



ARAŞTIRMA MAKALESİ

Türkiye'deki bazı kedi ırklarının mitokondrial DNA D-Loop polimorfizminin araştırılması

Elif Yılmaz Şahin¹, Vahdettin Altunok^{1*}, Ercan Kurar²

¹Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, 42031,

²Necmettin Erbakan Üniversitesi, Meram Tıp Fakültesi,

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Konya, Türkiye

Geliş: 14.06.2016, Kabul: 24.08.2016

*valtunok@selcuk.edu.tr.

Öz

Yılmaz Şahin E, Altunok V, Kurar E. Türkiye'deki bazı kedi ırklarının mitokondrial DNA D-Loop polimorfizminin araştırılması.

Abstract

Yılmaz Sahin E, Altunok V, Kurar E. Investigation of genetic structure of various cat breeds by using D-Loop polymorphism in Turkey.

Eurasian J Vet Sci, 2016, 32, 4, 229-235

DOI: 10.15312/EurasianJVetSci.2016422393

Amaç: Bu çalışmada Van kedileri ile diğer bazı kedi ırklarındaki mitokondrial DNA (mtDNA) polimorfizmi ortaya koyulmuş, Van kedilerinde elde edilen mtDNA analiz sonuçları ile göz renkleri arasında filogenetik bir ilişkinin varlığı değerlendirilmiştir.

Aim: In this study, mitochondrial DNA (mtDNA) polymorphism between the Van cats and the other cat breeds is revealed. It is evaluated whether there is any relationship between the result of the mtDNA analyses obtained from Van cats and eye colours.

Gereç ve Yöntem: Çalışılan 65 adet kan örneğinde bölgenin polimorfik olması, literatür bilginin yetersizliği ve farklı yöntemler kullanılması neticesinde örnek sonuçlarından sağlıklı bilgi alınmadığı için çalışmada 39 adet kedinin (25 Van kedisi, 3 İran kedisi, 3 Tekir kedisi, 7 Siyam kedisi ve 1 Ankara kedisi) analiz sonuçları sunuldu. Bazı yayınlardan aldığımız ve kendi dizayn ettiğimiz 15 primer denenmiş, 6 iyi çalışan primer ile çalışma tamamlanmıştır. Polimeraz Zincir Reaksiyonu ürünleri (PZR) CEQ-8000 Beckman Coulter Genetik Analiz Sistemi kullanılarak kapiller elektroforez ile ayrıştırılmış sekans dizilimleri belirlenmiştir.

Materials and Methods: Although it is studied with 65 blood samples and different methods, polymorphic of the place and inadequate information of literature lead to unreliable sample results. For this reason, 39 analyses of cats (25 Van cats, 3 Iran cats 3 Tekir cats, 7 siyam cats and 1 Ankara cat) are presented. 15 primers which is designed by ourselves and gained by some publication are experimented. The study is completed with 6 good working primers. The products of Polymerase Chain Reaction (PCR) CEQ-8000 are determined by using the System of Genetic Analysis of Beckman Coulter and sequence of sequences resolved with capillary electrophoresis are determined.

Bulgular: Van Kedilerinin her biri kendi grubu içerisinde tek gözlülük/çift gözlülük durumlarına göre gruplar arasında istatistikî fark ($P<0.022$) tespit edildi. Elde edilen bu dizi analiz verilerine bakılarak Van kedilerinde %80.00 oranıyla tek gözlülük söylenebilir. MtDNA dizi analizinden seçilen 99 bç lik dar bir bölge değerlendirildi ve az sayıda örneğe rağmen elde edilen istatistikî fark değerlendirildi.

Results: Each of every Van cats were evaluated in their groups according to one eye or double eye and statistical differentiation was found ($P<0.022$) between groups. By looking at the data of analysis, one eye at the rate of 80.00% can be said in Van cats. In this study, the selection of 99 bç, a narrow location obtained from mtDNA sequence analysis is evaluated and in spite of a small number of samples the acquired statistical difference is significant.

Öneriler: Bu çalışmada anlamlı farklar bulunmuştur. Daha fazla numune ile daha geniş mtDNA D-Loop bölgesi çalışılmalıdır.

Conclusion: We found significant differences in this study. This should be study with more samples and a large mtDNA D-Loop region.

