGSTLNLSDLRAEKLVMFQRRYYKPGVLLLCFILPTLVPWYLWDE      240
L8IUY7  L8IUY7_9CETA   181 HVGWLLVRKHPAVKEKGSTLNLSDLRAEKLVMFQRRYYKPGVLLLCFILPTLVPWYLWDE      240
Q867D1  Q867D1_BOVIN   181 HVGWLLVRKHPAVKEKGSTLNLSDLRAEKLVMFQRRYYKPGVLLLCFILPTLVPWYLWDE      240
L7Y3L7  L7Y3L7_BOSMU   181 HVGWLLVRKHPAVKEKGSTLNLSDLRAEKLVMFQRRYYKPGVLLLCFILPTLVPWYLWDE      240
C4RA88  C4RA88_BUBBU   181 HVGWLLVRKHPAVIEKGSTLNLSDLKAEKLVMFQRRYYKPGVLLLCFILPTLVPWYLWGE      240
C0JXB7  C0JXB7_SHEEP   181 HVGWLLVRKHPAVREKGATLDLSDLRAEKLVMFQRRYYKPGVLLLCFILPTLVPWYLWGE      240
Q9BG81  Q9BG81_CAPHI   181 HVGWLLVRKHPAVREKGATLDLSDLRAEKLVMFQRRYYKPGVLLLCFILPTLVPWYLWGE      240
                            ************ ***:**:****:******************************** *

M9VAH8  M9VAH8_BOSIN   241 TFQNSLFFATLFRYALGLNVTWLVNSAAHMYGYRPYDKTINPRENILVSLGAAGEGFHNY      300
Q9TT94  ACOD_BOVIN     241 TFQNSLFFATLFRYALGLNVTWLVNSAAHMYGYRPYDKTINPRENILVSLGAAGEGFHNY      300
N0BNR6  N0BNR6_BOSIN   241 TFQNSLFFATLFRYALGLNVTWLVNSAAHMYGYRPYDKTINPRENILVSLGAVGEGFHNY      300
L8IUY7  L8IUY7_9CETA   241 TFQNSLFFATLFRYALGLNVTWLVNSAAHMYGYRPYDKTINPRENILVSLGAVGEGFHNY      300
Q867D1  Q867D1_BOVIN   241 TFQNSLFFATLFRYALGLNVTWLVNSAAHMYGYRPYDKTINPRENILVSLGAAGEGFHNY      300
L7Y3L7  L7Y3L7_BOSMU   241 TFQNSLFFATLFRYALGLNVTWLVNSAAHMYGYRPYDKTINPRENILVSLGAVGEGFHNY      300
C0JXB7  C0JXB7_SHEEP   241 TFQNSLFFATFLRYAVVLNATWLVNSAAHMYGYRPYDKTINPRENILVSLGAVGEGFHNY      300
Q9BG81  Q9BG81_CAPHI   241 TFQNSLFFATLLRYAVVLNATWLVNSAAHMYGYRPYDKTINPRENILVSLGAVGEGFHNY      300
M9VAH8  M9VAH8_BOSIN   301 HHTFPYDYSASEYRWHINFTTFFIDCMAAIGLAYDRKKVSKAAILARIKRTGEESYKSG      359
Q9TT94  ACOD_BOVIN     301 HHTFPYDYSASEYRWHINFTTFFIDCMAAIGLAYDRKKVSKAAILARIKRTGEESYKSG      359
N0BNR6  N0BNR6_BOSIN   301 HHTFPYDYSASEYRWHINFTTFFIDCMAAIGLAYDRKKVSKAAILARIKRTGEESYKSG      359
L8IUY7  L8IUY7_9CETA   301 HHTFPYDYSASEYRWHINFTTFFIDCMAAIGLAYDRKKVSKAAILARIKRTGEESYKSG      359
Q867D1  Q867D1_BOVIN   301 HHTFPYDYSASEYRWHINFTTFFIDCMAAIGLAYDRKKVSKAAILARIIRTGEESYKSG      359
L7Y3L7  L7Y3L7_BOSMU   301 HHTFPYDYSASEYRWHINFTTFFIDCMAAIGLAYDRKKVSKAAILARIKRTGEESYKSG      359
C4RA88  C4RA88_BUBBU   301 HHTFPYDYSASEYRWHINFTTFFIDCMAAIGLAYDRKKVSKAAILARMKRTGEESYKSG      359
C0JXB7  C0JXB7_SHEEP   301 HHTFPYDYSASEYRWHINFTTFFIDCMAAIGLAYDRKKVSKAAVLARMKRTGEESYKSG      359
Q9BG81  Q9BG81_CAPHI   301 HHTFPYDYSASEYRWHINFTTFFIDCMAAIGLAYDRKKVSKAAVLARMKRTGEESCKSG      359
```



Sığır SCD1 geni 17088 bç büyüklüğündedir. (Gen Bankası giriş no:AY241932), (Tanguchi ve ark., 2004). SCD1 geni 5.eksonda A702G, T762C ve C878T olmak üzere 3 adet tek nükleotid polimorfizmi (SNP)'ne rastlanmıştır. SCD1 geninin sığırlarda sırt ve iskelet kasında mermerleşme derecesi, tekli doymamış yağ asidi ve konjuge linoleik asit miktarları arasında pozitif bir ilişki olduğu bildirilmektedir (Tanguchi ve ark., 2004; Matsuhashi ve ark., 2011).

Sığırlarda süt ve et yağ kalitesini genetik olarak geliştirmede SCD lokusunun çok önemli bir potansiyele sahip olduğu açıklanmıştır (Macciotta ve ark., 2008). Bunun dışında bu genin enerji metabolizmasına etkisi başka hayvansal ürünlerinde geliştirilmesinde önemli bir role sahiptir (Taniguchi ve ark., 2004; Macciotta ve ark., 2008).

2.6. Hereford Sığır Irkı ve Özellikleri

Açık besi hayvancılığına en uygun ırklardan biri de hereford sığır ırkıdır. Anavatanı İngiltere'dir. 19. yüzyılın sonlarına doğru bütün dünyaya yayılmıştır. Yetiştirildiği bölge açık besi hayvancılığa uygun olduğu için tercih sebebi olmuştur.



