

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ANADOLU MANDALARINDA PEROKSİZOM PROLİFERATÖR  
AKTİVE EDİCİ RESEPTÖR-KOAKTİVATÖR 1 ALFA  
(PPARGC1A) GENİNDEKİ POLİMORFİZMİN BELİRLENMESİ**

**Yasemin ALYÖRÜK**

**MEDİKAL BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**

**Doç. Dr. Metin ERDOĞAN**

**Bu tez Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 13.SAĞ.BİL.20 proje numarası ile desteklenmiştir.**

**Tez No: 2015 - 024**

**2015 – AFYONKARAHİSAR**

## KABUL ve ONAY

Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

### Medikal Biyoloji ve Genetik Programı


çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından

**Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 31 / 08 / 2015

Prof. Dr. Mustafa TEKERLİ  
Afyon Kocatepe Üniversitesi  
Jüri Başkanı

  
Prof. Dr. Cevdet UĞUZ  
Afyon Kocatepe Üniversitesi  
Üye

  
Doç. Dr. Metin ERDOĞAN  
Afyon Kocatepe Üniversitesi  
Üye

Medikal Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Yüksek Lisans Öğrencisi Yasemin ALYÖRÜK'ün "**Anadolu Mandalarında Peroksizom Proliferatör Aktive Edici Reseptör-Koaktivatör 1 Alfa (PPARGC1A) Genindeki Polimorfizmin Belirlenmesi**" başlıklı tezi 10 / 09 / 2015 günü saat 14.00'da Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

  
Prof. Dr. Abdullah ERYAVUZ  
Enstitü Müdürü

## ÖNSÖZ

İnsanlar hayatlarını devam ettirmek için bir takım besin maddelerine ihtiyaç duyarlar. Sağlıklı bir yaşam için bu besin maddelerinden belirli miktarlarda almak gerekmektedir. Yetişkin bir insanın günlük protein ihtiyacı yaklaşık 70 gramdır. Bu proteinin en azından yarısının hayvansal ürünlerden karşılanması gerekir. Çünkü hayvansal kaynaklı proteinlerde ekzogen aminoasitler dengeli olarak mevcuttur. Bunlardan süt başlıca sığır, koyun, keçi, mandadan, sağlanır ve protein en çok manda sütünde bulunmaktadır. Ayrıca manda sütü içeriğindeki diğer maddelerle de sığır, koyun ve keçi sütüne göre daha üstün konumdadır. Türkiye'nin hayvansal protein açığının fazla olması, manda yetiştiriciliğinin az yapılıyor olması ve manda sütüne yeterli önemin verilmemesi nedeniyle mandaların verimleri üzerine etkili olduğu düşünülen genlerin araştırılması ve bu bilgilerin seleksiyon çalışmalarında kullanılması Anadolu Mandalarında genetik ilerlemeye ivme kazandıracaktır.

Tez konumun belirlenmesinde fikir, destek ve onay veren, yüksek lisans eğitimim süresince engin bilgi ve tecrübelerini aktaran, bilimsel ve akademik konularda yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen, değerli tez danışman hocam Doç. Dr. Metin ERDOĞAN'a teşekkürü bir borç bilirim. Yüksek lisans ders dönemi süresince verdikleri zaman ve değerli bilgileri için Prof. Dr. Cevdet UĞUZ ve Doç. Dr. Mine DOSAY AKBULUT hocalarımın sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Laboratuvar çalışmalarımın yanı sıra yardımlarını ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen değerli arkadaşım Dr. Fahriye ZEMHERİ'ye sonsuz teşekkür ederim. Ayrıca, "Anadolu Mandalarının Halk Elinde Islahı" projesi kapsamında alınan kan örneklerinden yararlanmama izin verdiği için Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğüne sonsuz teşekkürü bir borç bilirim.

Ayrıca bu günlere gelmemde büyük emeği olan babam İmdat KOPARAL ve annem Saliha KOPARAL'a teşekkürü bir borç bilirim. Her türlü sıkıntıyı benimle paylaşan ve her zaman bana destek olan eşim M. Menderes ALYÖRÜK ve neşe kaynağım oğlum S. Miraç ALYÖRÜK'e teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 13.SAĞ.BİL.20 proje numarası ile desteklenmiştir.

# İÇİNDEKİLER

	Sayfa
<b>Kabul ve Onay</b> .....	<b>ii</b>
<b>Önsöz</b> .....	<b>iii</b>
<b>İçindekiler</b> .....	<b>iv</b>
Simgeler ve Kısaltmalar.....	vi
Şekiller.....	vii
Tablolar.....	viii
<b>1.GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
1.1. Manda Eti.....	3
1.2. Manda Sütü.....	3
1.3. Peroksizom Proliferatörleri ile Aktive Olan Reseptörler (PPAR).....	6
1.3.1. PPAR Aktivasyonu.....	6
1.3.2. PPAR İzofomları.....	8
1.3.2.1. PPAR Alfa ( $\alpha$ ).....	8
1.3.2.2. PPAR Beta ( $\beta/\delta$ ).....	8
1.3.2.3. PPAR Gamma ( $\gamma$ ).....	9
1.4. Peroksizom Proliferatör Aktive Edici Reseptör Gamma Koaktivatör 1 Alfa (PPARGC1A).....	10
1.5. Polimorfizm.....	11
1.5.1. DNA Polimorfizm.....	11
1.5.1.1. Tek Nükleotid Polimorfizmi (SNP).....	12
<b>2. GEREÇ VE YÖNTEM</b> .....	<b>15</b>
2.1. Materyal.....	15
2.1.1. Hayvan Materyali.....	15
2.1.2. Teknik Aletler.....	15
2.1.2.1. Mikropipet.....	15
2.1.2.2. Ultra Saf Su Cihazı.....	15
2.1.2.3. Güç Kaynağı.....	15

2.1.2.4. Yatay Elektroforez Sistemi.....	15
2.1.2.5. PCR Cihazı.....	16
2.1.2.6. Jel Görüntüleme Sistemi.....	16
2.1.2.7. Multiskan Go Microplate Spektrofotometre.....	16
2.1.2.8. DNA Dizileme Cihazı.....	16
2.2. Metot.....	16
2.2.1. Kanların Alınması Hazırlanması ve İşlenmesi.....	16
2.2.2. DNA İzolasyonu.....	17
2.2.3. Primer Tasarımı.....	17
2.2.4. PCR.....	17
2.2.5. Agaroz Jel Elektroforezi.....	18
2.2.6. DNA Dizileme Analizi.....	18
2.2.7. İstatistik Analizi.....	19
<b>3. BULGULAR.....</b>	<b>20</b>
<b>4. TARTIŞMA.....</b>	<b>22</b>
<b>5. SONUÇ.....</b>	<b>24</b>
<b>ÖZET.....</b>	<b>25</b>
<b>SUMMARY.....</b>	<b>26</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>27</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>33</b>

## SİMGELER VE KISALTMALAR

AFLP	Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizm
ATP	adenin three fosfat
dNTP	deoksinükleosid trifosfat
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
M	molar
MgCl <sub>2</sub>	magnezyum klorür
ml	mililitre
mM	milimolar
NaOAc	sodyum asetat
ng	nanogram
PGC-1	Peroksizom Proliferatör Aktive Edici Reseptör Gamma Koaktivatör 1
pmol	picomol
PPAR	Peroksizom Proliferatör Aktive Edici Reseptör
PPARGC1A	Peroksizom Proliferatör Aktive Edici Reseptör Gamma Koaktivatör 1 Alfa
PPRE	PPAR yanıt elemanı
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RAPD	Rastgele Arttırılmış Polimorfik DNA
RFLP	Restriksiyon Parçacık Uzunluk Polimorfizm
rpm	dakikadaki devir sayısı
RXR	Retinoik X reseptörü
SNP	Tek Nükleotid Polimorfizmi
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
TBE	Tris borate edta
µl	mikrolitre

## ŞEKİLLER

	Sayfa
Şekil 1.1. Manda ırklarına ait genel gruplandırma.....	2
Şekil 1.2. PPAR'ların gen transkripsiyon mekanizmaları.....	7
Şekil 1.3. Nükleer reseptörlerin yapısı.....	7
Şekil 3.1. PCR ürününü jel görüntüsü.....	20
Şekil 3.2. Farklı hayvan türlerinde PPARCC1A geninin 8.ekzonunun bir bölümündeki polimorfizm.....	21

## TABLolar

	Sayfa
Tablo 1.1. Manda'nın ( <i>Bubalus bubalis</i> ) bilimsel sınıflandırılması.....	2
Tablo.1.2. Manda Sütünün Diğer Sütlerle Karşılaştırılması.....	4
Tablo.1.3. Türkiye'de Manda Sütü Üretimi.....	5
Tablo.1.4. Türkiye'de Manda Sütünün Tüm Sütler İçindeki Payı.....	5
Tablo.1.5. PPAR izotiplerinin ligandları, dokudaki dağılımları ve İşlevleri.....	9
Tablo 3.1. PPARGC1A geninin 8. ekzonundaki allel frekansları ve heterozigotluk (Ho).....	21
Tablo 3. 2. Anadolu Mandalarında PPARCC1A geninin 8.ekzonunda daki fenotiplerin dağılımı.....	21



# 1. GİRİŞ

İnsanlığın beslenme yetersizliği ile karşı karşıya olduğu, günümüz dünyasının bilinen bir gerçeğidir (Nanda ve Nakao, 2003). İnsan nüfusundaki hızlı artışa rağmen, tarımsal ürünlerde azalma meydana gelmektedir. Aynı zamanda, gıda gereksiniminin karşılanmasında ucuz, çevre dostu organik ürünlere olan talepte de bir artış gözlenmektedir. Manda ve manda ürünleri bu açıdan üretici ve tüketicilere oldukça önemli bir seçenek sunmaktadır (Demiryürek, 2004).

Manda, doğa şartlarına ve hastalıklara karşı dayanıklılığı, yemden yararlanma gücünün yüksek olması, kalitesiz kaba yemleri dahi et ve süte dönüştürebilmesi ve yetiştirme giderlerinin düşük maliyetiyle yetiştiricilikte önemli bir yere sahiptir (Atasever ve Erdem, 2008). Manda, dünyada önemli ekonomik etkinliğe sahip çiftlik hayvanıdır (Anonim, 2007).