Anahtar kelimeler: mtDNA, Dizi analizi, Kedi, Van kedisi

Keywords: mtDNA, sequence analysis, cat, Van cat





Giriş

Kediler incelendiğinde 200'den fazla hastalığın insanlarla benzer olduğu gözlenmiştir. Bu bilgi bize hastalıklara neden olan genlerin tespitinde kolaylık sağlayabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca Türkiye eski yerleşim yerlerinden biridir ve göç yolları üzerine kurulmuştur. Bu oluşum genetik çeşitliliğin Anadolu'da ne kadar geniş olduğunu gösterir. Günümüzde birçok hayvanın mitokondrial DNA'sının dizi analizi yapılmıştır. Lopez ve ark (1996) kedi (*Felis catus*) mtDNA'sının 17.009 bp uzunluğunda olduğunu bulmuşlardır. mtDNA'nın sıkı yapısı (Lopez ve ark 1996, Zhu ve Yue 2008) hücre içerisinde çoklu kopyasının bulunması, hızlı evrim oranı ve rekombinasyonun görülmemesi, mtDNA'yı evrim, genetik farklılık ve türlerin saptanması için yaygın olarak kullanılan markerler haline getirmiştir (Zhu ve Yue 2008). mtDNA D-Loop dizisi, kontrol bölgesi olarak da bilinir, mtDNA'nın diğer bölgelerinden daha değişkendir (Jia ve ark 2007). mtDNA molekülünün en hızlı evrimleşen bölgesidir (Lopez ve ark 1997). Yakın türler ve alt türler arasındaki evrimsel yakınlığı tanımlamada yaygın olarak kullanılan bölgedir (Lopez ve ark 1997, Jae-Heup ve ark 2001).

Masuda ve ark (1994) Iromata kedilerinin (*Felis iriomontensis*) moleküler genetik yapıları, mitokondrial 12S ribozomal RNA geninin parsial dizileri ve sitokrom b geni üzerinde çalışmışlar ve Iriomota kedilerinin leopar kedilerle (*Felis bangelensis*) çok yakın ilişki içinde olduğunu ortaya koymuşlardır. Tamada ve ark (2005) Tsushima adalarından elde edilen 50 evcil kedinin (*Felis catus*) genetik farklılıklarını analiz etmişlerdir. Wu ve ark (2007) tarafından *Neofelis nebulosa*'nın mtDNA dizi analizi yapılmış ve sonuçları *Felis catus* ve *Acinonyx jubatus*'un mitokondrial DNA'ları ile karşılaştırılmıştır. *N. nebulosa*'nın birçok nadir özelliği bulunmuştur. Eizirik ve ark (1998) ocelot (*Leopardus pardalis*) ve margay (*L. wiedii*) türlerinin 3-5 milyon yıl önce Panama boğazından geçip Güney Amerika'ya göç eden bir soydan gelişen neotropikal kedilerin kardeş türlerinden olduklarını ileri sürmektedir.

Wei ve ark (2009) *Pantera uncia*'nın mitokondrial genomunun karakteristik yapısı *F. catus*, *Acinonyx jubatus*, *N. nebulosa* ve diğer memelilerle oldukça benzer olarak bulunmuştur. Bunun dışında *P. uncia*'nın mitokondrial genomunun birçok karakteristik özelliğini bulmuşlardır. Jae-Heup ve ark (2001) mitokondrial DNA kontrol bölgesinin yapısını ve çeşitliliklerini *Pantera* genusunun 5 türü içinde tanımlamışlardır. Evcil kedilerde gözlenen fakat diğer memelilerde gözlenmeyen, iki tekrardan oluşan dizi düzenini (80 bp şeklinde R2 ve 6-10 bp şeklinde RS-3) tanımlamışlardır. Mills ve ark (2000) tarafından Kanada lynx'lerinin dağılımını belirlemek için mikrosatellit DNA kullanımının türleri tanımlamada yetersiz kalacağı düşünüldükten sonra mtDNA tercih edilmiştir. Türkiye'deki bazı kedi ırklarının genetik yapılarının mikrosatellitlerle incelenmesinde (Eroğlu ve ark. 2015) 5 kedi ırkına (Van kedisi, Ankara kedisi, Siyam kedisi, İran kedisi, Tekir kedisi) ait mikrosatel-

Tablo 1. Çalışmada materyal olarak kullanılan kediler, ırkları ve kodları.