Şekil 2.1. Hereford sığır ırkı

Hereford sığırının özellikleri;

- Genellikle kırmızı ve kahverengindedir ama siyah renkli olanı da mevcuttur,
- Ayak bilekleri, kuyruk ucu, karın altı ve baş bölgeleri beyaz renktedir,
- Bu sığırlar boynuzlu ve boynuzsuz olabildiği gibi boynuzlu olanlarda boyun kısa ve küttür,
- Sakin yaşam tarzına uygun oldukları için mera ve açık besi hayvancılığı için elverişlidirler,
- Hereford sığırı; sağlam tırnak, kas ve kemik yapısına sahiptir,
- Hereford ineğinin doğumu kolay olur ve diğer ırklara göre annelik içgüdüleri daha çok gelişmiştir,
- Döl verimi yüksektir ama süt sağımına uygun hayvanlar değillerdir, genellikle yavruya bırakılır,
- Yeni doğan buzağı ağırlığı ortalama erkek buzağı 37 kg, dişi buzağı ise 34 kg' dır,
- Etteki randımanı %70 dolaylarında olup eti yağsızdır, et kalitesi yüksek ve yumuşaktır,
- Canlı ağırlığı dişide 610-740 kg**,** erkekte ise 950-1300 kg arasındadır**,**
- Cidago yüksekliği dişide 130-140 cm, erkekte 140-150 cm dir (Yeniyurt ve ark., 2013).

2.7. KLA'nın Biyosentezi

İnsanların ve ruminant olmayan hayvanların bağırsaklarında bulunulan mikroorganizmaların linoleik asitten daha az miktarda bile olsa Konjuge Linoleik Asit (CLA) sentezleyebildiğini son dönemlerde yapılan çalışmalar göstermiştir (Aydın, 2005). Maalesef ki sentezlenen bu miktar yeterli düzeyde olmadığından dolayı insan diyetleri için gerekli olan CLA'nın temel kaynağını; peynir, krema, süt, tereyağı, yoğurt, et ve dondurma gibi ruminant hayvanlardan elde edilen, süt ürünleri oluşturmaktadır. Süt, süt ürünleri ve etten elde edilen CLA düzeyi bir gr yağda yaklaşık olarak 5,6 ile 2,9 mg arasında değişkenlik gösterirken bu düzey tavuk etinde

ve yumurtada 0,9 ve 0,6 mg dolaylarındadır (Aydın ve Özsan, 2003).

Linolenik ve linoleik gibi çoklu doymamış olan yağ asitlerinin rumende butyivibrio fibrosolvens bakteriler ile stearik aside (C18:0) biyohidrojenasyonunun oluşumu sırasında elde edilen ara ürün CLA izomerleridir. Bunlar içinde bulunan süt ürünleri ve etin toplam CLA izomerleri sırasıyla %92 ve %77'sini oluşturan c-9, t-11 ve oktadekadienoik asit aynı zamanda biyolojik olarak en aktif izomerlerdir (Benito ve ark., 2001; Hwanabo ve ark., 2006).

Ancak mikrobik faaliyet ve katalitik hidrojenasyonla bitkisel yağ asitlerinin büyük bir kısmı cis konfügürasyonuna getirilebilir.

Rumen bakterileri rasyonla alınan yağları iki ana dönüşüme çevirirler. Diğer basamak için de gerekli olan ve mikrobiyal lipaz tarafından katalizlenen ester bağlarının hidrolizi birinci dönüşümde gerçekleşir. Doymamış yağ asitlerinin biyohidrojenasyonu ise ikinci dönüşümde oluşur (Grinari ve Bauman, 1999).

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Hayvan materyali

Araştırmanın DNA izolasyonu için, gerekli doku materyali Şanlıurfa-Merkez bölgede faaliyet gösteren özel bir besi işletmesinde, 6-9 aylık yaştaki Hereford ırkı kastre edilmiş sığırlar 155 günlük besiye tabii tutulan ve besi sonrası ilgili işletme bünyesindeki kombinede kesimleri gerçekleştirilen 29 adet hayvan ve hayvanlara ait veriler çalışmaya dahil edilmiştir Doku örnekleri, doğrudan temas ve kontaminasyonu önlemek için eldivenlerle (lateks) karkasın boyun kısmından alınmıştır. Her bir hayvan için toplanan örnekler poşetlere konarak, etiketlendirilip laboratuvara ulaştırılıncaya kadar muhafaza edilmiştir. Örnek etiketi üzerine, hayvana ait bilgiler yazılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. DNA izolasyonu

Sığırlardan doku genomik DNA izolasyon kiti (NucleoSpin® Tissue MACHEREY-NAGEL) kullanılarak genomik DNA izole edilmiştir. İzole edilen DNA örneklerinin görüntülenmesinde %1'lik agaroz jel kullanılacaktır.

Genomik DNA İzolasyon protokolü:

1. Kolon içeren 2 ml'lik tüplere Column preparation Solution'dan 500 µl eklenerek 12000 g'de 1 dakika santrifüj edilir ve alt kısım dökülür.
2. Yeni bir tüp içerine 20 µl proteinase K, 200 µl örnek ve 20 µl RNase eklenerek 2 dakika bekletilir.
3. Tüp içerisine Lysis Solution'dan 200 µl eklenerek 15 saniye vorteks yapılır ve 55 ºC'de 10 dakika inkübe edilir.

4. Daha sonra tüp içerisine 200 µl ethanol (%99) eklenerek 5-10 sn vorteks edilir ve içerik kolon içeren tüplere dökülerek 6500 g'de 1 dakika santrifüj edilir ve alt kısım dökülür.
5. Daha sonra tüp içerisine 500 µl prewash solution eklenerek 6500 g'de 1 dakika santrifüj edilir ve alt kısım dökülür.
6. Daha sonra tüp içerisine 500 µl wash solution eklenerek 12000 g'de 3 dakika santrifüj edilir.
7. Daha sonra kolon yeni bir tüp içerisine alınarak 200 µl elution solution eklenerek 5 dakika bekletilir ve 6500 g'de 1 dakika santrifüj edilir.
8. Tüp içerisindeki kolon atılarak alt kısımda bulunan sıvıda DNA'nın varlığı agaroz jel elektroforezinde görüntülenir. İzole edilen DNA moleküler çalışmalarda kullanılmak üzere derin dondurucuda saklanır.