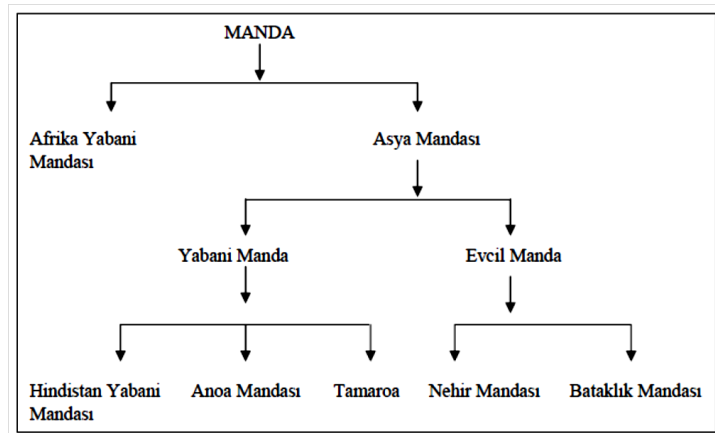
Manda günümüzden 5000 yıl önce evcilleştirilmiş (Anonim, 2007) ve günümüzde 40'a yakın ülkede yaygın bir şekilde yetiştiriciliği yapılmaktadır (Nanda ve Nakao, 2003). Fransa dışındaki tüm Akdeniz ülkelerinde, Güneydoğu Asya, Güney Amerika, Kuzey Afrika ile Avustralya, Balkan ülkeleri ve bazı Orta Avrupa ülkelerinde manda yetiştirildiğinin yapıldığı rapor edilmektedir (Anonim, 2007). Türkiye'de manda yetiştiriciliği genel olarak Karadeniz bölgesinde Düzce, Samsun ve Tokat'ta, Marmara Bölgesi'nde İstanbul ve Balıkesir'de, Doğu Anadolu'da Muş, Bitlis, Bingöl, Kars ve Sivas'ta, Güney Doğu Anadolu Bölgesi'nde Diyarbakır'da, Ege Bölgesi'nde ise Kütahya ve Afyonkarahisar'da yapılmaktadır (Atasever ve Erdem, 2008).

Mandanın (*Bubalus bubalis*) bilimsel sınıflandırılması Tablo 1.1'de, manda ırkları da Şekil 1.1'deki gibi gruplandırmaktadır (Anonim, 2007).

**Tablo 1.1.** Manda'nın (*Bubalus bubalis*) bilimsel sınıflandırılması (Anonim, 2007)

Alem	Animalia
Şube	Chordata
Sınıf	Mammalia
Takım	Artiodactyla
Familya	Bovidae
Alt Familya	Bovinae
Cins	<i>Bubalus</i>
Tür	<i>B. bubalis</i>

Manda, çift tırnaklı, geviş getiren sığır ailesinin bir üyesi olup, *Bubalus* familyasındandır. Asya mandaları (*bubalina*) ve Afrika mandaları (*synserina*) olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır (Anonim, 2007).



**Şekil 1.1.** Manda ırklarına ait genel gruplandırma (Ligda, 1998).

Asya mandaları yabani ve evcil olmak üzere iki farklı gruba ayrılmaktadır ve toplam 74 Asya manda ırkı bulunmaktadır. Evcil mandalar bataklık mandaları ve nehir (ırmak) mandaları olarak ikiye ayrılır. Genellikle bataklık mandaları yük hayvanları olarak, nehir mandaları ise eti ve sütü için yetiştirilmektedir (Anonim, 2007).

Türkiye’de yetiştirilen mandalar, nehir mandalarının bir alt grubu olan Akdeniz mandaları içerisinde yer almaktadır. Halk arasında dombay, camız, camış ve kömüş olarak da adlandırılmaktadır (Anonim, 2007).

### **1.1. Manda Eti**

Manda eti yağsız ve koyu renkte olması nedeni ile sucuk yapımında tercih edilmektedir (Şekerden, 2001). Mandalar sığır karkasına göre daha çok kas, daha az kemik ve yağ içermektedir (BSTID, 1981). Manda etinde sığır etine oranla daha az kolesterol (%40), yağ (%12) ve kalori (%55), daha fazla protein (%11) ve %10 mineral madde bulunmaktadır. Bu özelliğinden dolayı ABD ve Japonya’da manda etine olan talep artmaktadır (Küçükkebabçı ve Şahin, 2002). Manda eti kimyasal içeriği, besin değeri ve tadı bakımından sığır etine benzemektedir. Mandanın yağları beyaz, sığırın ise sarımsı renktedir (Anonim, 2012d). Son yıllarda sadece et üretimi için manda yetiştirenlerin oranı artmaktadır. Mandadan sağlanan et üretiminin artışı insan beslenmesine önemli ölçüde katkıda bulunabilir. Florida Üniversitesi bilim adamları mandayı “Amerika’nın gelecekteki çiftlik hayvanı” olarak tanımlamaktadır (Ziauddin ve Rao, 1991).

### **1.2. Manda Sütü**

Manda sütü yağ oranı bakımından en yüksek değere sahip sütler arasındadır. Bu nedenle, fizyolojik açıdan değerli bir süt olarak kabul edilmektedir. Özellikle tereyağı, lüle kaymağı ve yoğurt üretiminde kullanılmaktadır. Bazı ülkelerde manda sütünden peynir de yapılmaktadır (Metin, 2001; Üçüncü, 2004). Tamamıyla beyaz olan peyniri İtalya’da mozzarella adıyla ünlenmiştir. Irak’ta “gemir”, İtalya’da “rncoyain”, Mısır’da tuzlu peynir, Bulgaristan’da “pecorini” peyniri manda sütünden yapılmaktadır (Soysal, 2009). Manda sütü Hindistan, Pakistan, Mısır ve Nepal gibi bazı gelişmekte olan ülkelerde içme sütü olarak tüketilmektedir (Zicarelli 2004). Dünya süt üretiminin %5’i mandalardan elde edilmektedir. Yapısal olarak manda sütü inek sütüne göre daha az su, daha çok yağ, protein ve kalsiyum, demir, fosfor gibi mineral madde içermektedir (Soysal, 2006). Ayrıca, inek sütüne oranla

yağ miktarı iki kat yüksek olmasına rağmen kolesterol oranının inek daha düşük olduğu, bunun ise yağ globüllerinin çapının küçük olması dolayısıyla çoklu doymamış yağ asitlerince zengin olmasından kaynaklandığı bildirilmektedir (Zicarelli 2004). Çeşitli biyokoruyucu maddelerin (immunoglobulinler, laktoferrin, lizozim, laktoperoksidaz) manda sütünde daha fazla olması, özel diyetlerde ve sağlıklı gıda hazırlamada bu sütü inek sütüne göre daha üstün duruma getirmektedir (Anonim, 2012b). Manda sütü sadece lezzet yönünden değil, %58 daha fazla kalsiyum, %40 daha fazla protein, %43 daha az kolesterol içermesi gibi besleyici yönden de inek sütüne göre daha üstün olduğu ifade edilmektedir (Phill, 2005).

Türk Standartları Enstitüsü'ne göre manda sütü kendine has koku, tat, renk ve kıvamda olan ve mandadan sağılarak elde edilen süt olarak ifade edilmektedir (Anonim, 2012c). Yağ oranının ve kuru maddesinin daha fazla olması tereyağı ve süt tozu gibi üretimlerde verimi artırmaktadır. Ayrıca, manda sütünden üretilen peynir, yoğurt, süt tozu, dondurma ve kaymak gibi ürünler daha beyaz renklidir. Manda sütü kreması kahvede kullanmak için inek sütü kremasına göre daha uygundur (Anonim, 2012a). İçerdiği protein, yağ ve mineral madde ile ilişkili olarak manda sütünden elde edilen peynir ve yoğurt kendine has özellikler göstermektedir. Örneğin geleneksel İtalyan mozzarella ve Hindistan paneer peynirleri gibi ürünler en kaliteli olarak manda sütünden üretilmektedir (Verruma ve Salgado, 1993).

Manda sütünü, inek, koyun ve keçi gibi sütlerle karşılaştırdığımızda birçok özellik bakımından daha üstün olduğu Tablo 1.2'de görülmektedir.

**Tablo 1.2.** Manda Sütünün Diğer Sütlerle Karşılaştırılması (Küçükkebaççı ve Şahin, 2002)

<b>Maddeler</b>	<b>Manda</b>	<b>Sığır</b>	<b>Koyun</b>	<b>Keçi</b>
Su	82,20	87,50	82,70	86,60
Yağ	7,90	3,76	6,26	4,17
Protein	4,20	3,13	5,27	3,61
Laktoz	4,50	4,84	4,91	4,83
Kuru madde	17,80	12,50	17,30	13,40
Mineral	0,74	0,80	0,86	0,79

TÜİK verilerine göre Türkiye’de hem manda sütü üretimi hem de manda sütünün payı hayvan sayısının azalmasıyla düşmüş, son birkaç yıl da ise yükselmeye başlamıştır (Tablo 1.3 ve 1.4).

**Tablo 1.3.** Türkiye Manda Sütü Üretimi (TÜİK, 2012)

Yıllar	Manda Sayısı (Baş)	Sağlır Manda Sayısı (Baş)	Üretilen Süt (Ton)
2005	104.965	38.205	38.058
2006	100.516	36.353	36.358
2007	84.705	30.460	30.375
2008	86.927	31.440	31.422
2009	87.207	32.361	32.443

**Tablo 1.4.** Türkiye’de Manda Sütünün Tüm Sütler İçindeki Payı (TÜİK, 2012)

Yıllar	Toplam Süt Üretimi (Ton)	Manda Sütü Üretimi (Ton)	Manda Sütünün Payı (%)
1991	10.239.942	161.348	1,58
1995	10.601.552	114.534	1,08
2000	9.793.962	67.330	0,69
2005	11.107.897	38.058	0,34
2006	11.952.100	36.358	0,3
2007	12.329.789	30.375	0,25
2008	12.243.040	31.422	0,26
2009	12.542.186	32.443	0,26

Mandaların süt verimlerinin ırk, bakım-besleme, yaş, laktasyon ve kuruda kalma süresi gibi çeşitli faktörlere bağlı olduğu bilinmektedir. Manda ırkları arasındaki süt verimlerindeki farklılık genetik yapının incelenmesini önemli kılmaktadır. Bu nedenle, genetik polimorfizm çalışmaları yapılmaktadır. Bu amaçla ilk olarak 1990 yılında keşif edilen bir grup nükleer reseptörün, mitokondriyal ve ekstra-mitokondriyal lipid metabolizmasında fonksiyon gören genlerin transkripsiyonunun düzenlenmesinde rol oynadığı bilinmektedir (Kliwer ve ark 2001; Issemann ve Green, 1990). Peroksizom proliferatör aktive edici reseptörler

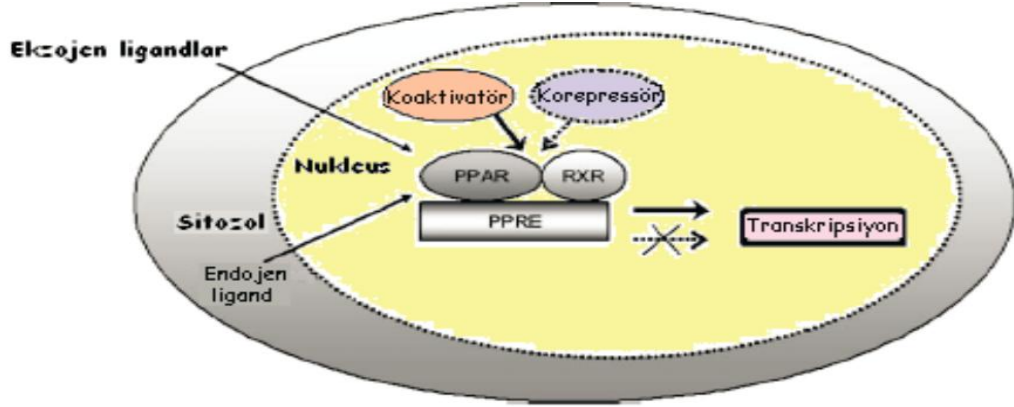
(PPAR) olarak adlandırılan bu reseptörler çok farklı biyolojik olaylarda fonksiyon görmekte olduğu, özellikle peroksizom proliferatör aktive edici reseptör koaktivatör 1 alfa (PPARGC1A)'nın süt verimi ve sütteki yağ miktarı üzerine etkili olduğu düşünülmektedir. Dolayısıyla PPARGC1A 'nın yüksek kalitedeki manda sütünün verimi ve sütteki yağ miktarı üzerine etkisinin incelenmesi önem arz etmektedir.