Kedi ırkları	Kodları
Siyam	S6SF
Siyam	S8SF
Tekir	T1SF
Tekir	T2SF
Van	V3SF
Van	V24SF
Tekir	T32F
Siyam	S5SF
İran	I32F
Van	V23SF
Siyam	S42F
İran	I4SF
Van	V21SF3
Van	V312F
Van	V14SF
Van	V13SF
Van	V28SF
İran	I1SF
Ankara	A1
Van	V15SF
Van	V25SF
Van	V4SF
Van	V10SF
Van	V12SF
Siyam	S1SF
Siyam	S2SF
Van	V22SF
Van	V18SF2
Van	V26SF
Van	V19SF
Van	V5SF
Van	V7SF
Siyam	S9SF
Van	V17SF
Van	V30SF
Van	V9SF
Van	V16SF
Van	V20SF2
Van	V6SF





Tablo 2. Çalışmada kullanılan primerler:

Primer	F/R	Dizi 5'→3'	Referans
Primer 1	F	ATGAATCGGTGGCCAACCTGT	Tamada ve ark 2005
	R	TGCATGACACCACAGTTATGTG	
Primer 2	F	CCCTCCCTAAGACTTCAAGGAAGA	Randi ve ark. 2001
	R	GGGGTGAGTTGGTGGTTAATAGAG	
Primer 3	F	CACGCGAACGCTTTAATTTAA	Wojciech ve ark. 2006
	R	TAGGCATTTTCAGTGCCTTGC	
Primer 4	F	TACACACGTATACACGCGAACGCT	Bu çalışma dizayn edildi.
	R1	GGCCAGGACCAAACCTTTGTGTTT	
	R2	GGTGGCTGGCACGAAATTTACCAA	
Primer 5	F	TAGCCCCACCATCAGCACCCAAAGC	Zhang ve ark. 2006
	R	AATGGGCCCGGAGCGAGAAGAGGTA	
Seq. Primer	F	GAAGCAACAGCCCCACTATC	Tamada ve ark. 2005
Primer 6	F	AACATCCGTTTCATCACCATCGGGC	Randi ve ark. 2001
	R	CGCACAGACAGTCAGGGTGCTATTC	
JHmt	F3	GATAGTGCTTAATCGTGC	Grahm ve ark. 2010
	R3	GTCTGTGGAACAATAGG	

lit markerleri kullanılarak genetik karakterizasyon çalışması yapılmıştır. FCA analizine göre İran, Siyam, Ankara ve Van kedileri birbirlerinden ayrı bölgelerde yoğunlaşmışlardır. Fakat Van, Ankara ve Tekir birbirine daha yakın bir konum almışken, Siyam ve İran kedilerinin daha uzak bir konumda toplandıkları gözlenmiştir. Altunok ve ark (2011) tarafından yapılan Van kedilerinde enzim elektroforezi analiz sonuçlarına göre Van kedilerinde polimorfizmin yüksek olduğu ve elde edilen sonuçlarla göz renkleri arasında bir ilişki tespit edilemediği bildirilmektedir.

Bu çalışmada, Van kedileri ile diğer bazı kedi ırklarındaki mtDNA polimorfizminin ortaya koyulması ve Van kedilerinde elde edilen mtDNA analiz sonuçları ile göz renkleri arasında herhangi bir ilişkinin olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Materyal olarak 35 Van kedisi, 5 İran kedisi, 10 Tekir kedisi, 9 Siyam kedisi ve 6 Ankara kedisi kullanıldı. Bölgenin çok polimorfik olması nedeniyle 39 (25 Van kedisi, 3 İran kedisi, 3 Tekir kedisi, 7 Siyam kedisi ve 1 Ankara kedisi) kedi örneğinden (Tablo 1) kaliteli analiz sonucu elde edildi. Çok farklı analiz yöntemleri denenmesine rağmen kaliteli sonuç alınmadığı için çalışmada 39 adet analizin sonucu sunuldu. Standart fenol/kloroform yöntemi kullanılarak kandan DNA izolasyonu yapıldı. Her bir örnek için 40 µL TP (150 µL 10x Taq Buffer, 90 µL MgCl₂, 3 µL her bir dNTP, 748 µL MQ, 37.5 ünite DNA Taq polimeraz (Fermantas), 0.8 µL her bir primer 8 µL DNA ve 11.2 µL MQ olmak üzere 60 µL karışım hazırlan-

dı ve PZR Termocycler cihazı (MJ Research PTC-200) ile 95°C 4 dk denatürasyon, 16 siklus 94°C 30 sn, 60-52°C (-0,5°C/siklus) 30 sn, 72°C 2 dk ve 30 siklus 94°C 30 sn, 52°C 30 dk, 72°C 2dk annealing ve 72°C 10 dk zincir uzatmasından sonra 4°C 'de bekletilerek DNA çoğaltıldı.

