

**“Türkiye ve Pakistan Yerli Koyun Irklarında Prion Protein
Geni Polimorfizmleri Taranması”**

Proje No: 108O708

Prof. Dr. İnci Z. TOGAN
Prof. Dr. M. İhsan SOYSAL
Prof. Dr. Muhittin ÖZDER
Yrd. Doç. Dr. Emel ÖZKAN
Sevgin DEMİRCİ
Begüm UZUN

**MART 2012
ANKARA**

ÖNSÖZ

Final raporu sunulmakta olan bu projede prion protein genine ait bir bölge DNA dizilimi yapılarak çok sayıda yerli Türk koyun ırklarında taranmıştır. Bu bölgenin önemi koyunlarda ölümcül olan skrapi hastalığına yatkınlık (ya da dirençlilik) genotipleri sergilemesidir. Bulaşıcı olan skrapi bir taraftan koyun endüstrisine zarar verirken, diğer taraftan sığırlar aracılığı ile insanlarda da ölümcül bir hastalığın ortaya çıkmasına neden olabilmektedir. Bu nedenle hem insan sağlığına hem koyundan başka hayvan sağlığına da etki etmektedir.

Koyunlarda tek tek bu gen bölgesinin genotiplerinin bilinmesinin skrapiye dirençli sürüler elde ederek sağlık problemlerine çözüm getireceği, ekonomiye katkısı olacağı beklentisi dünyanın her yerinde koyunların gen açısından incelenmesine yol açmıştır. Söz konusu gen bölgesinin genotip dağılımı ile ilgili veriler çok zengindir. Proje taslağının sunulmasına kadar Türkiye'den olan yayınlar (2) proje esnasında da artmıştır (5). Zaman içinde: farklı skrapi soylarının farklı genotiplerle ilgili olabileceği; bazı ülkelerde skrapienin görülmemesinin olası nedenleri arasında sanılandan başka genotiplerin rol oynamakta olduğu ve bu gen bölgesinin işlevinin tam olarak bilinmemesi çalışmaların hızla devam etmesine neden olmaktadır. Proje sonuçları bir taraftan Türkiye'den ve Dünya'dan olan bilgilere katkıda bulunurken, bir taraftan da koyunun ilk evcilleştiği merkez (Güneydoğu Anadolu) civarından en yaygın (14 ırk) ve detaylı (655 sekans) olarak yeni bulgulara yol açacaktır kanısındayız.

Proje TÜBİTAK-MoST İşbirliği Programı çerçevesinde, Pakistan ile beraber yürütülmüştür ve 18 ayda tamamlanmıştır. Projenin ilk aşamalarında Pakistan'da yaşanan doğal felaketler iki ülke araştırmacılarının bir araya gelmesini engellediyse de projenin bitimine yakın (4-14 Ekim 2011) üst düzeyde yoğun bilgi alışverişi başlamıştır. Umuyoruz bu işbirliği kısa sürede özgün, ilginç sonuçlar içeren bir yayın olarak ilk ürününü verecektir. Yeni ortak projeler tasarlanmıştır, bu projeler aracılığıyla işbirliğinin devam edeceğine inanmaktayız.

Projeyi, TÜBİTAK-MoST İşbirliği Programı çerçevesinde desteklediği için Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu'na teşekkür ederiz. Bu süre içinde dikkatli ve yapıcı yönlendirmeleri için hakemlere ayrıca teşekkür etmek isteriz. Sunulan projede kullanılan koyun örneklerinin neredeyse tamamı bir başka TÜBİTAK projesi (kısa adı TÜRKHAYGEN-I) tarafından toplanmıştır. Bu örneklerin kullanılmasına izin verdiği için, proje yönetim kuruluna ve Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'na, deney aşamasında kısa bir süre bize yardımcı olan Yrd. Doç. Dr. Ebru GÖKALP ÖZKORKMAZ'a ve Güney Karaman ırkına ait örneklemede bizlere yardımcı olan Vet. Hek. Nejdet AKAY'a teşekkür ederiz.