DNA Agaroz jel elektroforezi:

Erlenmayer içerisine (250 ml'lik) 100 ml 1XTBE çözeltisi ve 1000 mg agaroz (Sigma) tartılarak konulup mikrodalga fırın içerisinde eritilmiştir. Jel kuyularının baş ve son kısmına moleküler ağırlık markeri yüklenmiştir. Markerlardan DNA için 1 kb ladder kullanılmıştır (Fermentas). Diğer kuyulara, 5 µl DNA örnekleri 1 µl yükleme tamponu ile birlikte yüklenmiştir. Daha sonra jel, etidyum bromür içeren bir kabın içerisinde 10 dakika bekletilip DNA'ların boyanması sağlanmıştır. Ultraviyole (UV) ışık altında DNA'nın varlığı görüntülenerek ve fotoğrafı çekilip değerlendirmek üzere bilgisayara aktarılmıştır.

3.2.2. Moleküler analizler

Sığır SCD geni ekson 5 bölgesinde 552 bp'lık bir fragmanı amplifiye etmek için tasarlanmış (Milanesi ve ark., 2008) primer çifti kullanılmıştır (GenBank Erişim No. AY241932).

İleri (foward) Primer: 5-CAGAAAATTTCCTTGCCCATT-3
Geri (reverse) Primer: 5-TGTTGCTTAACTTTCAAGGGTTT-3

Çizelge 3.1. Bos taurus stearoyl-CoA desaturase (SCD) gene, exon 5 sekansı

TAAGATCCCCTTGTGCCACCTGGTGTGGCCCAAAAAAAAAATAAAAGATTGACTTAAACATAGATTCTGCGAAGAG
CACTGCTGAAAGAGAAAGGAAGCCCAAAGGCAGAACAGAAAAACCCGGGAAGGAGAACTCAGTCTGTAATTTGGAC
CCTGTCTATTTCCCTGAAGTAGTAAAAGAGAGCAATGGATTTAGAGTCAGGAGATGAAACATTCCAGTCCTTGCTC
CACCACTTCCTGGTAGTGTGACCCTAGAAAAGTCATTTAACCCCTCATTACCTCATCTCAGAAGTATGATAATAAC
ACTGTATTCTCAGAAAATTTCCTTGCCCATTCGCTCTTGTTCTGTTGCCTGCCACACTGTGCTCTCAGTGTAGAAA
GGGACAGCCCCGCCCTGTGAGAGTGGAAAATCAGGTAGGTCTCAGCGTCCCCTCTCCACTCACTGAGCCTGTGATC
TCTCAATGCAGGTACTACAAACCTGGTGTCCTGTTGTTGTGCTTCATCCTGCCCACACTCGTGCCATGGTATCTGT
GGGATGAAACGTTTCAAAACAGCCTGTTTTTTGCCACCTTATTCCGTTATGCCCTTGGGCTCAACGTCACCTGGCT
GGTGAATAGTGCTGCCCATATGTATGGATACCGCCCTTATGACAAGACCATCAACCCCCGAGAGAATATTCTGGTT
TCCCTGGGAGCTGTGGGTAAGTCAGCAGTCCACAGCAAGACCACGTCTAGTGGTCTGCTGCTTAGGGTATTAGGTT
ACGTGCCAGAAAAACTAGATTTACCTGTTTTATGACCCCTCTCCGTATGTCATTCCACTATAAAACTAAGGGACAG
TATTAGAAAACCCTTGAAAGTTAAGCAACAAGTCCTATGTAAAGAGAAAAGGGTGAAAAATGACAATGCCTTTAAT
TCCAGGTTTAAGAGCAAGCCACAAATGCTATGTATGATGAACCCCTTTGGGCTGTTCTCTTCCCAGTCATCTCTGA
TCTGGGTGGTAGTCTTGCTTGGGGCAGGGAATGCATAAATAGAAGAGTAGGGTCATCTGGGTGGCCAGAAAGCCTA
GTATTTTACATTTAGTTGTGATATACAGAACAAATACTTGTCATTTAACTCACTAAGCTTCTCTTTTATCACCTTC
CTGTATTCAGAGGGGCAATATTTGAAGTGTATTACATGCCTTACTA

Sığır SCD geni ekson 5 bölgesinin polimeraz zincir reaksiyonu tekniği ile çoğaltılmasında kullanılacak PZR karışımı Çizelge 3.2'de gösterilmiştir. Bu bileşenlerin tümü belirtilen miktarlarda kuru buz üzerindeki 0.2 ml'lik PZR ependorf tüpleri içerisinde hazırlandıktan sonra, PZR şartları önceden programlanmış PZR cihazına yerleştirilmiştir. Çalışılan gen bölgesinin polimeraz zincir reaksiyonu tekniği ile çoğaltılmasında kullanılacak PZR amplifikasyon şartları Çizelge 3.3'te verilmiştir. PZR çalışmaları gradient özelliğe sahip Boeco thermocycler (Germany) marka cihazda yapılmıştır.

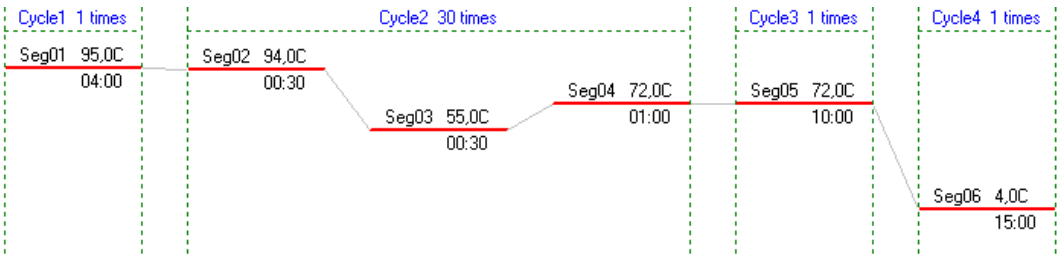
Çizelge 3.2. PCR Karışımı

Bileşenler	Konsantrasyon	Miktar
Kalıp DNA	20-30 ng/µl	1.0 µl
PCR Buffer	10X	4.0 µl
İleri Primer	10 pmol/µl	1.0 µl
Geri Primer	10 pmol/µl	1.0 µl
dNTP mix	1.0 nM	1.0 µl
Taq DNA polimeraz	5U/µl	0.5 µl
dH_2O		32.0 µl
Toplam		40.0 µl

Çizelge 3.3. PCR amplifikasyon şartları

Döngü işlemi	Sıcaklık (°C)	Döngü sayısı	Süre
Ön denaturasyon	95	1	4 dakika
Denatürasyon	94		30 saniye
Yapışma (T_m)	55	30	30 saniye
Sentez	72		1 dakika
Son uzama	72	1	10 dakika
Bekleme	4	∞	∞

PCR Programı



Çoğaltılan PZR ürünlerinin görüntülenmesinde %1,5'luk agaroz jel kullanılmıştır (1,5 g agarose/100 ml 1XTBE). PZR jellerinin koşturulmasında marker olarak 100 bp'lik ladder (Fermentas) kullanılmıştır.