### **1.3. Peroksizom Proliferatörleri ile Aktive Olan Reseptörler (PPAR)**

Peroksizom Proliferatörleri ile Aktive olan Reseptörler (PPAR), nükleer reseptör ailesinin bir alt grubunu oluşturmaktadır. Hücre içinde lokalize olduğu, gen transkripsiyonunun düzenlenmesinden sorumlu olduğu bildirilmektedir (Kliwer ve ark. 2001). Yağ asidi ve karbonhidrat metabolizmasını düzenleyen, diyetel lipid sensörleridir. Ayrıca, aterosklerotik lezyonlarda yer alan hücrelerde PPAR'ların anti-enflamatuvar etkileri de tanımlanmıştır (Marx ve ark, 2004). İlk olarak 1990 yılında Issemann ve Green (1990) tarafından belirlenmiştir.

#### **1.3.1. PPAR Aktivasyonu**

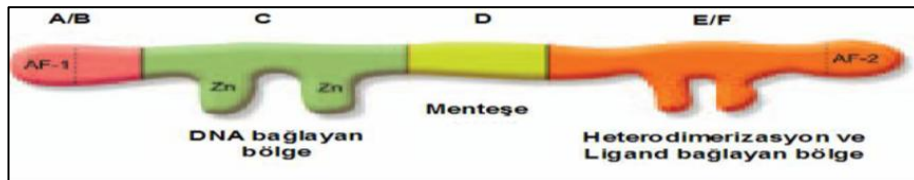
PPAR'lar Retinoik X reseptörü (RXR) ile heterodimer oluşturarak PPRE (PPAR yanıt elemanı) üzerinden DNA'ya bağlanmaktadır. Bu reseptörler özgül ligandlar ile aktive olmaktadır. Ligand hedef hücrenin zarında, sitoplazmasında veya nükleus zarında yer alan, reseptörlere bağlanarak istenen etkinin oluşmasını sağlayan maddeler olarak ifade edilmektedir. Kofaktörler (koaktivatör veya korepresör) nükleer reseptörlerin transkripsiyonu aktive etmesine veya baskılamasına aracılık etmektedirler. Böylece hedef genlerin transkripsiyonu gerçekleşmektedir (Şekil 1.2). Liganda bağlı olmadığı durumda PPAR anti-repressör kompleksi ile etkileşmekte, korepressörün deasetile durumunda aktivitesi gen transkripsiyonunu inhibe etmektedir. Ekzojen (ilaçlar) veya endojen (yağ asitleri, vb.) ligandlara bağlandığında PPAR RXR ile heterodimerize olmakta ve histon deasetilaz aktivitesini içeren koaktivatör yerleşerek çeşitli genlerin transkripsiyonunu kolaylaştırmaktadır (Kota ve ark., 2005).



**Şekil 1.2.** PPAR'ların gen transkripsiyon mekanizmaları (Kota ve ark., 2005).

PPRE dizisi AGGTCA<sub>n</sub>AGGTCA şeklinde direk tekrar (DR 1) motifinden oluşmaktadır. PPAR' lar bu nükleotid dizisinin 5' kısmına bağlanmaktadır. PPAR' lar, ligandları olmadığı durumda histon deasetilaz içeren kompleks (korepresör) ile etkileşim içindedir. Ligandları hücre çekirdeğinde mevcut olduğunda korepresör reseptörden ayrılırken, koaktivatör reseptöre bağlanmakta ve transkripsiyon gerçekleşmektedir. PPRE dizisi bütün PPAR izotipleri için aynıdır (Juge-Aubry ve ark, 1997). PPAR, nükleer reseptörlere yapısal olarak benzerlik göstermektedir (Ferre, 2004). PPAR'ın yapısal bölgeleri A'dan F' ye kadar adlandırılmıştır (Şekil 1.3). Burada,

- A/B:** Transaktivasyon/fosforilasyon bölgesi,
- C:** DNA' ya bağlanma bölgesi,
- D:** Yapısal değişiklikten sorumlu bölge ve
- E/F:** Ligandın bağlandığı dimerizasyon/transaktivasyon bölgesidir.



**Şekil 1.3:** Nükleer reseptörlerin yapısı (Friedmann ve ark, 2005)

### 1.3.2. PPAR İzofomları

Yapılan çalışmalarla farklı dokularda farklı PPAR tipleri olduğu ortaya çıkartılmıştır. Dreyer ve ark. (1992) PPAR $\alpha$ 'ya benzeyen PPAR $\beta$  (PPAR $\delta$ ) ve PPAR $\gamma$ 'yı klonlamışlardır. PPAR izotipleri xenopus, rat, sıçan, hamster ve insan olmak üzere omurgalılarda tanımlanmışlardır. İnsan PPAR $\alpha$  (NR1C1) geni 22. kromozomda yer almaktadır (Sher ve ark, 1993). PPAR $\beta$  (NR1C2) 6. kromozomda ve PPAR $\gamma$  (NR1C3) ise 3. kromozomda lokalize olmuştur (Beamer ve ark, 1997). PPAR'ların lipid ve lipoprotein metabolizması ile glukoz homeostazisindeki etkileri bilinmektedir. Bundan başka monosit-makrofaj farklılaşması, trombosit fonksiyonları ve inflamasyondaki rolleri nedeniyle ateroskleroz hastalığının patogenezinde çok etkin fonksiyonlara sahip oldukları belirtilmektedir (Lehmann ve ark, 1995).

PPAR izotiplerinin hangi durumlarda aktive oldukları, ligantları, dokulardaki dağılımı ve işlevleri Tablo 1.5' de gösterilmiştir (Kuenzli ve Saurat, 2003).

#### 1.3.2.1. PPAR Alfa ( $\alpha$ )

PPAR $\alpha$  özellikle karaciğer, kalp, böbrek, iskelet kası, ince barsak ve pankreas olmak üzere birçok dokuda düşük seviyede eksprese olmakla birlikte serbest yağ asidi oksidasyonunu, lipoprotein seviyesini ve inflamasyonu düzenleyen yaklaşık 100 genin ekspresyonunun kontrolünde görev almaktadır. Ayrıca, PPAR $\alpha$  agonisti fibratlar trigliserit yüksekliği ve düşük HDL seviyesi tedavisinde de kullanılmaktadır. (Ahmed ve ark, 2007).

#### 1.3.2.2. PPAR Beta ( $\beta/\delta$ )

PPAR $\beta/\delta$ 'nin birçok dokuda eksprese olması nedeniyle membran lipid metabolizması gibi temel hücresel fonksiyonlarda yer aldığı (Escher ve Wahli, 2000), ayrıca prenatal dönemde organogenezde de önemli rol oynadığı bilinmektedir (Kiec-Wilk ve ark, 2005). Lipid metabolizmasında, epidermal hücre



proliferasyonunda ve miyelinizasyonda etkin olup (Komar, 2005), kasta serbest yağ asidi oksidasyonunu arttırmaktadır (Semple ve ark, 2006). Lipid depolanmasında da görevi olabileceği ve çok düşük dansiteli lipoproteine (Very Low Density Lipoprotein, VLDL) cevap olarak makrofajlarda lipid birikmesine neden olduğu düşünülmektedir (Zieleniak ve ark, 2008). Ayrıca embriyonun implantasyonu ve yara iyileşmesinde de rol aldığı da gösterilmiştir (Komar, 2005).

**Tablo 1.5.** PPAR izotiplerinin dokuda dağılımları ve işlevleri

İzotipleri	Aktivite Durumu	Ligandları	Dokudaki Dağılımları	İşlevleri
PPAR alfa	Açlık	Yağ asitleri (Fibratlar)	Karaciğer Kahverengi Yağ dokusu İskelet kası Kalp Böbrek Enterositler	Peroksizom çoğalması (yalnızca kemirgenlerde) -Lipid katabolizması -İnflamasyonun kontrolü -Keratinosit farklılaşması ve çoğalması -Deride yara iyileşmesi
PPAR beta	Hareket	Proteinler Yağ asitleri	Kas Adipoz	-Kolesterol taşınımı -Hücre çoğalması ve apoptozis -Miyelinizasyon -Embriyo implantasyonu -Yağ hücresi farklılaşması -Deride yara iyileşmesi
PPAR gamma	Tokluk	Yağ asitleri (TZD ilaçları)	Yağ doku Kolon Makrofajlar Dalak Retina Hematopoietik hücreler	-Lipid anabolizması -Yağ hücresi farklılaşması -İnflamasyonun kontrolü -Makrofaj olgunlaşması -Embriyo implantasyonu -Antidiyabetik glitazonların moleküler hedefi

### 1.3.2.3. PPAR Gamma ( $\gamma$ )

PPAR $\gamma$  primer olarak adipositlerde, daha az oranda iskelet kası, karaciğer, kalp ve kalın bağırsakta eksprese olmaktadır (Escher ve Wahli, 2000; Komar, 2005). PPAR $\gamma$ 'nın adipoz hücre farklılaşması, lipid depolanması ve glukoz homeostazında görev alarak, bu olaylarla ilgili birçok genin transkripsiyonunu kontrol ettiği bilinmektedir. Makrofaj içindeki lipid dengesinin kontrolünden de sorumlu olduğu

belirtilmiştir. Yağ asidi taşıyıcısı CD36'nın düzeyini arttırarak lipidlerin hücre içine taşınmasını sağlarken, ATP-bağlayan kaset protein A1'i (ATP binding cassette protein A1, ABCA1) indükleyerek lipidin hücre dışına çıkarılmasına sebep olmaktadır (Ahmed ve ark, 2007).