Çalışmada kullanılmak üzere çeşitli makalelerden 15 primer seçildi, fakat bu çalışmada istenilen bölgeyi en iyi çoğaltan 6 primer tercih edildi (Tablo 2). PZR ürünlerinin temizlenmesi için Gene Clean Turbo Kit kullanıldı (MP Biomedicals, LLC). Dizi analizi PZR'ı için DTCS (GenomeLab™ Quick Start Beckman Coulter) kiti kullanıldı. Elde edilen ürünler Beckman Coulter CEQ-8000 Genetik Analizör sistemine yüklenerek kapiller elektroforez işlemi uygulandı.

Verilerin istatistiksel değerlendirilmesi MEGA 4 (Tamura ve ark. 2007), BioEdit (Hall 1999) ve DnaSP (Librado ve Rozas 2007) paket programları kullanıldı.

Bulgular

Çalışılan kedilerden 16396-16494 bç aralığındaki 99 bç nükleotid dizisi, Lopez ve ark (1996) tarafından sunulan U20753 referans dizisinin ilgili bölgesinde belirtilen değerler ile karşılaştırıldı. Elde edilen veriler Tablo 3'de gösterildi. Analizi yapılan kedilerde, 10 polimorfik bölge belirlendi. Bu bölgenin 6 tanesi singletondur (16421, 16429, 16430, 16472, 16479 ve 16494). Sunulan çalışmaya göre kediler 8 haplotipten oluşmaktadır. Bu haplotiplerin farklılaşması 0.651 ± 0.048 olarak hesaplandı. Nükleotid farklılaşması Pi: 0.02519 ve nükleotid farklılaşmasının ortalaması k: 2.342 olarak



Tablo 3. D-loop bölgesinin 99 bç'lik bölgesinin referans dizisi (U20753) ile karşılaştırılması.

#REF	TTTCCCACAA	AAAAACCAAG	TAAAAACCCC	CAAACACCAC	-AACCCAAAA	CACACAATGT	AAAATCA-CT	CTATTAA-CC	AC-CAACTC-	ACCCC-AGG
#I1SFGT.....	-.....T...-
#I32FGT.....	-.....T...-
#I4SFGT.....	-.....T...-
#S1SFA...	..GT.....	-.....T...-A...C-
#S2SFA...	..GT.....	-.....T...-A...C-
#S42FGT.....	-.....T...-
#S5SFGT.....	-.....T...-
#S6SFGT.....	-.....T.A...C.....
#S8SFC...	..GT.....	-.....T.A...
#S9SFA...	..GT.....	-.....T...-A...C-
#T1SFA...	..GT.....	-.....T...-A...C-
#T2SFGT.....	-.....T...-CAC...
#T37FGT.....	-.....T...-
#A1-GT.....	-.....T...-
#V3SFA...	..GT.....	-.....T...-A...C-
#V4SFGT.....	-.....T...-
#V5SFA...	..GT.....	-.....T...-A...C-
#V6SFGT.....	-.....T...-
#V7SFA...	..GT.....	-.....T...-A...C-
#V9SFA...	..GT.....	-.....T...-A...C-
#V10SFA...	..GT.....	-.....T...-A...C-
#V12SFA...	..GT.....	-.....T...-A...C-
#V13SFGT.....	-.....T...-
#V14SFGT.....	-.....T...-
#V15SFGT.....	-.....T...-
#V16SFA...	..GT.....	-.....T...-A...C-
#V17SFA...	..GT.....	-.....T...-A...C-
#V18SF2A...	..GT.....	-.....T...-A...C-
#V19SFA...	..GT.....	-.....T...-A...C-
#V20SF2A...	..GT.....	-.....T...-A...C-
#V21SF3GT.....	-.....T...-
#V22SFA...	..GT.....	-.....T...-A...C-
#V23SFGT.....	-.....T...-
#V24SF3A...	..GT.....	-.....T...-C...C-
#V25SFGT.....	-.....T...-
#V26SFA...	..GT.....	-.....T...-A...C-
#V282FGT.....	-.....T...-
#V302FA...	..GT.....	-.....T...-A...C-
#V312FGT.....	-.....T...-

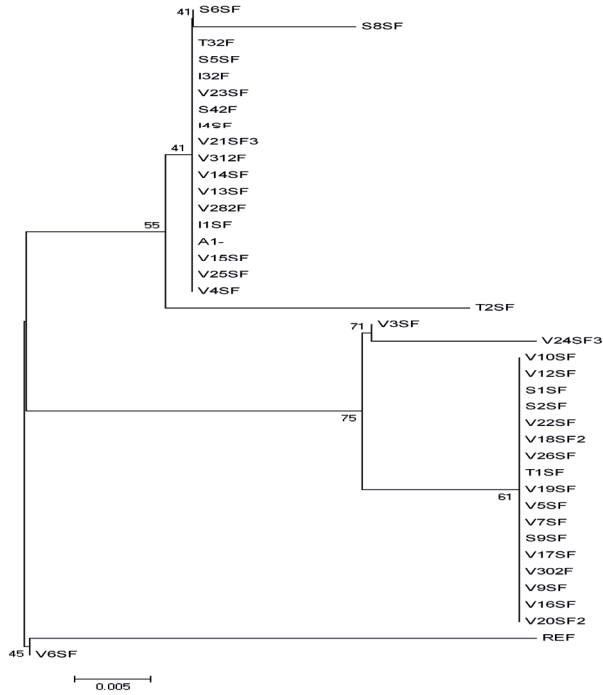
Tablo 4. Van Kedilerine ait mtDNA dizilerinin karşılaştırılması.