Sığır SCD geni ekson 5 bölgesinin PZR amlifkasyonu gerçekleşmiş örnekler gen dizileme için seçilerek ileri (F) ve geri (R) zincir olmak üzere örnekler 50 µl olarak (25 µl PZR ürünü + 25 µl ddH_2O) hazırlanmıştır. Dizileme işlemi hizmet alımı şeklinde yapılmıştır.

3.2.3. Gen dizilerin değerlendirilmesi

1) PCR ürünlerinin ileri (F) ve geri (R) zincir kromatoğramlarını içeren dosyalar (h01_F.ab1 ve h01_R.ab1) Finch TV 1.4 paket programında açılarak görüntülenmiştir. Burada kromatoğramdaki pikler incelenecek ve pik sinyalleri belirgin ve kaliteli olan dizi örnekleri değerlendirilmeye alınmıştır.
2) Görüntülenen h01_F.ab1 dosyasından dizi bilgileri FASTA formatta bir not defteri dosyasına (h01.txt) transfer edilecektir. h01_R.ab1 dosyasındaki görüntü "reverse komplementer"e çevrilerek benzer şekilde dizi bilgileri FASTA formatta not defteri dosyasına aktarılmıştır. h01.txt dosyasına ilgili gene ait referans dizi bilgileri de eklenerek h01 örneği için veri dosyası oluşturulmuştur.
3) Veri dosyası (h01.txt) kullanılarak *Clustal W* programı ile çoklu dizi hizalama (multiple sequence alignment) yapılmıştır. Burada amaç, hem ileri hem geri dizi uyumunu görmek hem de referans dizi ile de karşılaştırarak konsensüs sağlanan dizilerin (Clustal consensus) belirlenmesini sağlamaktır. Ayrıca referans dizi temel alınarak ileri ve geri zincirle birlikte konsensüs bölgelerde, tespit edilen nükleotid yer değişimleri (transisyon/transversiyon) veya indel (insersiyon ve delesyon) bölgeler işaretlenerek h01 örneğimiz için ilk aşama dizi bilgisi elde edilmiştir.
4) Benzer aşamalar diğer tüm örnekler içinde yapılmıştır. Tüm örnekler

için elde edilen ilk aşama dizilerde tekrar çoklu dizi hizalama yapılmış ve tüm diziler için ortak konsensüs bulunan bölgeler belirlenmiştir.

5) Dizi setlerini içeren dosyalar (*.txt), genetik analizlerin yapılması için ilgili paket programlarda kullanılmak üzere değişik formatlara (FASTA, NEXUS, MEGA) çevrilmiştir.

3.2.4. SCD geni genotiplerinin belirlenmesi

Örneklere ait gen dizileri bilgileri kullanılarak genotiplendirme yapılmıştır. Genotiplendirme sonrası ilgili lokus bakımından gen ve genotip frekansları belirlenmiştir. Gen ve genotip frekansları hesaplanmakla birlikte, ayrıca populasyonun Hardy-Weingberg dengesinde olup olmadığını kontrol etmek üzere Ki-Kare ($\chi 2$) testi yapılmıştır (Yeh ve ark., 1997). Gen ve genotip frekanslarının hesaplanması ile $\chi 2$ analizleri için PopGene 3.2 paket programı kullanılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1. SCD Gen Polimorfizmi

Tüm örnkelerde SCD geni ekzon 5 bölgesini içeren 552 baz çifti (bç) uzunluğunda PZR ürünleri elde edilmiştir. SCD geninde polimorfizm DNA dizi bilgileri kullanılarak belirlenmiştir. İlgili gen bölgesinde A702G, T762C ve C878T tek nükleotid polimorfizmleri (SNP) tespit edilmiştir. Bu SNP'ne ait allel ve genotip frekansları Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Yaptığımız bu çalışma neticesinde SCD geni ekzon5 bölgesini içeren 552 baz çifti (bç) uzunluğunda PZR ürünleri elde edilmiştir. SCD geninde polimorfizm DNA dizi bilgileri kullanılarak belirlenlenmiştir. Çalışmada Hereford ırkı sığır populasyonunda Stearoyl CoA Desaturase (SCD) gen polimorfizmi belirlenmiştir. SCD geni ekson V bölgesi gen dizi bilgilerine göre A702G, T762C ve C878T tek nükleotid polimorfizmleri (SNP) tespit edilmiştir. A702G bölgesinde AA, AG ve GG genotiplerinin frekansları sırasıyla; %20.69, 44.83 ve 34.45, T762C bölgesinde TT, TC ve CC genotiplerinin frekansları sırasıyla; %13.79, 62.07 ve 24.14, C878T bölgesinde CC, CT ve TT genotiplerinin frekansları sırasıyla; %44.83, 31.03 ve 24.14 olarak hesaplanmıştır. Bununla beraber, A702G bölgesinde A ve G allel frekansları 0.431 ve 0.569, T762C bölgesinde T ve C allel frekansları 0.448 ve 0.552, C878T bölgesinde C ve T allel frekansları 0.603 ve 0.397 olarak hesaplanmıştır. Ayrıca ilgili SNP'ler bakımından populasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olmadığı belirlenmiştir ($P>0.05$).