PPAR $\gamma$ 'nın aminoasit sayısına göre iki izoformu tanımlanmıştır. Bunlar; PPAR $\gamma$ 1 ve PPAR $\gamma$ 2 izoformlarıdır. PPAR $\gamma$ 2'yi PPAR $\gamma$ 1'den farklı kılan özellik; PPAR $\gamma$ 2'nin amino ucunda ilaveten 28 aminosit bulunmasıdır (Zieleniak ve ark, 2008). PPAR $\gamma$ 1 izoformu adipoz doku, karaciğer, iskelet kası, prostat, böbrek, meme, bağırsak ve gonadlar gibi hemen hemen her dokuda eksprese olurken, PPAR $\gamma$ 2 izoformu adipoz dokuda eksprese olmakta ve adipoz doku diferensiyasyonunu düzenlemektedir (Sainis ve ark, 2008).

PPAR $\gamma$ 'nın kromozomal lokalizasyonu 3p25'te bulunmaktadır. PPAR $\gamma$  geni 9 ekzonlu olup, 100 kilobazdan fazla uzunluğa sahiptir. Farklı promotorlar ve alternatif kesip- ekleme mekanizmasıyla oluşan 4 ayrı PPAR $\gamma$  mRNA'sı tanımlanmıştır. Kesip-ekleme varyantlarından PPAR $\gamma$ 1,  $\gamma$ 3 ve  $\gamma$ 4 mRNA'ları PPAR $\gamma$ 1 izoformunu kodlarken, kesip-ekleme varyantı PPAR $\gamma$ 2 mRNA'sı ise PPAR $\gamma$ 2 izoformunu kodlamaktadır. PPAR $\gamma$ 1 8 ekzonla kodlanırken, PPAR $\gamma$ 2 7 ekzonla kodlanmaktadır. Hem PPAR $\gamma$ 1 hem de PPAR $\gamma$ 2'yi kodlayan bölgenin ilk 6 ekzonu ortaktır (Komar, 2005; Zieleniak ve ark, 2008).

#### **1.4. Peroksisom Proliferatör Aktive Edici Reseptör Gamma Koaktivatör 1 Alfa (PPARGC1A)**

Transkripsiyon faktörleri ile beraber çalışıp gen transkripsiyon hızını artıran proteinlere koaktivatör olarak ifade edilmektedir. Peroksisom Proliferatör Aktive Edici Reseptör Gamma Koaktivatör1 (PGC-1), ilk olarak PPAR $\gamma$ 'nın transkripsiyonel koaktivatörü olarak tanımlanmıştır (Knutti ve Kralli, 2001). Kahverengi yağ dokusu, karaciğer, kalp, böbrek ve beyin gibi mitokondriden zengin dokularda fazla miktarda eksprese olmakta ve metabolik ihtiyaçlarla gelen sinyaller doğrultusunda ekspresyonu artmaktadır. Özellikle, soğuğa maruz kalınması ile kas ve

kahverengi yağ dokusunda, açlıkta kalp dokusunda ve uzun fiziksel egzersiz sonrası kasta ekspresyonunda artış gözlenmektedir. PGC-1, diğer nükleer reseptörlerle etkileşimi ligand-bağımlı olmasına rağmen PPAR $\gamma$  ile ligand-bağımsız olarak etkileşmektedir. Mitokondride biyogenezis, oksidatif fosforilasyon ve yağ asitleri oksidasyonu enzimlerinin indüklenmesinde rol almaktadır (Puigserver ve ark, 1998). PGC-1, PPAR $\alpha$  ile ligand-bağımlı olarak etkileşmekte ve mitokondride yağ asidi oksidasyon enzimlerinin ekspresyonlarının arttırılmasında transkripsiyonel kontrolü sağlamaktadır (Knutti ve Kralli, 2001).

Peroksizom Proliferatör Aktive Edici Reseptör Gamma Koaktivatör 1 Alfa (PPARGC1A) genin, glikoz-yağ metabolizması ve enerji dengesindeki önemli rolünün yanı sıra insanlarda ve farelerde karaciğerdeki, adipoz ve kas dokusundaki metabolik işlemlerin düzenlenmesindeki etkisi süt ineklerindeki laktasyon süresi üzerine muhtemel etkisini gündeme getirmiştir. Bu yüzden, PPARGC1A geni, süt ineklerinde laktasyonun başlaması ve sürdürülmesinde metabolizma tarafından gereksinin duyulan potansiyel bir aracı olabileceği öne sürülmüştür (Weikard ve ark. 2005).

## **1.5. Polimorfizm**

Genetik polimorfizm en az iki allel tarafından meydana getirilen ve bir popülasyon içinde aynı zamanda farklı olarak ortaya çıkabilen özellikler olarak tarif edilebilir. Basit genetik polimorfizmin nedeni, genetik olayların oluşumundan sorumlu ve bir lokusta bulunan farklı allellerdir (Erdoğan, 2000). Polimorfizmler, organizmada patoloji yaratmayan mutasyonlar olarak da tanımlanabilir (Yiğitbaş, 2006). Toplumda %1'den daha yüksek sıklıkla bulunan genetik çeşitlilik ya da gen seçenekleri polimorfizm olarak adlandırılmaktadır (Ekmekçi ve ark., 2008).

### **1.5.1. DNA Polimorfizm**

Polimorfizm çalışmaları, rekombinant DNA teknolojisinin gelişmesi ve PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) 'nun keşfi sonucu moleküler teknikler ile daha hızlı

ve kesin sonuçlar vermektedir. Son yıllarda çeşitli moleküler teknikler (AFLP, RAPD, RFLP, mikrosatellitler, DNA dizileme analizi vb.) geliştirilmiştir (Kiraz, 2010).

#### **1.5.1.1. Tek Nükleotid Polimorfizmi (SNP)**

Tek nükleotid polimorfizmi (SNP), genomik veya mitokondriyal DNA'nın bir popülasyonun bireyleri arasında farklılık gösterdiği tek baz-çifti değişiklikleri olarak ifade edilmektedir. Gen polimorfizmleri popülasyonda yaygın olarak görülmekte, etnik ve coğrafi farklılıklar göstermektedirler. Birçok durumda hücre metabolizması için önemli olan DNA tamiri, hücre döngüsü kontrolü, sinyal iletimi gibi yollarda rol alan genler kritik roller üstlenmektedir. Bazı durumda genin kodladığı proteinin fonksiyonu ya da enzim aktivitesi bu değişikliklerden önemli ölçüde etkilenebilir (Deligezer ve ark., 2004).

Hücrel enerji metabolizmasının düzenleyicisi olan Peroksizom proliferatör aktive edici reseptör gama koaktivatör 1 alfa proteini, PPARGC1A (PGC-1A) geni tarafından kodlanmaktadır. PPARGC1A'nın bir çok nükleer hormon reseptörü aktivitesinde, termogenesisde transkripsiyonel faktörlerle, adipogenesis ve glikogenesis ile etkileştiği gösterilmiştir. (Handschin ve Spiegelman 2006; Liang ve Ward 2006; Liu ve Lin 2011). PPARGC1A geninde çeşitli polimorfizmler saptanmıştır.

İnsanlarda, PPARGC1A geninin obezite, diyabet ve kardiyomiyopati gibi hastalıkların oluşumunda rol aldığı görülmüştür (Liu ve Lin 2011). İnsanlar ve hayvanlar üzerine yapılan çalışmalar PPARGC1A geninin, yağ metabolizması üzerinde önemli bir rolü olduğunu ortaya koymaktadır. İnsan PPARGC1A genindeki bir Gly482Ser polimorfizminin tip 2 diyabet gelişimi için risk faktörü oluşturduğu (Kunej ve ark, 2004), ve insülin salınımını etkilediği gözlenmiştir (Müller ve ark, 2003).

Domuzlarda, PPARGC1A genindeki cys430ser polimorfizminin yağlı ve yağsız doku oluşumu ile ilişkili olduğu ve bununda et kalitesini etkileyen önemli faktörler arasında yer aldığı bildirilmiştir (Kunej ve ark, 2005). Bu polimorfizmin etçi sığırlarda büyüme ve kas kütle yoğunluğu üzerine bir etkisi olmadığı gözlenmiştir (White ve ark, 2007).

Farelerde yapılan çalışmalarda, bu geninin kas lif tipini tayin eden temel bir faktör olduğu sonucuna varılmıştır (Lin ve ark. 2002). Ayrıca, yapılan detaylı araştırmalar sonucunda PPARGC1A geninin kalp kasındaki damar oluşumunu düzenlediği ve kardiyak PPARGC1A eksikliği olan farede mikrovasküler yoğunluğu azalttığı bununda gebeliği kötü yönde etkilediği görülmüştür (Patten ve ark. 2012).

Wu ve ark. (2006) tavuklar üzerine yaptıkları çalışmada, PPARGC1A genindeki 646 A-T pozisyonundaki polimorfizmin abdominal yağ oranıyla ilişkisi olduğunu ancak büyümeyi etkilemediğini belirtmiştir. Daha sonra yapılan başka bir araştırmada ise bu SNP'nin tavuklardaki et kalitesi üzerine etkisi olduğu tespit edilmiştir (An ve ark., 2008).

Bu genin sığırlarda, süt özelliklerini (Weikard ve ark. 2005; Khatib ve ark. 2007; Komisarek ve Dorynek 2009; Kowalewska-Uczak ve ark. 2010), büyüme ve et kalitesini (Soria ve ark. 2009), süt yağ bileşimini (Schennink ve ark. 2009, Komisarek ve Dorynek 2009) etkileyen aday bir gen olabileceği öne sürülmüştür.

Sığırlarda PPARGC1A geni 6.kromozomda bulunmakta ve 13 ekzondan oluşmaktadır (Weikard ve ark. 2005). Bu gende birkaç polimorfizm tanımlanmıştır (Weikard ve ark. 2005; Schennink ve ark. 2009; Soria ve ark. 2009). PPARGC1A geninde intron 9 daki bir SNP nin süt sığırlarındaki süt yağı verimi ile ilişkili olduğu gözlenmiştir (Weikard ve ark. 2005; Schennink ve ark. 2009; Kowalewska-Uczak ve ark. 2010), bununla birlikte farklı sığır ırkları üzerine yapılan çalışmalar arasında bir uyum gözlenmemiştir (Khatib ve ark. 2007). Mitokondriyal biyogenezis ve enerji metabolizmasının düzenlenmesinde önemli rolü olduğu bilinen PPARGC1A'nın meme yağı sentezi ile de ilişkili olduğu belirtilmiştir (Liang ve Ward, 2006).