#REF	TTTCCCACAA	AAAAACCAAG	TAAAAACCCC	CAAACACCAC	-AACCCAAAA	CACACAATGT	AAAATCA-CT	CTATTAA-CC	AC-CAACTC-	ACCCC-AGG
#V3SFA...	..GT.....	-.....T...-A...C-
#V4SFGT.....	-.....T...-
#V5SFA...	..GT.....	-.....T...-A...C-
#V6SFGT.....	-.....T...-
#V7SFA...	..GT.....	-.....T...-A...C-
#V9SFA...	..GT.....	-.....T...-A...C-
#V10SFA...	..GT.....	-.....T...-A...C-
#V12SFA...	..GT.....	-.....T...-A...C-
#V13SFGT.....	-.....T...-
#V14SFGT.....	-.....T...-
#V15SFGT.....	-.....T...-
#V16SFA...	..GT.....	-.....T...-A...C-
#V17SFA...	..GT.....	-.....T...-A...C-
#V18SF2A...	..GT.....	-.....T...-A...C-
#V19SFA...	..GT.....	-.....T...-A...C-
#V20SF2A...	..GT.....	-.....T...-A...C-
#V21SF3GT.....	-.....T...-
#V22SFA...	..GT.....	-.....T...-A...C-
#V23SFGT.....	-.....T...-
#V24SF3A...	..GT.....	-.....T...-C...C-
#V25SFGT.....	-.....T...-
#V26SFA...	..GT.....	-.....T...-A...C-
#V282FGT.....	-.....T...-
#V302FA...	..GT.....	-.....T...-A...C-
#V312FGT.....	-.....T...-

bulundu. Tajima's D değeri -0.01100, Fu ve Li D istatistiği -2.008729, Fu's Fs değeri -0.230 olarak hesaplandı. Çalışmada kullanılan kedilerde BioEdit paket programı (Hall 1999) ile yapılan hizalama ile kendi içlerindeki farklılıklar gösteril-

di. Referans mtDNA dizisi (U20753) ile çalışmaya konu olan kedilerin mtDNA dizisi karşılaştırıldığında 16463. bç'de 2 siyam (S6SF ve S8SF kodlu) kedisinde A, 16473. bç'de bir tekir (T1SF kodlu) kedisinde A, 16478. bç'de 1 tekir (T2SF kodlu)





Şekil 1. Kedilerin filogenetik karşılaştırılmasını gösteren ağaç (Nei-Joining) (Kimura 2007).

kedisinde C ve 1 Van (V3SF kodlu) kedisinde A, 16484. bç'de 1 siyam (S6SF kodlu) kedisinde C insersiyonlarının, 16472. bç'de 1 Van (V24SF kodlu) kedisinde C, 16421. bç'de 1 siyam (S8SF kodlu) kedisinde C, 16480. bç'de 1 tekir (T2SF kodlu) kedisinde C polimorfizminin varlığı belirlendi ve bu bulguların diğer kedilerden farklı olduğu gözlemlendi. Van kedilerinde BioEdit (Hall 1999) paket programı ile yapılan hizalama ile kendi içlerindeki farklılıklar gösterildi. Bunun için Tablo 4 hazırlandı. Van kedileri kendi aralarında ve referans dizi ile karşılaştırılması sonucu tüm Van kedilerinde (bir tanesi hariç); 16472. bç'de A nükleotidi gözlemlenirken, bir Van (S24SF3 kodlu) kedisinde aynı baz çiftinde (16472 bç) ise C nükleotidi ve tek polimorfizm bu kedide tespit edildi. Tek farklı insersiyon (V3SF kodlu) kedisinde 16478. bç noktasında A nükleotidi olarak tespit edildi. Kedi ırkları arasındaki genetik ilişki ağacı (Nei-Joining) verilerine göre (Şekil 1) referansın üst kısmında olmak üzere Van kedilerinin ağırlıklı olarak 2 grupta toplandığı görüldü. Referansa göre en üst kısımda toplanan Van kedileri 1. Grup ve bu grubun altındaki diğer Van kedileri ise 2. Grup olarak değerlendirilmiş, her bir Van kedisinin tek gözlülük/çift gözlülük durumları esas alınarak yapılan ki-kare testi sonucuna göre gruplar arasında istatistiksel fark ($P < 0.022$) tespit edildi.