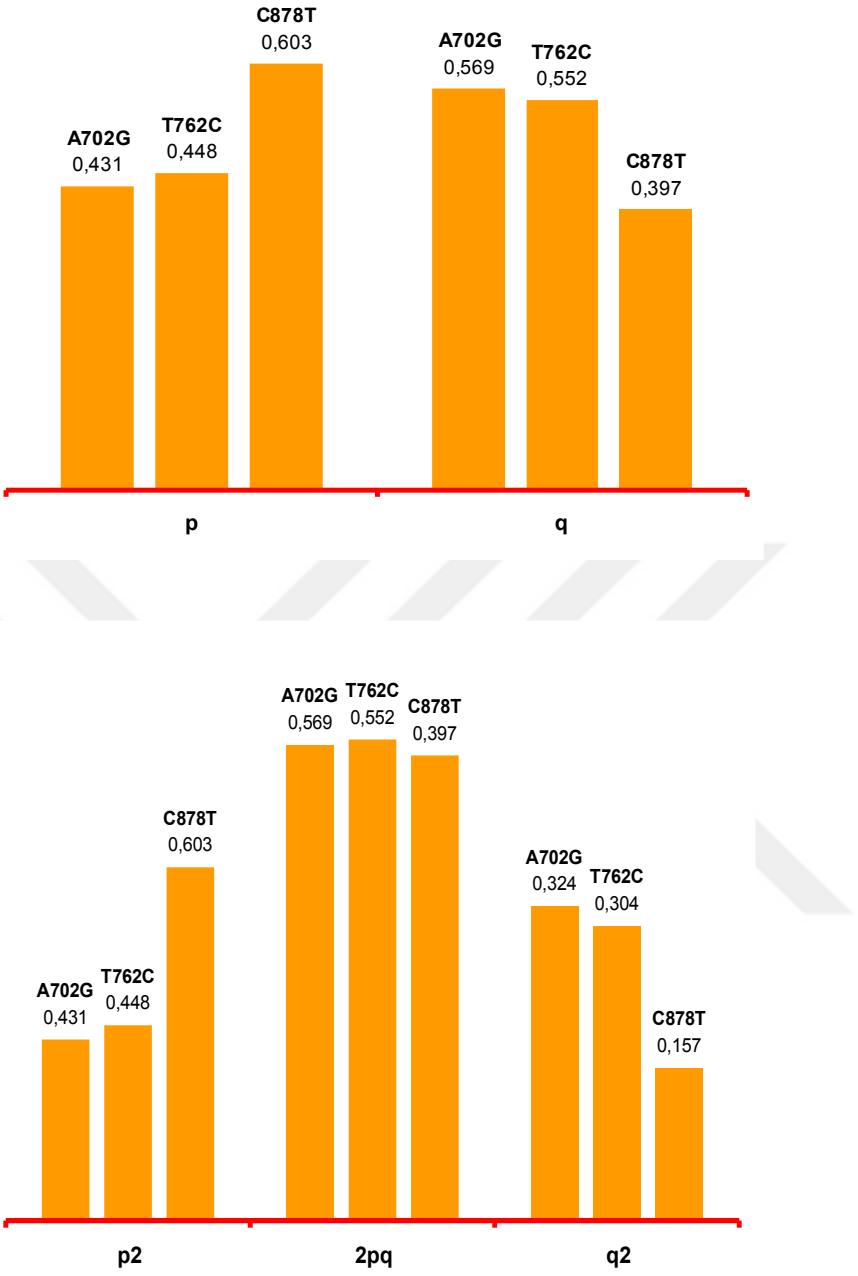
Yapılan çalışmada, allel ve genotip frekansları bakımından populasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olmadığı görülmüştür.

Çizelge 4.1. SCD geni genotip ve allel frekasları

SNPs		Genotip frekansları			Allel frekansları %		HWE p-değeri
A702G	Gözlenen	AA	AG	GG			
	n	6	13	10			
	%	20.69	44.83	34.48	A	G	0.6430
	Beklenen				0.431	0.569	
	n	5.39	14.22	9.39			
	%	18.58	49.05	32.37			
T762C	Gözlenen	TT	TC	CC			
	n	4	18	7			
	%	13.79	62.07	24.14	T	C	0.1700
	Beklenen				0.448	0.552	
	n	5. 83	14.34	8.83			
	%	20.10	49.46	30.44			
C878T	Gözlenen	CC	CT	TT			
	n	13	9	7			
	%	44.83	31.03	24.14	C	T	0.0583
	Beklenen				0.603	0.397	
	n	10.56	13.88	4.56			
	%	36.41	47.86	15.73			

HWE: Hardy-Weinberg dengesi

Holstein, Jersey ve İsviçre Esmeri sığır ırklarında SCD bakımından 8 adet tek nükleotid polimorfizmi (SNP) belirlenmiştir (Medrano ve ark., 1999). Bunlardan 3 adeti 5. eksonda ve 5 adeti ise 3'ucu kodlama yapmayan bölgede yer almaktadır. 5. eksonda yer alan 3 SNP sırasıyla, A702G, T762C ve C878T'dir (Taniguchi ve ark., 2004). C878T (pozisyon 10329) da yer alan SNP Alanin (293Ala) ve Valin varyantı (293 Val) olmak üzere iki adet protein varyantının oluşmasına neden olur. Bu aminoasit değişimi (Ala293Val) enzimin katalitik aktivitesini de değiştirmektedir (Taniguchi ve ark., 2004).



Şekil 4.1. SCD geni A702G, T762C ve C878T allel ve genotip frekansları

Kanada Jersey ırkı sığırlarda Alanin varyantı doymuş C10, C12, C14'ün doymamış C10:1, C12:1 ve C14:1'e dönüşümü olumlu yönde etkilemesine rağmen C16:1, C18:1, tekli doymamış yağ asitleri, konjuge linoleik asit ve çoklu doymamış yağ asitleri üzerine bile etkisinin olmadığını ifade etmişlerdir. Bunun sonucunda araştırmacılar da SCD genini her ne kadar total doymamışlık indeksine etkisi olmasa

da tek tek yağ asidi indeksine etkisinden dolayı insanlar için sağlıklı ürünleri elde edilmesi ve süt yağ asidi kompozisyonunun geliştirilmesinde çok önemli bir etki yarattığını belirtmişlerdir (Kgwatalala ve ark., 2009). Aynı çalışmada A alleli ile süt proteini miktarı ve süt verimi arasında olumlu bir ilişkinin olduğunu belirtmişlerdir. Bu elde edilen verilerin tam aksine (Macciotta ve ark., 2008)'da İtalian Holstein sığır ırkında yaptıkları çalışmada AA genotipine sahip hayvanların VV genotipli hayvanlardan daha düşük süt protein miktarına ve süt verimine sahip olduklarını ileri sürmüşlerdir. Bu çalışmalar SCD geninin ele alınan konulara etki ettiğini , ama SCD geni allellerinin etkilerinin nasıl olduğu tartışmalı bir durum haline gelmiştir.