Laktasyon sürecinde, meme dokusunda mitokondri sayısının ve büyüklüğünün artması PPARGC1A genin artışı ile ilişkilendirilmiştir (Jones, 1974). PPARGC1A'nin ekzon 8 deki SNP'nin süt ineklerinde süt yağ kalitesi ile ilgili olduğu bilinmektedir (Weikard ve ark. 2005).

Mandalardaki PPARGC1A geninin süt verimi üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, mandalara özel yeni SNP'ler tanımlanmıştır. Bu SNP'lerin mandalardaki süt kalitesi ve üretiminde belirleyici olarak kullanılabileceğini belirtilmiştir (Javed ve ark. 2011). Mandalar ile yapılan bir diğer çalışmada da farklı türlerdeki, PPARGC1A geninin yapısal karşılaştırması sonucu küçük farklılıklara sahip oldukları gözlenmiştir. Farklı manda türlerindeki PPARGC1A geninin, gen ve protein diziliminde mutasyonlar görüldüğü ve bunun bağlanma bölgelerinde farklı etkiler oluşturduğu belirtilmiştir. Bağlanma bölgelerindeki bu değişimin, süt içeriğindeki farklılıklarla ilişkili olabileceği bildirilmiştir (Kumar ve ark. 2012).

Bu araştırma ile PPARGC1A geninin, glikoz-yağ metabolizması ve enerji dengesindeki önemli rolünün yanı sıra süt kalitesi ve süt veriminde aday gen olarak kullanılabilmesi nedeniyle Anadolu Mandalarındaki PPARGC1A geninin 8.ekzonundaki polimorfizmi belirlemek amaçlanmıştır.

## **2. GEREÇ ve YÖNTEM**

### **2.1. Materyal**

#### **2.1.1 Hayvan Materyali**

Bu araştırmada, Afyonkarahisar ilinde yetiştirilen ve Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Medikal Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı laboratuvarında bulunan ve Anadolu Mandalarının Halk Elinde Islahı projesi kapsamında alınmış 200 dişi malak kan örneği kullanılmıştır.

#### **2.1.2. Teknik Aletler**

##### **2.1.2.1. Mikropipet**

Tüm sulandırmalar ve uygulamalar için 0.5-10, 2-20, 10-100 ve 100-1000 µl'lere ayarlanabilen Eppendorf Research plus mikro pipetleri kullanılmıştır.

##### **2.1.2.2. Ultra Saf Su Cihazı**

Primerlerin, DNA'ların ve PCR reaksiyonları için gerekli olan ultra saf su Milli-Q Synthesis (MILLIPORE) cihazından sağlanmıştır.

##### **2.1.2.3. Güç Kaynağı**

Elektroforez çalışmasında Thermo 4000P programlanabilir güç kaynağı kullanılmıştır.

##### **2.1.2.4. Yatay Elektroforez Sistemi**

Elde edilen DNA'ların ve PCR ürünlerinin elektroforezde yürütölmeleri için Thermo midicell primo EC 320 ve EC 330 elektroforez jel sistemlerinden yararlanılmıştır.

#### **2.1.2.5. PCR Cihazı**

Uygun primerler kullanılarak istenilen DNA bölgelerinin çoğaltılması Applied biosystem Veriti 96-Well Thermal Cycler PCR cihazı ile gerçekleştirilmiştir.

#### **2.1.2.6. Jel Görüntüleme Sistemi**

DNA izolasyonu ve PCR sonucu elde edilen ürünlerin elektroforez sonucu görüntülenmesi amacıyla Vilber Lourmat BIO-VISION jel görüntüleme sistemi kullanılmıştır.

#### **2.1.2.7. Multiskan Go Microplate Spektrofotometre**

DNA'ların miktarını ve saflığını belirlemek için Multiskan Go µdrop Spektrofotometre (Thermo Scientific) kullanılmış ve 260/280 oranı 1,8 -1,9 arası değerler olan DNA'lar kullanılmıştır. Tüm DNA'lar 20 ng/µl olacak şekilde ayarlanmıştır.

#### **2.1.2.8. DNA Dizileme Cihazı**

PCR ile çoğaltılan DNA'lara ait baz dizilimlerini belirlemek için Applied Biosystem 3500 Genetic Analyzer cihazından yararlanılmıştır.

### **2.2. Metod**

#### **2.2.1. Kanların Alınması Hazırlanması ve İşlenmesi**

Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Medikal Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı laboratuvarında -20 °C'de derin dondurucuda saklanmış ve antikoagulanlı (EDTA) tüplere alınmış kan örnekleri araştırmada kullanılmıştır.



### 2.2.2. DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu, Boom ve ark. (1990)'nın yöntemi modifiye edilerek ve spin kolumn kullanılarak gerçekleştirilmiştir. 200 µl kan örnekleri 1.5 ml'lik eppendorf tüplere aktarıldı, üzerlerine 200 µl ekstraksiyon çözeltisi eklenerek 15 sn. kuvvetlice vortekslenip, 56°C'de 15 dk. etüvde bırakıldı. Daha sonra üzerlerine 250 µl etanol (96-100%) eklenerek 15 sn vortekslendi ve lizatlar spin kolumnlara aktarıldı. Ardından, 8.000 rpm'de 1dk santrifüj edilerek, alt kısmı döküldü. Daha sonra, spin kolumnların üzerine 500 µl yıkama solüsyonu I eklenip 8.000 rpm'de 1dk santrifüj edilerek, alt kısmı atıldı. Spin kolumnlara 500 µl yıkama solüsyonu II eklenerek 8.000 rpm'de 1dk santrifüj edildi ve bu aşama 2 kez tekrarlandı. Spin kolumn yeni tüplere aktarıldı ve 14.000 rpm'de 3 dk. santrifüj edilerek kurutuldu. Daha sonra spin kolumn yeni eppendorf tüplere aktarıldı ve üzerine 150 ml TE buffer (10mM Tris, 1 mM EDTA pH 8,0) solüsyonu eklenip, 5 dk oda sıcaklığında bekledikten sonra 8.000 rpm'de 1 dk santrifüj edildi.

### 2.2.3. Primer Tasarımı

Primerlerin tasarımında Fast PCR Professional 6.1.2 beta (Kalender ve ark., 2009) bilgisayar programı ve NCBI'dan elde edilen PPARGC1A gen dizinden (GU066311.1) yararlanılarak ileri (forward) primeri 5'-AGCTCCATGACTCCAGACAA-3' ile geri (revers) primerleri 5'-CAACAATCTCCTTAGTTCCGGGAA-3' elde edilmiştir.

### 2.2.4. PCR

Yapışma sıcaklığının belirlenmesi amacıyla gradient PCR uygulanmıştır. 16,75 µl ultra distile su, 2,5 µl 10xPCR, 2 µl MgCl, 0,5 µl dNTP, 0,5 µl forward, 0,5 µl reverse, 0,25 µl Platinum Taq polimeraz ve 2 µl DNA koyularak toplam hacim 25 µl

olacak şekilde PCR karışımı hazırlanmıştır. PCR cihazı, önce 94 °C'de 2 dk, sonra 94 °C'de 30 sn, 55-63 °C'de 30 sn ve 72 °C'de 1dk olacak şekilde 35 döngü, 72 °C'de 10 dk ve 4 °C 'de bekletilecek şekilde programlanmıştır.

Elde edilen PCR ürünleri (% 2'lik) agaroz jel de yürütülmüş, RedSafe ile boyanmış ve oluşan ışımalar değerlendirilmiştir.

### **2.2.5. Agaroz Jel Elektroforezi**

Agaroz jeli (% 2'lik) hazırlamak için 50 ml 1×TAE (Tris asetat EDTA) solüsyonu (Merck, 1.06023.1000) ve 1 g agaroz (Merck, 1.01236.0100) karıştırılıp, mikrodalga fırında eritildi ve içine 0,7 µl RedSafe boya solüsyonu (İntron Biotechnology, 21141) eklendi. Karışım içinde tarak bulunan elektforez jel tepsisine döküldü. Jelin katılaşması için 30 dk oda ısısında, 30 dk da 4 °C'de bekletildi. Daha sonra, jeldeki tarak uzaklaştırılarak elektforez tankına yerleştirilip üzeri 1XTAE solüsyonu ile dolduruldu. Her kuyucuğa 8 µl yükleme solüsyonu (6XTriTrack™ DNA Loading Dye, Thermo Scientific, R1161) ile 2 µl DNA veya PCR ürününden oluşan karışım eklenip, 90 V'ta 30 dk yürütüldü. Daha sonra DNA'lar veya PCR ürünü jel görüntüleme sistemiyle kontrol edildi. Işımanın olduğu bantlar pozitif, ışımamanın görülmediği bantlar ise negatif olarak değerlendirildi.

### **2.2.6. DNA Dizileme Analizi**

Her bir örneğe ait 5 µl PCR ürünü, 0,5 µl Ekzonükleaz I (Thermo, EN0581) ve 1 µl FastAP (Thermo, EF0654) olacak şekilde karıştırıldı. Bu karışım, 37°C'de 15 dk, 85°C'de 15 dk ve 4°C'de bekletildi.

DNA dizileme PCR için 13,0 µl 1xSequencing buffer, 1 µl BigDye, 5 µl F veya R primeri (1pmol) ve 1 µl ExoSAP ile temizlenmiş PCR ürünü karıştırıldı. Hazırlanan bu karışım PCR cihazına yüklendi ve PCR cihazı 96 °C'de 2 dk ve 96 °C'de 10 sn, 55 °C'de 15 sn ve 60 °C'de 4 dk 35 döngü olacak şekilde programlandı.

Sekans PCR ürünlerini temizlemede 96'lık pleyt için 125 örneklilik karışım hazırlandı. Pleytin kuyucuklarındaki sekans PCR ürünlerinin üzerine 50 µl etanol

(%96) ve 2 µl 3M sodyum asetat (NaOAc, pH 5,07) oluşan 52 µl karışımdan eklendi. Daha sonra pleyt sealing ile kaplanarak 10-15 sn hafifçe vortekslendi ve 40 dk -20 °C'de bekletildi. 30dk. Sonra +4 °C'de en yüksek devirde (4600 rpm) plate rotoru ile santrifüj edildi. Üsteki kaplama çıkartılıp pleyt peçete veya havlu üzerine ters çevirerek koyuldu ve +4 °C'de 700 rpm'de 1 dk santrifüj ederek pleyt içerisindeki fazla sıvı atıldı. Her bir kuyucuğa %70'lik etanolden 70 µL koyuldu ve üzeri sealing ile kaplanarak 15-20 sn kuvvetlice vortekslendi. Daha sonra 10 dk. +4 °C'de en yüksek devirde santrifüj edildi. Üsteki sealingi çıkarılıp pleyt peçete veya havlu üzerine ters çevirerek koyuldu, 700 rpm'de 1 dk +4 °C'de santrifüj ederek pleyt içerisindeki fazla sıvı atıldı. Etanol artığı kalmasını engellemek için pleyt oda sıcaklığında ve karanlık bir yerde 25-30 dk bekletildi. Sonrasında her örnek için 15 µL Hi-Di formamide eklendi. Pleyt sealing ile kaplanarak, kuvvetlice vortekslenip 1300 rpm'de santrifüj edildi ve sealing çıkarılarak septa ile kapatılıp cihaza yüklendi.