Tartışma

Bu çalışmada mtDNA 16396-16494 aralığındaki 99 bç nükleotid dizisi, Lopez ve ark (1996) tarafından sunulan U20753 giriş kodlu referans dizisinin ilgili bölgesinde belirtilen değerler ile karşılaştırılmıştır. Bu karşılaştırma sonucunda 16463. dizide 2 siyam (S6SF ve S8SF kodlu) kedisinde A, 16473. dizide 1 tekir (T1SF kodlu) kedisinde A, 16478. di-

zide 1 tekir (T2SF kodlu) kedisinde C ve 1 Van (V3SF kodlu) kedisinde A, 16484. dizide 1 siyam (S6SF kodlu) kedisinde C insersiyonlarının, 16472. nükleotid 1 Van (V24SF kodlu) kedisinde C, 16421. dizide 1 siyam (S8SF kodlu) kedisinde C, 16479. dizide 1 tekir (T2SF kodlu) kedisinde C polimorfizminin varlığı tespit edildi. Bu bulguların Lopez ve ark (1996) bulgularından farklı, bununla birlikte Tamada ve ark (2005) tarafından belirlenen 50 kedi verileri açısından 7 nükleotidde farklı ve 7 nükleotidde benzer olduğu belirlendi. Bu çalışmadaki kedilerde Tamada ve ark (2005)'nin verilerinde bulunmayan insersiyonların tespit edilmesi önemli bir bulgu olarak değerlendirilebilir.

Van kedisi dizileri incelendiğinde toplam 8 polimorfik bölge belirlenmiştir. Diğer oluşturulan gruplara bakıldığında kullanılan diğer kedi ırklarında (Siyam, Ankara, İran ve Tekir) 9 polimorfik bölge, haplogruplarda 7 polimorfik bölge belirlenmiştir. Gözlenen polimorfik bölgelerde Van kedilerinde 4 tanesi singletondur. Bu singletonlar Van kedilerinde 16429, 16430, 16472 ve 16494 nükleotidlerde bulunmuş, bu değerler diğer kedi ırklarında 16421, 16429, 16430, 16472 ve 16479 nükleotidlerde, haplogrup oluşturan Tsushima adası *Felis catus* cinslerinde ise 16429, 16430 ve 16494 nükleotidlerde bulunmuştur. 16429, 16430 ve 16494 nükleotidlerinde görülen farklılığın yapılan çalışmalarda ortak değer alması, genel olarak kedilerin ortak atasal verisi olabilir mi sorusunu akla getirmektedir. Çalışılan 25 Van kedisi örneğinde belirlenen bu 8 polimorfik bölge 6 (h) haplotipi oluşturmuştur. Haplotip farklılaşması 0.649 ± 0.067 olarak belirlenmiştir. Bu değerlere diğer gruplarda bakıldığı zaman Türkiye'de bulunan 3 İran, 7 Siyam, 3 Tekir ve 1 Ankara'dan oluşan grupta 9 polimorfik alanda 5 haplotip oluşturmuş, haplotip farklılaşmaları 0.676 ± 0.105 bulunmuştur. Tsushima adası kedilerinde 7 polimorfik alanda 5 haplotip oluşmuş, haplotip farklılaşması 0.723 ± 0.034 bulunmuştur. Van kedilerinde belirlenen yüksek polimorfizm, Altunok ve ark (2011) yaptıkları enzim elektroforezi çalışması sonucunda Van kedilerinde belirledikleri yüksek polimorfizm sonuçlarına benzerlik göstermektedir.

Tajima's D değeri Van kedilerinde 0.32602 ($P > 0.10$) olarak belirlenmiştir. Bu değerler diğer kedi ırklarında -0.42099, Tsushima evcil kedilerinde 0.854540 olarak bulunmuştur. Tajima's D değerinin negatif olması popülasyonun geçmişinde seçici süpürme (selective sweep) ya da popülasyon genişlemesi (population expansion) geçirmiş olabileceğini varsaymaktadır (Jobling ve ark 2004).