SCD geni A263V polimorfizminin protein içeriği ve hem süt hem de karkas yağ asidi çok önemli derecede etkilerinin bulunduğunu bu sebepledir ki et yağ ve süt asidi kompozisyonunu farklılaştırarak insanlar için daha sağlıklı ürünlerin elde edilmesinde potansiyeli olduğu ileri sürülmektedir (Taniguchi ve ark., 2004; Macciota ve ark., 2008; Matsuhashi ve ark., 2011).

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Bu çalışmada, Hereford sığır ırkında SNP'leri tespit etmek ve SCD gen polimorfizmi bakımından populasyon yapısını ortaya koyacaktır. Ruminant türevli gıda ürünleri zengin konjuge linoleik asitin (CLA) doğal kaynağıdır. CLA, linoleik asidin geometrik ve pozisyonel izomerlerinin bir karışımdır (cis-9, cis-12, C18:2) ve insan sağlığı üzerine çeşitli olumlu etkileri (yani, antikarsinojenik, antiaterojenik ve immünomodüller etkiler) vardır. Yapılan son çalışmalarda, SCD gen polimorfizmi ile SCD aktivite ve yağ asidi kompozisyonu arasında önemli ilişki tespit edilmiştir.

Sonuç olarak SCD geni ekson V bölgesi gen dizi bilgilerine göre A702G, T762C ve C878T tek nükleotid polimorfizmleri (SNP) tespit edilmiştir. A702G bölgesinde AA, AG ve GG genotiplerinin frekansları sırasıyla; %20.69, 44.83 ve 34.45, T762C bölgesinde TT, TC ve CC genotiplerinin frekansları sırasıyla; %13.79, 62.07 ve 24.14, C878T bölgesinde CC, CT ve TT genotiplerinin frekansları sırasıyla; %44.83, 31.03 ve 24.14 olarak hesaplanmıştır. Tespit edilen bu SNP 'lerde A702G bölgesinde A ve G allel frekansları 0.431 ve 0.569, T762C bölgesinde T ve C allel frekansları 0.448 ve 0.552, C878T bölgesinde C ve T allel frekansları 0.603 ve 0.397 olarak hesaplanmıştır. Ayrıca ilgili SNP'ler bakımından populasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olmadığı belirlenmiştir ($P>0.05$).

Son yıllarda, gelişmiş ülkelerde, hayvan ıslahı uygulamalarının yapısı önemli ölçüde değişmiştir. Hayvan ıslahında moleküler genetik teknolojiler daha etkin bir şekilde kullanılmaktadır. Islah çalışmalarını büyük organizasyonların yaptıkları görülmektedir ve ıslah endüstrisi teknolojiyi kullanmaya başlamıştır. Özellikle suni tohumlama teknolojisi 1950'lerden beri sığırlarda kullanılmaktadır. Bu teknolojinin süt sığırlarındaki önemi, hayvan ıslahı bakımından genetik ilerlemeye katkısının çok büyük olmasındandır. Bununla birlikte in vitro döllenme, embriyo transferi ve DNA markörlerinin kullanılması gibi teknolojilerin de geliştirildiği görülmektedir. Bu teknolojiler günümüzde kullanılmaktadır veya kullanıma başlama çalışmaları yapılmaktadır.

Hayvan popülasyonlarında moleküler teknikler ile genetik polimorfizm ve verim-belirteç gen ilişkilerinin belirlenmesi ve bu ilişkilerin uygulamaya aktarılması ile hayvancılığın geliştirilmesi mümkün olabilecektir.

Sonuç olarak insanlar için daha sağlıklı et ve süt ürünlerinin elde edilmesinde yağ asidi içeriklerinin önemli olduğu daha öncede bildirilmiştir. Yapılan çalışmalar yağ asidi içeriğinin insan sağlığı için olumlu olarak düzenlenmesinde SCD geni A263V polimorfizminin potansiyelinin yüksek olduğu vurgulanmaktadır.

KAYNAKLAR

ARNHEIM, N. and ERLICH, H., 1992. Polymerase chain reaction strategy.Annual Review Of Biochemistry, 61: 131-156.

AYDIN, R., 2005. Conjugated Linoleic Acid: Chemical structure, sources and biological properties.türk j. Vet. Animal Sci. 29: 189-195.

AYDIN, R., ÖZSAN, E., 2003. Konjuge linoleik asitte son gelişmeler. II. ulusal hayvan besleme kongresi, 18-21 Eylül 2003. Selçuk Üniversitesi, Konya.

BAUMAN, D.E., 1999. Bovine somatotropin and lactation: from basic science to commercial application. Domestic Animal Endocrinology, 17: 101-116.

BAUMAN, D.E., BAUMGARD, L.H., CORL, B.A., and GRIINARI, J.M., 1999. Biosynthesis of conjugated linoleic asid in ruminants. proceedings of the american society of animal science. http;/ www. asas. org/ jas/ symposia/ proceedings/ 0937. pdf (10 Eylül 2005).

BENITO, P., NELSON, G.J., KELLY, D.S., BARTOLINI, G., SCHMIDT, P.S., SIMON, V., 2001. The effects of conjugated linoleic acid on plasma ıpoproteins and tissue fatty acid composition in humas. Lipids 36: 229-236.

BÖLÜKBAŞI, C., ERHAN, M.K., ÇELEBİ, Ş., 2005. The effects of dietary conjugated linoleic acid (CLA),sunflower oil and soybean oil on fatty acid composition of yolk and egg quality in laying hen.j.food. tech. 3(3): 427-429.

CHIN, S.F., LIU, W., STROKSON, L.M., HA, Y.L., PARIZA, M.W., 1992. Dietary sources cojugated linoleic ısomers of linoleic acid a newly recognized class of anticarcinogens. J.Food.Comp.Anal. 5: 185-197.

COŞKUN, T., 2005. Fonksiyonel besinlerin sağlığımız üzerine etkileri. Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları Dergisi 48(1): 61-84.

CHUNG, M., HA. S., JEONG, S., BOK, J., CHE, K., BAIK, M., CHOI, Y., 2000. Clonning and characterization of bovine stearoly CoA desaturase cDNA from adipose tissues.bioscience, biotechnology and biochemistry, 64: 1526-1530.

COCKETT, N.E., ve KOLE ,C., 2009. Genome mapping and genomicsin domestic animals/ cattle. Genome Mapping Genomics Animals 1-5.