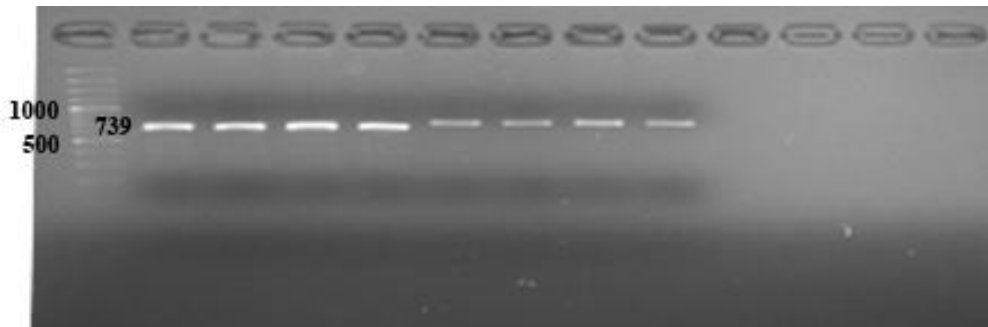
DNA dizileme cihazından alınan forward ve revers dizileri Sequencher 4.1.4 (GeneCode) bilgisayar programında hizalanarak düzenlendi. Daha sonra her bir örneğe ait sonuçlar BioEdit 7.2.0 bilgisayar programı (Hall 1999) yardımıyla değerlendirilip polimorfik bölgeler belirlendi.

### **2.2.7. İstatistik Analizi**

Çalışılan polimorfik lokuslarda gen frekanslarının ( $X_i$ ) hesaplanmasında allel (gen) sayma yöntemi (Nei, 1978 ve 1987) kullanılmış ve heterozigotluk ( $H_o$ ) yüzde olarak hesaplanmıştır. Beklenen ve gözlenen genotip frekansları  $\chi^2$  testi ile karşılaştırılmıştır. Analizlerde GENETIX Version 4.05.2 bilgisayar programından yararlanılmıştır.

### 3. BULGULAR

Dizayn edilen primerler için en iyi yapışma sıcaklığını belirlemek amacıyla yapılan gradient PCR'da en uygun yapışma (annealing) sıcaklığı 56 °C olarak belirlenmiştir. Yapılan PCR ile PPARGC1A gen bölgesinin 8. ekzonun ile 9. intronu arasındaki 739 bp büyüklüğündeki bölüm çoğaltılmıştır ve agaroz jel elektroforeziyle UV ışık altında görüntülenmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. PCR ürününü jel görüntüsü

Yapılan DNA dizilime analizi sonucu 739 bp'lik PCR ürünlerinin 650 bp'lik bölümü sadece 183 örnekte bir problemle karşılaşmaksızın okunabilmiştir. Örneklerden 17 tanesinde sonuç elde edilememiştir. PPARGC1A geninin 8.ekzona ait olan 526 bp lik kısmı değerlendirilmeye alınmıştır. Araştırmada kullanılan örneklerin PPARGC1A geninin 8.ekzonunda c.1598 A>T mutasyonu gözlenmiştir. Bu mutasyon protein sentezinde amino asit dizilişinde değişikliğe neden olmaktadır. DNA dizisindeki GAC kodonu Aspartik asiti (Asp), GTC kodonu ise Valin (Val) amino asitinin kodlanmasına neden olmaktadır. PPARGC1A geninin 8.ekzonundaki allel frekansları ve heterozigotluk indeksi Tablo 3.1'de verilmiştir. İncelenen mandaların PPARGC1A geninin c.1598 ninci bazında A allelinin frekansının, T alleli frekansına göre daha yüksek olduğu görülmektedir.

Yapılan ki-kare ( $\chi^2$ ) analiz sonucunda popülasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olmadığı gözlenmiştir (Tablo 3.2). Yani gözlenen ve beklenen değerler arasında farklar istatistiki açıdan önemli bulunmuştur ( $P<0,001$ ).

**Tablo 3.1.** PPARGC1A geninin 8. ekzonundaki allel frekansları ve heterozigotluk ( $H_0$ )

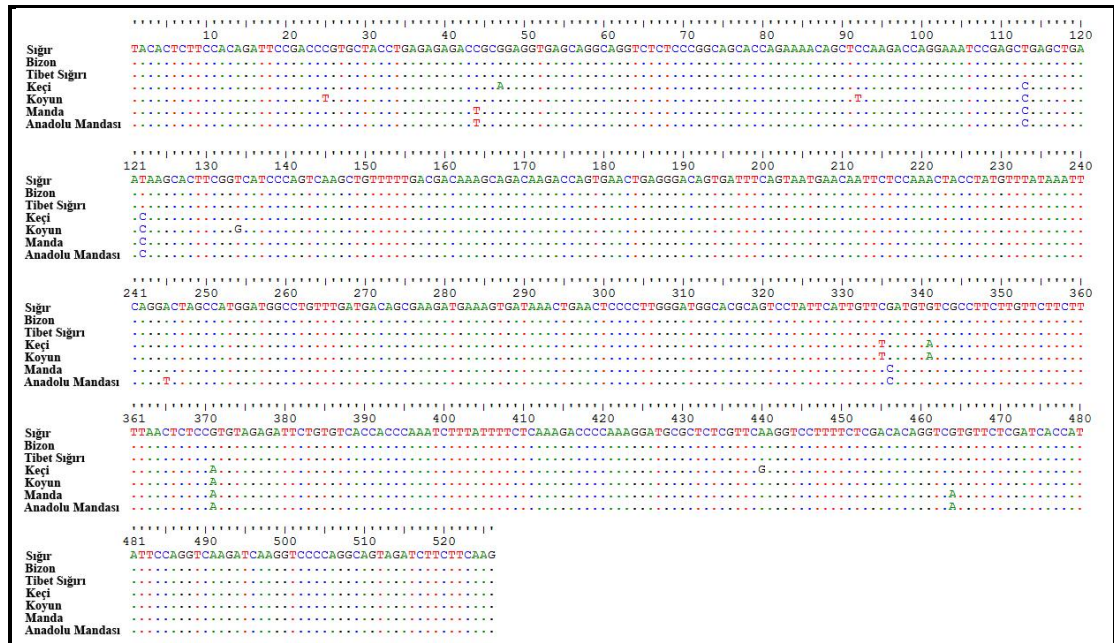
Allel	Frekans	$H_0$
A	0,768	24,59
T	0,232	

**Tablo 3.2.** Anadolu Mandalarında PPARCC1A geninin 8.ekzonunda daki fenotiplerin dağılımı

Genotip	Gözlenen	Beklenen
AA	118	107,9
AT	45	65,3
TT	20	9,9

\*\*\*P<0,001

Farklı hayvan türlerinde PPARCC1A geninin 8.ekzonunun bir bölümündeki polimorfizm Şekil 3.2’de verilmiştir. Farklı hayvan türlerinde incelenen gen bölgesinde polimorfizm olduğu görülmektedir.



**Şekil 3.2.** Farklı hayvan türlerinde PPARCC1A geninin 8.ekzonunun bir bölümündeki polimorfizm

#### 4. TARTIŞMA

Kromozomal pozisyonu, enerji, yağ ve glikoz metabolizmasındaki anahtar rolü nedeniyle PPARGC1A geninin süt verimi ve sütteki yağ miktarı üzerine etkili olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle, PPARGC1A geninin ineklerde laktasyonun başlaması ve sürdürülmesinde, süt kalitesi ve miktarında artışa, hızlı büyümede etkili aday bir gen olabileceği ifade edilmektedir.

Weikard ve ark. (2005), Alman Holştayn'larında PPARGC1A geninin intron 9 bölgesinde c.1892+19T>C mutasyonunu belirlemişler ve bunun süt miktarında artışa neden olduğunu ileri sürmüşlerdir. Khatib ve ark. (2007) ise Amerikan Holştayn'larında yaptıkları araştırmada aynı gen bölgesindeki SNP'nin süt verimini ve sütteki yağ oranını etkilemediğini ifade etmektedirler. Schennink ve ark.(2009) Alman Holştayn ırkı ineklerde yaptıkları çalışmada PPARGC1A genin intron 8 bölgesinde, süt kalitesi ile ilişkili olduğu düşünülen bir SNP'i (c.1790+514G>A) rapor edilmişlerdir.

Mandalarda PPARGC1A geni üzerine yapılan sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Javed ve ark. (2011), mandalarda PPARGC1A geni üzerine yaptıkları çalışmada, bu gende 6 adet SNP tanımlanmıştır. Bu mutasyonların intron 3'de C718T, ekzon 6'da A1844G, intron 6'da C1902T, ekzon 8'de G2382T, C2529T ve A2657G pozisyonlarında olduğunu belirlemişlerdir. Bu SNP'ler amino asit zincirinde değişikliğe neden olmakta, dolayısıyla protein yapısını ve fonksiyonunu değiştirmektedir. Bu nedenle, tespit edilen SNP lerin mandalardaki süt kalitesi, süt verimi ve süt yağı oranıyla ilişkili olabileceği bildirilmiştir.

Bu çalışmada, Afyonkarahisar koşullarında yetiştirilen olan 183 baş malağın PPARGC1A geninin 8.ekzonunun bir bölümündeki polimorfizmin incelenmiştir. Yapılan incelemeler sonucunda PPARGC1A geninin 8.ekzonunda c.1598 A>T mutasyonu belirlenmiştir. Bu mutasyonun Javed ve ark. (2011) belirledikleri mutasyondan farklı olduğu görülmektedir. Tespit edilen mutasyon amino asit

dizilişinde değişikliğe neden olduğu için mandalardaki süt veriminin, süt kalitesinin ve sütteki yağ miktarının belirlenmesinde etkili olabileceğini düşünülmektedir. Mandalarda ve diğer çiftlik hayvanlarında PPARGC1A geni ile ilişkili sınırlı sayıda araştırma olduğu için tartışılamamıştır.