Fu ve Li D istatistik değeri Van kedilerinde -1.11002, diğer kedi ırklarında -0.95488, Tsushima evcil kedilerinde ise -1.10452 olarak hesaplanmıştır. Bu değerlerin negatif olması yine popülasyonun geçmişte bir popülasyon genişlemesi (population expansion) yada arkaplan seçilimine (background selection) maruz kalmış olabileceğini göstermektedir (Jobling ve ark 2004).



Yapılan analizlerde pozitif (0.611) Fu's Fs değeri tespit edilmiştir. Diğer kedi ırklarında 0.733, Tsushima evcil kedilerinde 2.223 olarak bulunmuştur. Bu değer in kedilerde negatif olması populasyonun geçmişte bir populasyon genişlemesi (population expansion) ya da genetik otostop (genetic hitchhiking) geçirmiş olabileceğini göstermektedir (Jobling ve ark 2004).

Tamada ve ark (2005) Gen Bankasında bulunan 10 haplotipi genel olarak değerlendirildiğinde Tsushima adasındaki kedilerin Tsushima leopar kedileri ile Van kedilerinin de büyük kedilerle crossbreed olmadığı yönünde ipuçları vermektedir.

Türkiye'deki bazı kedi ırklarının (Van, Siyam, Ankara, İran ve Tekir) mikrosatellit lokusları ile yapılan çalışmada (Eroğlu ve ark 2015), Van kedilerinde daha fazla özel alelin varlığı tespit edilmiştir. Bu çalışmada da Van kedilerinde diğer kedilerden farklı polimorfizm ve insersiyonlar bulunmuştur. Her iki çalışmada da Van kedilerinde farklılığın fazla olması bu ırkın diğer ırklardan ayırt edilebilir özellikleri olduğunu göstermektedir.

Kedi ırkları arasındaki genetik ilişkiye göre çizilen ağaç (Nei-Joining) verilerine göre Van kedilerinin ağırlıklı olarak 2 grupta toplandığı görülmüştür. Gruplardaki Van kedilerinin her biri kendi grubu içerisinde tek gözlülük/çift gözlülük durumlarına değerlendirilip, yapılan ki-kare testi sonucuna göre gruplar arasında istatistiksel fark ($P < 0.022$) tespit edilmiştir. Elde edilen bu dizi analiz verilerine bakılarak Van kedilerinde %80.00 oranıyla tek gözlülük söylenebilir. Az sayıda örnek ile dar bir bölgenin değerlendirilmesine rağmen, elde edilen istatistiksel veriler anlamlıdır. Ayrıca Altunok ve ark (2007) Van kedilerinin bazı kan serum elementleri (Ag, Al, As, B, Ba, Co, Cr, Cu, Fe, Ga, In, Li, Mn, Ni, Pb, S, Se, Sr, V ve Zn) düzeylerinin belirlendiği bir çalışmada, aldıkları sonuçları Van kedilerinde görülen farklı göz rengi grupları ile karşılaştırmışlar, Alüminyum, bakır, strontium, çinko ve mangan değerleri açısından mavi-mavi göz renkli kedilerin diğer göz renkli (mavi-sarı, sarı-mavi, sarı-sarı) kedilerden istatistiksel olarak farklı olduklarını ve lityum değeri açısından da mavi-mavi göz renkli kedilerin mavi-sarı göz renkli kedilerden istatistiksel olarak farklı olduklarını tespit etmişlerdir. Bu çalışma, Van kedilerinde göz rengi farklılıkları ile biyokimyasal parametreler arasındaki önemli istatistiksel farklılığın ortaya konulduğu ilk çalışma özelliğindedir. Dolayısı ile Van kedilerinde değişik göz rengine sahip gruplarda farklılık olduğu konusunda her iki çalışmanın birbirini destekler nitelikte olduğunu göstermektedir. Ayrıca, çalışılan Van kedilerinin mtDNA dizisi analizi verileri değerlendirildiğinde, sadece bir Van kedisinde (V3SF kodlu) A insersiyonu ilk kez ortaya konulmuştur. Bu kedinin göz rengine bakıldığında, yeşil-mavi gözlü olduğu belirlenmiştir. Van kedilerinde çift gözlülük sarı-sarı veya mavi-mavi, tek gözlülük ise sarı-mavi veya mavi-sarı şeklinde görülmektedir. A insersiyonu görülen Van kedisine, analizi yapılan kediler içerisinde tek yeşil-mavi gözlü

kedidir. Van kedilerinde çok nadir olarak rastlanan yeşil-mavi göz rengine sahip Van kedisinde belirlenen A insersiyonu oldukça dikkat çekici bir veridir.