COHEN-ZINDER, M., SEROUSSİ, E., LARKIN, D.M., LOOR, J.J., EVERTS-VAN DER WIND, A., LEE, J.H., 2005. Identification of missesnse mutation in the bovine ABCG2 gene with a major effect the QTL on choromosome 6 affecting yield and composition in holstein catle. Genome Research, 15: 936-944.

CONTE, G., MELE, M., CASTIGLINONI, B., SERRA, A., VIVA, M., CHESSA, S., PAGNACCO, G., SECCHIARI, P., 2006. Relationship between bovine SCD polymorphism locus and mammary gland desaturation activity.ın:procceedings of the 8th world congress on genetics applied to livestock prodiction. Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil,13-18 August, Pp. 22-37.

CORL, B.A., BAUMGARD, L.H., DWYER, D.A., GRIINARI, J.M., PILLIPS, B.S., BAUMAN, D.E., 2001. The role of Δ^9-desaturase in the production of cis-9, trans-11 CLA. Journal of Nutritional Biochemistry, 12: 622-630.

ÇELEBİ, Ş., ve KARACA, H., 2006. Yumurtanın besin değeri, kolesterol içeriği ve yumurtayı bn-3 yağ asitlerince değerlendirilmesi.

DEWILLE, J.W., ve FARMER, J., 1992. Postnatal dietary fat ınfluences mrnas involved in myelenotion. Developmental Neuroscience, 14: 61-66.

DHIMAN, T.R., ZAMAN, M.S., KILMER, L., GILBERT, D., 2002. Breed of dairy cows has ınfluence on conjugated linoleic acid (CLA) content of milk. J. Dairy Sci, 85: 315.

ELMAS, H., KONCAGÜL, S., ve KİRAZ, S., 2015. Sığırlarda SCD (stearoyl-coa desaturase) geni. GAP VII. Tarım Kongresi Bildiri Kitabı, 28 Nisan -01 Mayıs. HRÜ. Şanlıurfa.

FRITSCHE, J., RICHKERT, R.H.M.P., MOSSABA, M.M., SEHAT, N., ROACH, J.A.G., KRAMER, J.K.G., KU, Y., 1999. Conjugated Linoleic acid (CLA) ısomers. Fett Lipid 101: 272-276.

GARBAY, B., BOIRON-SARGUEIL, F., SHY, M., CHBIHI, T., JIANG, H., KAMHOLZ, J., CASSAGNE, C., 1998. Regulation of oleoyl-CoA sytnthesis in the peripheral nervous system:demonstration of alink with mylein synthesis. Journal Of Neurochemistry, 71: 1719-1726.

GRIINARI, JM., CORL, B.A., LACY, S.H., CHOUINARD, P.Y., NURMELA, K.V., BAUMAN, DE., 2000. Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by delta (9) -desaturase. J Nutr. 2000 Sep; 130(9): 2285-2291.

GRISART, B., COPPITIERS, W., FARNIR, F., KARIM, L., FORD, C., BERZI, P., 2002. Positional candidate cloning of a QTL in dairy cattle:ıdentification of a missense mutation in the bovine DGAT1 gene with major effect on milk yield and composition. Genome Research, 12: 222-231.

GRUMMER, R.R., 1991. Effect of feed on composition of milk fat. Jaurnal of Dairy Scinces, 74: 3240-3260.

HAYES, B.J., and GODDARD, M.E., 2001. The distribution of the effects of genes affecting quantitive traits in livestock. Genetics Selection Evolution, 33(3): 209-229.

HIRWA, C., WALLACE, P., SHEN, X., NIE, Q., YANG, G., ZHANG, X., 2011. Genes related to economically ımportant traits in beef cattle. Asian Journal of Animal Sciences, 5(1): 34-35.

HWANGBO, J., KIM, H.J., LEE, B.S., KANG, S.W., CHANG, J., BAE, H.B., LEE, M.S., KIM, Y.J., CHOI, N.J., 2006. Increasing content of healty fatty acids in egg yolk of laying hens by cheese by product. Asian Aust. J. Anim. Sci. 19(3): 444-449.

IDETA, R., SEKI, T., ADACHI, K., NAKAYAMA, N., 1998. The ısolation and characterization of androgen –dependent genes in the flank organs of golden syrian hamsters. Dermatology, 196: 45-50.

KEATING, A. F., STANTON, C., MURPHY, J.J., SIMITH, T. J., ROSS, R. P., CAIRNS M.T., 2005. Isolation and characterization of the bovine stearoly –coa desaturase promoter and analysis of polymorphisms in the promoter region in dairy cows.Mamm.Genome, 16: 184-193.

KGWATALALA, P.M., IBEAGHA-AWEMU, E.M., MUSTAFA, A.F., ZHAO, X., 2009. Influence of stearoly coenzyme a desaturase 1 genotype and stage of lactation on fatty acid composition jersey cows.Journal of Dairy Sciences, 92: 1220-1228.

KLUG, W.S., and CUMMINGS, M.R., 2003. (Çeviri editör: Öner, C.). Genetik kavramlar (Altıncı baskı).Palme Yayıncılık. 515-517.

KOKNAROGLU, H., 2007. Beslemenin sığır eti konjuge linoleik asit miktarına etkisi. Hayvansal Üretim, 48(1): 1-7.

LOCK, A.L., GARNWORTH., 2003. Seosonal variation in milk conjugated linoleic acid and desaturase actıvıty in dairy cows.Livestock Production Science 79: 47-59.

LOOR, J.J., LIN, X.B., HERBEIN, J.H., 2003. Effects of dietary cis-9, trans-11-18:2, trans-10, cis-12-18:2, or vaccenic acid (trans-11-18:1) during lactation on body composition,tissue fatty acid profiles, and litter growth in mice. Br.J.Nutr., 90: 1039-1048.

MACCIOTA, N.P.P., MELE, M., CONTE, G., SERRA, A., CASSANDRO, M., DAL ZOTTO, R., BORLINO, A.C., PAGNACCO, G., SECCHIARI, P., 2008. Association between an polymorophism at the stearoly coa desaturase locus and milk production traits in ıtalian holsteins. Journan Of Dairy Sciences, 91: 3184-3189.

MATSUHASHI, T., MARUYAMA S., UEMOTO, Y., KOBAYASHI, N., MANNEN, H., ABE, T., SAKAGUCH, S., KOBAYASHI, E., 2011. Effects of bovine fatty acid synthase, stearolycoenzyme a desaturase, sterol regulatory element-binding protein 1, and growth hormone gene polymorphisms on fatty acid composition and carcass traits in japanese black cattle. Journal Of Animal Science, 89: 12-22.