## 5. SONUÇ

Peroksizom Proliferatör Aktive Edici Reseptör Gamma Koaktivatör 1 Alfa (PPARGC1A) geni, glikoz-yağ metabolizması ve enerji dengedeki önemli rolünün yanı sıra adipoz ve kas dokusundaki metabolik işlemlerin düzenlenmesinde de rol oynamaktadır. Bu nedenle, PPARGC1A geni ineklerde laktasyonun başlaması ve sürdürülmesi, süt kalitesi ve miktarı ile büyüme ve et kalitesiyle ilişkili aday bir gen olabileceği ifade edilmektedir.

Afyonkarahisar koşullarında yetiştirilen mandalarda PPARGC1A genindeki polimorfizmin belirlenmesi için amacıyla yapılan bu çalışma sonucunda genin 8. ekzonunda bir SNP (c.1598 A>T) belirlenmiştir. Bu SNP amino asit dizilimini etkilemekte, dolayısıyla protein yapı ve fonksiyonunun değişmesine neden olabilir. Anadolu Mandalarında belirlenen bu SNP'nin ve gendeki diğer SNP'lerin süt verimi, sütün kalitesi ve sütteki yağ miktarı üzerine etkisinin belirlenmesi mandalarda yapılan seleksiyon çalışmalarına katkı sağlayacaktır.



## ÖZET

### **Anadolu Mandalarında Peroksizom Proliferatör Aktive Edici Reseptör-Koaktivatör 1 Alfa (PPARGC1A) Genindeki Polimorfizmin Belirlenmesi**

Bu çalışmada Afyonkarahisar koşullarında yetiştirilen Anadolu mandalarında PPARGC1A genindeki polimorfizmin, süt verimi ve sütteki yağ oranı üzerine etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Araştırmada 200 mandadan alınan kan örnekleri kullanılmıştır.

Elde edilen sonuçlara göre PPARGC1A geninin 8. ekzonunda 1599A>T pozisyonunda SNP tespit edilmiştir. Bu polimorfizmin, protein amino asit dizilimini ve dolayısıyla protein sentezini ve protein fonksiyonunu etkileyeceği düşünülmektedir. Söz konusu olan durumun mandalardaki süt verimi ve sütteki yağ oranı ile ilişkili olabileceği tahmin edilmektedir.

Sonuç olarak, inekler üzerine yapılan araştırmalardan yararlanılarak PPARGC1A geninin süt verimi ve süt kalitesi ile ilgili olduğu bilinmektedir. Ancak mandalarda bu genle alakalı kısıtlı çalışma olması nedeniyle sonuçlarımızı destekleyecek güçlü belgeler bulunamamıştır. Mandaları konu alan bu ve benzer konularda çalışmaların arttırılması gerekmektedir.

**Anahtar kelimeler :** Kromozom, manda, polimorfizm, PPARGC1A, süt verimi.

## SUMMARY

### **Determination of the Polymorphism in the Peroxisome proliferator activated receptor coactivator-1 gene (PPARGC1A) in Anatolian Water Buffaloes**

The aim of this study is to investigate the PPARGC1A polymorphism in Anatolian water buffaloes, and determine the effect on milk yield and milk fat ratios. 200 blood samples were used for investigation.

According to the results of our study, one SNP located at the c.1599A>T on the 8. exon of PPARGC1A gene was found. It is supposed that, this polymorphism may impress protein synthesis and function via the change in amino acid sequencing. This polymorphism may affect the milk yield and fat ratio for buffaloes.

As a result, the relation of the PPARGC1A polymorphism and the milk quality is known from the previous dairy cattle studies. But, there is a limited research related with water buffaloes so it is hard to find clear evidences supporting our results. Further studies about the polymorphism encountered in the study would be useful in the water buffaloes.

**Anahtar kelimeler** : Chromosome, water buffalo, polymorphism, PPARGC1A, milk yield.

## KAYNAKLAR

- AHMED W, ZIOUZENKOVA O, BROWN J, DEVCHAND P, FRANCIS S, KADAKIAM.(2007). PPARs and their metabolic modulation: new mechanisms for transcription Regulation. J. Intern. Med., **262**: 184-189
- AN J. Y., CHEN L., HOU Z. C. , WU GQ (2008). The statistical analysis on the effect of the SNP in PGC-1 $\alpha$  on meat quality in White Plymouth Rock. Acta Vet. Zootechnica Sin. **39**: 715-720.
- ANONİM (2007). Dünya’da ve Türkiye’de Mandacılık. Erişim:[<http://web.ttnet.net.tr/kocatepe/Dunyada%20ve%20Turkiyede%20mandacilik.htm>] Erişim Tarihi: 04/03/2015.
- ANONİM (2012A). TKG Çiğ Süt ve Isıl İşlem Görmüş İçme Sütleri Tebliği. Tebliğ No: 2000/6. Erişim: [<http://www.gkgm.gov.tr/mevzuat/kodeks/2000-06.html> ], Erişim Tarihi:05/05/2015.
- ANONİM (2012B). Buffalo Milk and Cow Milk. Erişim: [[http://www.indiadairy.com/info\\_buffalo\\_milk\\_v.s.html](http://www.indiadairy.com/info_buffalo_milk_v.s.html)] ,Erişim Tarihi: 05/05/2015.
- ANONİM (2012C). Manda Sütü-Çiğ. Türk Standartları Enstitüsü, Ankara. Erişim: [<http://intweb.tse.org.tr/TSEIntWeb/Standard/Standard/StandardAra.aspx> (TS No: TS 11045)], Erişim Tarihi:05/05/2015.
- ANONİM (2012D). USDA, United States Department of Agriculture, 2012. Erişim: [<http://www.usda.gov/wps/portal/usda/usdahome>], Erişim Tarihi: 02/03/2015.
- ATASEVER, S., ERDEM, H. (2008). Manda yetiştiriciliği ve Türkiye’deki geleceği. OMÜ Ziraat Fak. Dergisi, **23(1)**:59-64.
- BEAMER, B.A., NEGRI, C., YEN, C.J., GAVRILOVA, O., RUMBERGER J.M., DURCAN M.J. (1997). Chromosomal localization and partial genomic structure of the human peroxisome proliferator activated receptor- $\alpha$  gene. Biochemical and Biophysical Research Communication, **233**, 756-759.
- BOOM R., SOL C.J., SALIMANS M.M., JANSEN C.L., WERTHEIM-VAN DILLEN P.M., VAN DER NOORDAA J. (1990). Rapid and simple method for purification of nucleic acids. J. Clin. Microbiol. **28**: 495-503.
- BSTID (1981). Board on Science and Technology for International Development. Report of and Ad Hoc Panel of the Advisory Committee on Technology Innovation. Board on Science and Technology for International Development, Commission on International Relations. 237-238.
- DELİGEZER, U., AKIŞIK, E.E., DALAY, N. (2004). Gen Polimorfizm Analizinde LightCycler Floresan PCR Tekniğinin Kullanılması. Türk Onkoloji Dergisi, **19,4**: 134-139.
- DEMİRYÜREK K. (2004). Dünya ve Türkiye’de Organik Tarım. Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, **8 (3/4)**: 63-71.

- DREYER C., KREY G., KELLER H., GIVEL F., HELFTENBEIN G., WAHLI W. (1992). Control of the peroxisomal beta-oxidation pathway by a novel family of nuclear hormone receptors. *Cell*, **68**: 879-887.
- EKMEKÇİ A., KONAÇ E., ÖNEN H.İ. (2008) Gen Polimorfizmi ve Kansere Yatkınlık. *Marmara Medikal Journal* **21(3)**: 282-295.
- ERDOĞAN M. (2000). Bazı Köpek Irklarında Kan Protein Polimorfizmi ve Irklar Arası Genetik Mesafelerin Tahmin Edilmesi. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Zootekni Anabilim Dalı, Doktora Tezi.
- ESCHER P., WAHLI W. (2000). Peroxisome proliferator-activated receptors: insight into multiple cellular functions. *Mutat Res* **448**: 121-138.
- FERRE P. (2004). The biology of peroxisome proliferator-activated receptors: relationship with lipid metabolism and insulin sensitivity. *Diabetes*. 53 Suppl **1**:S43-50.
- FRIEDMANN P.S., COOPER H.L., HEALY E. (2005). Peroxisome proliferator-activated receptors and their relevance to dermatology. *Acta Derm Venereol*; **85**: 194-202.
- HALL T.A. (1999). BioEdit: A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl. Acids. Symp. Ser.* **41**: 95-98.
- HANDSCHIN C., SPIEGELMAN B. M. (2006). Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1 coactivators, energy homeostasis, and metabolism *Endocr. Rev.* **27**: 728-735.
- ISSEMAN I., GREEN S. (1990). Activation of a member of the steroid hormone receptor superfamily by peroxisome proliferators. *Nature*. **18**:347(6294):645-50.
- JAVED R., GAUTAM S. K., VIJH AND R. K., TANTIA M. S. (2011). Six novel PCR- RFLP loci in milk quality candidate genes in *Bubalus bubalis*. *International Journal of Livestock Production* **2(6)**: 79-83.
- JONES D. H. (1974). The Mitochondria of the Mammary Parenchymal Cell in Relation to Pregnancy-Lactation Cycle. In *Lactation: a comprehensive treatise Volume 4*. Edited by: Larson BL, Smith VR. New York: Academic Press; 503-512.
- JUGE-AUBRY C., PERNIN A., FAVEZ, T., BURGER A.G., WAHLI W., MEIER C.A., DESVERGNE B. (1997). DNA binding properties of peroxisome proliferator-activated receptor subtypes on various natural peroxisome proliferator response elements. *Journal of Biological Chemistry*, **272**: 25252-25259.
- KALENDAR R., LEE D., SCHULMAN A.H. (2009). FastPCR Software for PCR Primer and Probe Design and Repeat Search. *Genes, Genomes and Genomics*, **3(1)**: 1-14.
- KHATIB H., ZAITOUN I., WIEBELHAUS-FINGER J., CHANG Y. M., ROSA G. J. (2007). The association of bovine *ppargc1a* and *opn* genes with milk composition in two independent Holstein cattle populations. *Journal of Dairy Science*, **90**: 2966-2670.