Öneriler

Bu çalışma ile kedi ırkları karşılaştırılmış ve Van kedilerinde yüksek polimorfizm tespit edilmiştir. Yine bir kedide (Van kedisine) A insersiyonu ilk kez ortaya konulmuştur. Türkiye'ye ait bu genetik zenginliğin korunması ve göz renkleri ile genetik yapısı arasındaki ilişkilerin detaylı bir şekilde ortaya konulması için daha fazla numune ile daha geniş bir mtDNA D-Loop bölgesinin çalışılması yararlı olacaktır.

Teşekkür

Çalışma ilk yazarın yüksek lisans tezinden özetlenmiş ve Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından (SÜBAP 06202011) desteklenmiştir. Ayrıca bu çalışma ulusal kongrede (5. Ulusal veteriner biyokimya ve klinik biyokimya kongresi, Aydın 2011) poster olarak sunulmuş ve özeti yayınlanmıştır.

Kaynaklar

- Altunok V, Yüksek N, Berkman CC, Agaoglu ZT, Togan I, 2011. Genetic structure and variation of Van cats. *Biochem Genet*, 49, 511-522.
- Altunok, V, Yazar E, Yüksek N, 2007. Selected blood serum element in Van (Turkey) cats. *Acta Vet Brno*, 76, 171-177.
- Eizirik E, Bonatto SJ, Jhonson WE, Crawshaw PG, Vie JC, Brusset MD, O'Brien SJ, Salzano MF, 1998. Phylogeographic patterns and evolution of the mitochondrial DNA control region in two neotropical cats (mammalia, felidae). *J Mol Evol*, 47, 613- 624.
- Eroğlu T, Özsensoy Y, Kurar E, Altunok V, Nizamlıoğlu M, Yüksek N, 2015. Türkiye'deki bazı kedi ırklarının genetik yapılarının mikrosatellit markörler ile genetik karakterizasyonu. *J Cell Mol Biol*, 13, 16-25.
- Hall TA, 1999. BioEdit: A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl Acids Symp Ser*, 41, 95-98.
- Jae-Heup K, Eizirik E, O'Brien SJ, Johnson WE, 2001. Structure and patterns of sequence variation in the mitochondrial DNA control region of the great cats. *Mitochondrion*, 14, 279-292.
- Jia S, Chen H, Zhang G, Wang Z, Lei C, Yao R, Han X, 2007. Genetic variation of mitochondrial D-Loop region and evolution analysis in some Chinese cattle breeds. *J Genet Genomics*, 34, 510-518.
- Jobling MA, Tyler-Smith C, Hurler M, 2004. Human evolutionary genetics: Origins, peoples and disease. Garland Sci, Taylor Francis, NY, USA.
- Librado P, Rozas J, 2007. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinforma-*





- tics, 25, 1451-1452.
- Lopez J. V, Cevario S, O'Brien SJ, 1996. Complete nucleotide sequences of the domestic cat (*Felis catus*) mitochondrial genome and a transposed mtDNA tandem repeat (Numt) in the nuclear genome. *Genomics*, 33, 229-246.
- Lopez JV, Culver M, Stephens JC, Johnson WE, O'Brien SJ, 1997. Rates of nuclear and cytoplasmic mitochondrial DNA sequences divergence in mammals. *Mol Biol Evol*, 14, 277-286.
- Masuda RYMC, Shinyashiki F, Bando G, 1994. Molecular phylogenetic status of the Iriomote cat *felis iriomotensis*, inferred from mitochondrial DNA sequence analysis. *Zool Sci*, 11, 597- 604.
- Mills LS, Pilgrim KL, Schwatz MK, McKelvey K, 2000. Identifying lynx and other North American felids based on mtDNA analysis. *Conserv Genet*, 1, 285-288.
- Tamada T, Kurose N, Masuda R, 2005. Genetic diversity in domestic cat *Felis catus* of the Tsushima Island, based on mitochondrial DNA cytochrome b and control region nucleotide sequences. *Zoological Sci*, 22, 627-633.
- Tamura K, Dudley J, Nei M, Kumar S, 2007. MEGA4: Molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. *Mol Biol Evol*, 24, 1596-1599.
- Wei L, Wu X, Jiang Z, 2009. The complete mitochondrial genome structure of snow leopard *Panthera uncia*. *Mol Biol Rep*, 36, 871-878.
- Wu X, Zheng T, Jiang Z, Wei L, 2007. The mitochondrial genome structure of the clouded leopard (*Neofelis nebulosa*). *Genome*, 50, 252-257.
- Zhu ZY, Yue GH, 2008. The complete mitochondrial genome of red grouper *Plectropomus leopardus* and its applications in identification of grouper species. *Aquaculture*, 276, 44-49.