MELE, M., CONTE, G., CASTIGLONI, B., CHESSA, S., MACCIOTTA, N.P.P., SERA, A., BUCCIONI, A., PAGNACCO, G., SECCHIARI, P., 2007. Stearoly-Coenzyme A Desaturase gene polymorphism and milk fatty acid composition in ıtalian holstein. Journal of Dairy Science, 90: 4458-4465.

MILANESI, E., NICOLOSO, L., CREPALDI, P., 2007. Stearoly CoA Desaturase (SCD) gene polymorphisms in ıtalian cattle breeds. sezione di zootecnica agraria, dipartimento di scienze animali, Universita Delgi Studi di Milano, Milamo, Italy.

MITRA, A., SCHLEE, P., BALAKRISHNAN, C.R., PIRCHNER, F., 1995. Polymorphisms at growth hormone and prolactin loci in ındian cattle and buffalo. Journal of Animal Beeding and Genetics, 112: 71-74.

MIYAZIKI, M., GOMEZ, F.E., NTAMBI, J.M., 2002. Lack of Stearoly –CoA Desturase-1 Function İnduces A Palmitoyl –Coa Δ^6 desaturase and represses the stearoly –coa desaturase -3 gene in the preputial glands of the mouse. Lipid Research, 43: 2146-2155.

NELSON, D., COX, M.M., 2004. Lehninger biyokimyanın ilkeleri. Palme Yayıncılık, 770-815.

NTAMBI, J.M., 1995. The regulation of Stearoly Co-A Desaturase (SCD). Progress Lipid Research, 34: 139-150.

NTAMBİ, J.M., MİYAZAKİ, M., 2004. Regulation of stearoly coenzyme-A desaturase and role in metabolism. Progress in Lipid Research, 43: 91-104.

PARIZA, M.W., PARK, Y., COOK, M.E., 2000. Mechanisms of action of conjugated linoleic acid: Evidence and speculation. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 223: 8-13.

PETERSON, D.G., KELSEY, J.A., BAUMAN, D.E., 2002. Analisis of variation in cis-9, trans-11 conjugated linoleic acid (CLA) in milk fat of dairy cows. J Dairy Sci, 85: 2164-2172.

RENAVILLE, R., GENGLER, N., VRECH, E., PRANDI, A., MASSART, S., CORRADINI, C., BERTOZZI, F., MORTIAUX, A., PORTETELLE, D., 1997. Pit-1 Polymorphism, milk yield and comformation traitsfor ıtalian holstein freisian bulls. Journal of Dairy Science, 80: 3431-3438.

ROTHSCHILD, M.F., and SALLER, M., 1997. Candidate gene analysis to detect genes controlling traits of ecenomic ımportance in domestic livestock. Probe, 8: 13-22.

SCHNABEL, R.D., KIM, J.J., ASHWELL, M.S., SONSTEGARD, T.S., VANTASSELL, C.P., CONNOR, E.E., 2005. Fine mapping milk production quantitatiev trakit loci on BTA6: analysis of the bovine osteopontin gene. Proceedings of the National Academy of Sciences, 102: 6896-6901.

STANTON, C., LAWLESS, F., KJELLMER, G., HARRİNGTON, D., DEVERY, R., CONNOLY, J.F., MURPHY, J., 1997. Dietary influences on bovine milk cis-9, trans-11-conjugated linoleic acid content. J.Food Sci., 62: 1083-1086.

STOCKDALE, C.R., WALKER, G.P., WALES, W.J., DALLEY, D.E., BIRKETT, A., SHEN, Z., DOYLE, P.T., 2003. Influence of pasture and concentrates in the diet of grazing dairy cows on the fatty acid composition of milk. J.Dairy Res, 70: 267-276.

STOOP, W.M., VAN, AREDONK, J.A.M., HECK, J.M.L., VAN, VALENBERG, H.J.F., BOVENHUS, H., 2008. Genetic parameters for major milk fatty acids and milk production traits of duch holstein- friesians. Journal of Dairy Science, 91: 385-394.

TANUGUCHI, M., UTSUGI, T., OYAMA, K., MANEN, H., KOBAYASHI, M., TANABE, Y., OGINO, A., TSUJI, S., 2004. Genotype of Stearoly Coenzyme-A Desaturase is associated with fatty acid composition in japanese black cattle. Mammalian Genome, 14: 142-150.

TEMİZKAN, G., ve ARDA, N., 2004. Moleküler biyolojide kullanılan yöntemler, İstanbul Nobel Tıp Kitapevleri, 54-117.

WALDMAN, R.C., G, G., SUESS ANDV.H.BRUNGARDT., 1968. Fatty acidsof certain bovine tissue and their association with growth, carcass and palatability trias. Journal of animal science, 27: 632-635.

WEIKARD, R., KÜHN, C., BOYLE, T., FREYER, G., SCHWERIN, M., 2005. The bovine PPARGC1A gene:molecular characterization and association of an SNP with vartiation of milk fat synthesis.Physiological Genomics, 21: 1-13.

WHITE, B.A., 1993. PCR protocols: current methods and application,totowa, new jersey: Human press.

VET. HEK. HAYRİ YENİYURT ., AYSEL VURAN., 2013. www.veteriner.cc/sığır /hereford.asp.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Hazniye NERGİS
Uyruğu : T.C.
Doğum Yeri ve Tarihi : Diyarbakır / 01.04.1986
e-mail : hazniye_elmas@hotmail.com
Telefon : 0545 628 87 87

EĞİTİM

Derece	Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	: Fatih Lisesi/ Merkez/ Diyarbakır	2003
Üniversite	: Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü/Merkez/Şanlıurfa	2009
Yüksek Lisans	: Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Fen Bilimleri Enstitüsü Zootekni Anabilim Dalı/Merkez/Şanlıurfa	2016

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
2011-2012	Adıyaman İl Gıda,. Tarım ve Hayvancılık Müd	Mühendis
2012-2016	Akçakale İlçe Gıda, Tarım ve Hayvancılık Müd.	Mühendis
2016	Şanlıurfa İl Gıda,. Tarım ve Hayvancılık Müd	Mühendis

YABANCI DİLLER

İngilizce

UZMANLIK ALANI

Zootekni, genetik