- KIEC-WILK B., DEMBINSKA-KIEC A., OLSZANECKA A., BODZIOCH M., KAWECKA-JASZCZ.(2005) The selected pathophysiological aspects of PPARs activation. *J Physiol Pharmacol* .**56**: 146-162.
- KIRAZ S., EKİNCİ M.S., ÖZKÖSE E., AKYOL İ. (2010). Genetik Polimorfizmin Belirlenmesinde Kullanılan Moleküler Teknikler. Erişim: [http://zootekni2007.yyu.edu.tr/pdfler/GEN9.pdf.] Erişim Tarihi: 02/03/2015.
- KLIEWER S.A., XU H.E., LAMBERT M.H., WILLSON T.M.( 2001). Peroxisome proliferator-activated receptors: from genes to physiology. *Recent Prog Horm Res.*;**56**:239-63.
- KNUTTI D., KRALLI A. (2001). PGC-1, a versatile coactivator. *Trends. Endocrinol. Metab.* **12**: 360-365.
- KOMAR C. M.(2005). Peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) and ovarian function - implications for regulating steroidogenesis, differentiation, and tissue remodeling. *Reprod Biol Endocrinol* **3**: 41.
- KOMISAREK J., DORYNEK Z.(2009). Effect of ABCG2, PPARGC1A, OLR1 and SCD1 gene polymorphism on estimated breeding values for functional and production traits in Polish Holstein-Friesian bulls. *J Appl Genet.* **50(2)**:125-132.
- KOTA B. P., HUANG T. H.-W, ROUFOGALIS B. D.(2005). An overview on biological mechanisms of PPARs. *Pharmacological Research* **51**:85 94.
- KOWALEWSKA-ŁUCZAK I., KULIG H.,KMIEĀ M. (2010). Associations between the bovine PPARGC1A gene and milk production traits. *Czech J. Anim. Sci.* **55**: 195-199.
- KÜÇÜKKEBAPÇI M., ŞAHİN M. (2002). Dünyada ve Türkiye’de Mandacılık Semineri. Kocatepe Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Afyon.
- KUENZLI S., SAURAT J. H. (2003). Peroxisome proliferator-activated receptors in cutaneous biology. *British Journal of Dermatology*, **149**: 229-236.
- KUMAR A., KUMAR R., BENIWAL V., KALA S.N., MISHRA A., RAUT A.A., NAIK P.K., CHHOKAR V. (2012) Molecular differentiation of Peroxisome proliferator-activated receptor coactivator-1 among different breeds of *Bubalus bubalis*. *Bioinformation.* **8(13)**:600-6.
- KUNEJ T., GLOBOCNIK PETROVIC M., DOVC P., PETERLIN B., PETROVIC D.(2004). A Gly482Ser polymorphism of the peroxisome proliferator-activated receptor-g coactivator-1 (PGC-1) gene is associated with type 2 diabetes in Caucasians. *Folia Biol.* **50**:157–8.
- KUNEJ T., WU X.L., BERLIC T.M., MICHAL J.J., JIANG Z., DOVC P.(2005) Frequency distribution of a Cys430ser polymorphism in peroxisome proliferators-activated receptorgamma coactivator-1 (PPARGC1A) gene sequence in Chinese and Western pig breeds. *J. Anim. Breed. Genet.* **122**:7–11.

- LEHMANN J.M., MOORE L.B., SMITH-OLIVER T.A., WILKISON W.O., WILLSON T.M., KLIEWER S.A. (1995). An antidiabetic thiazolidinedione is a high affinity ligand for peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ). *Journal of Biological Chemistry*, **270**: 12953–12956.
- LIANG H., WARD W.F. (2006). PGC-1alpha: a key regulator of energy metabolism. *Adv Physiol Educ*, **30(4)**:145-151.
- LIGDA D.J. (1998). *The Water Buffalo, New Prospects for an Under Utilized Animal Production* Naturel Academy.
- LIN J., WU H., TARR P. T., ZHANG C.-Y., WU Z., BOSS O., MICHAEL L. F., PUIGSERVER P., ISOTANI E., OLSON E. N., LOWELL B. B., BASSEL-DUBY R., SPIEGELMAN B. M. (2002). Transcriptional co-activator PGC-1-alpha drives the formation of slow-twitch muscle fibres. *Nature* **418**: 797-801.
- LIU C., LIN J. D. (2011). PGC-1 coactivators in the control of energy metabolism. *Acta Biochim. Biophys. Sin. (Shanghai)*.**43**: 248-257.
- MARX N., DUEZ H., FRUCHART J.C., STAELS B. (2004). Peroxisome proliferator-activated receptors and atherogenesis: regulators of gene expression in vascular cells. *Circ Res.*; **94**:1168-78.
- METİN M. (2001). Süt Teknolojisi, Sütün Bileşimi ve İşlenmesi. E.Ü. Mühendislik Fakültesi Yayınları No: 33. Ege Üni. Basımevi, 802 s., Bornova, İzmir.
- MULLER Y.L., BOGARDUS C., PEDERSEN O., BAIER L.(2003) A Gly482Ser missense mutation in the peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  coactivator-1 is associated with altered lipid oxidation and early insulin secretion in Pima Indians. *Diabetes* **52**:895–8.
- NANDA A. S., NAKAO T. (2003). Role of buffalo in the socioeconomic development of rural Asia: Current status and future prospectus. *Journal of Animal Science*, **74**: 443-455.
- NEI M. (1972). Genetic Distance Between Populations, *Am. Nat.*, **106**: 283-292.
- NEI M. (1987). *Molecular Evolutionary Genetics*, Columbia University Press, New York.
- PATTEN I. S., RANA S., SHAHUL S., ROWE G. C., JANG C., LIU L., HACKER M. R., RHEE J. S., MITCHELL J., MAHMOOD F., HESS P., FARRELL, C.(2012). Cardiac angiogenic imbalance leads to peripartum cardiomyopathy. *Nature* **485**: 333-338.
- PHILL L. (2005). Chai yogurt from water buffalo milk. *Gourmet Retailer*, **26(5)**:101-102.
- PUIGSERVER P., WU Z., PARK C.W., GRAVES R, WRIGHT M., SPIEGELMAN B.M.(1998) A cold-inducible coactivator of nuclear receptors linked to adaptive thermogenesis. *Cell*, **92**: 829-839.
- SAINIS I., VARELI K., KARAVASILIS V, BRIASOULIS E.(2008). PPAR  $\gamma$ : The Portrait of a Target Ally to Cancer Chemopreventive Agents. *PPAR Res* 2008; **2008**: 1- 10.

- SCHENNINK A., BOVENHUIS H., LEON-KLOOSTERZIEL K.M., ARENDONK M., VISKER W. (2009). Effect of polymorphisms in the FASN, OLR1, PPARGC1A, PRL and STAT5A genes on bovine milk-fat composition. *Anim. Genet.* **40**:909-916.
- ŞEKERDEN Ö. (2001). Büyükbaş Hayvan Yetiştirme (Manda Yetiştiriciliği) Kitabı, Temizyürek Ofset Matbaacılık, 296 s. Hatay.
- SEMPLE R. K, CHATTERJEE V. K, O'RAHILLY S.(2006). PPAR gamma and human metabolic disease. *J. Clin. Invest.* **116**: 581-589.
- SHER T., YI H.F., MCBRIDE O.W., GONZALEZ F.J. (1993). cDNA cloning, chromosomal mapping, and functional characterization of the human peroxisome proliferator activated receptor. *Biochemistry*, **32**: 5598-5604.
- SORIA L. A., CORVA P. M., BRANDA SICA A., VILLARREAL E. L., MELUCCI L. M., MEZZADRA C. A., PAPALEO MAZZUCCO J., FERNÁNDEZ MACEDO G., SILVESTRO C., SCHOR A.,MIQUEL M. C. (2009). Association of a novel polymorphism in the bovine PPARGC1A gene with growth, slaughter and meat quality traits in Brangus steers. *Mol. Cell. Probes* **23**: 304-308.
- SOYSAL İ. (2006). Manda ve Ürünleri Üretimi, Tekirdağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü, Ders Notları, Tekirdağ.
- SOYSAL M.İ. (2009). Manda ve Ürünleri Üretimi, 245 s., Tekirdağ.
- TÜİK (2012). Hayvansal Üretim İstatistikleri, Erişim: <http://www.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri> Erişim Tarihi: 04/02/2015.
- ÜÇÜNCÜ M. (2004). A'dan Z'ye Peynir Teknolojisi. Cilt II. Ege Üni. Mühendislik Fak. Gıda Müh. Bölümü, 1233 s., İzmir.
- VERRUMA M.R., SALGADO J.M. (1993). Nutritional evaluation of buffalo milk in relation to cow milk. *Scientia Agricola (Piracicaba, Braz.)*, **50(3)**:444-450.
- WEIKARD R., KÜHN C., GOLDAMMER T., FREYER G., SCHWERIN M. (2005). The bovine PPARGC1A gene: Molecular characterization and association of an SNP with variation of milk fat synthesis. *Physiological Genomics*, **21**: 1-13.
- WHITE S.N., CASAS E., ALLAN M.F., KEELE J.W., SNELLING W.M., WHEELER T.L., (2007). Evaluation in beef cattle of six deoxyribonucleic acid markers developed for dairy traits reveals an osteopontin polymorphism associates with postweaning growth. *J Anim. Sci.* **85**:1-10.
- WU G.Q., DENG X.M., LI J.Y., LI N. (2006). A potential molecular marker for selection against abdominal fatness in chickens. *Poult. Sci.* **85**: 1896-1899.
- YİĞİTBAŞ E. (2006). Türk Popülasyonunda Yüksek Razolusyon MHC Class-I Related Chain A (MICA) Genotipleme, HLA-B – MICA Haplotiplerinin İncelenmesi ve Yeni MICA Alellerinin Araştırılması. Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tümör Biyolojisi ve İmmünolojisi Programı, Doktora Tezi.

ZIAUDDIN K., RAO D.N. (1991). Buffalo a Potential Source of Meat Animal Livestock Adviser. Vol. **XVI**. Issue XII. Hutchinson.

ZICARELLI L. (2004). Buffalo milk: its properties, dairy yield on mozzarella production. Veterinary Research Communications, **28**: 127-135.

ZIELENIAK A., WÓJCIK M., WOŹNIAK L.A.(2008). Structure and physiological functions of the human peroxisome proliferator-activated receptor gamma. Arch Immunol. Ther. Exp. **56**: 331 -335.



## ÖZGEÇMİŞ

1985 yılında Muğla'nın Fethiye ilçesinde doğmuşum. İlk ve orta öğrenimimi Fethiye'de tamamladıktan sonra 2007 yılında Gazi Üniversitesi Kastamonu Sağlık Yüksek Okulu Hemşirelik Bölümünden mezun oldum. 2007 yılında, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde göreve başladım. Burada, 6 yıl boyunca kemik iliği transplantasyon servisinde hemşire olarak, ardından 2 yıl süresince hastane nöbetçi müdürü olarak (süpervizör) görev yaptım. 2014 yılından bu yana Kütahya Dumlupınar Üniversitesi'ne bağlı olan Evliya Çelebi Eğitim ve Araştırma Hastanesinde görev yapmaktayım. Orta derecede İngilizce biliyorum, evliyim ve bir çocuk annesiyim.