Prof. Dr. İnci Togan

TÜBİTAK-MoST İkili Programı Projesi

Türk tarafı proje ekibi yürütücüsü

MART 2012

İÇİNDEKİLER	Sayfa
ÖNSÖZ	ii
İÇİNDEKİLER	iii
TABLolar LİSTESİ	v
ŞEKİLLER LİSTESİ	viii
KISALTMALAR LİSTESİ	x
ÖZET	xiii
ABSTRACT	xiv
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	4
2.1. Prion proteinleri ve Prion gen bölgesi	4
2.2. Koyunlarda Prion Hastalıkları	8
2.2.1. Klasik Skrapı	8
2.2.2. Atipik Skrapı	13
2.3. PrP Genotipleri açısından incelemeleri içeren yayınlardan bazıları	15
3. MATERYAL ve YÖNTEM	17
3.1. Hayvan materyali ve genomik DNA izolasyonu:	17
3.2. PrP gen bölgesine ait DNA bölgesinin yükseltgenmesi	20
3.2.1. PrP Gen Bölgesi'nin PZR ile Çoğaltılması (Babar ve ark., 2009 tarafından önerilen bölgeye göre yapılan çalışmalar), ortaya çıkan sorunlar ve yöntem değiştirilmesi	20
3.2.2. PrP Gen Bölgesi'nin PZR ile Çoğaltılması (Ün ve ark., 2008 tarafından önerilen bölgeye göre yapılan çalışmalar)	25
3.3. İstatistik Analizler	28
3.3.1. Irkları tanımlama istatistikleri	28
3.3.2. Irkların Genetik yakınlıklarının ölçümünde F_{ST} ve Çok Boyutlu Ölçekleme Analizi	29
3.3.3. Genetik Çeşitliliğin Dağılım Örgüleri Analizi	29
3.3.4. Nötralite testleri	30
3.3.5. Lojistik Regresyon Analizi	31

4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	32
4.1. DNA izolasyonu, PZR Uygulamaları ve Sekanslama.....	32
4.2. PrP Gen Bölgesi Gen ve Genotip Frekansları.....	32
4.2.1. Klasik Skrapı Gen Frekansları.....	34
4.2.2. Çalışılan Irklarda Örnekleme ve Önemi	43
4.2.3. Klasik Skrapı Genotip Frekansları	48
4.2.4. Atipik Skrapı Gen Frekansları.....	56
4.2.5. Atipik Skrapı Genotip Frekansları.....	60
4.2.6. PrP bölgesinin 136, 141, 154 ve 171. kodonların dışında kalan kodonlarına ait polimorfizmler.....	65
4.2.7. Ün ve ark. (2008)'nın kullandığı primer bölgesi için gözlenen mutasyonların dağılım modeli.....	68
4.2.7. PrP bölgesine bağlı olarak ırklar arasında gözlenen genetik farklar ve ırk benzerliklerinin görselleştirilmesi.....	69
4.2.7.1.F_{ST} ölçütüne göre ırklar arasındaki ikili genetik farklar.....	69
4.2.8. PrP Bölgesi Genetik Çeşitliliğinin Dağılım Örgüleri.....	77
4.2.9. PrP bölgesi üzerinde rol oynayan etmenlere açıklık getirmek için yapılmış çalışmalar.....	80
4.2.10. Skrapı genotiplerinin çevre etmenleri ve ırkların verim özellikleri ile ilişkisi.....	82
4.2.11. Gen Bankasında spermaları ve dokuları saklanan bireylerin kullanımı ile ilgili olarak öneriler.....	89
5. Çalışmanın Bütünleştirilmiş Sonuçları.....	91
KAYNAKLAR.....	96
EK1.....	113
EK2.....	120
EK3.....	140

TABLolar LİSTESİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
Tablo 2.1. İnsan ve Hayvanlarda Görülen Prion Hastalıkları.....	5
Tablo 2.2. Koyun, keçi, sığır ve insanda PrP geninin ekzon, intron ve ORF sıralarının bç olarak karşılaştırmalı uzunlukları.....	7
Tablo 2.2.1.1. Skrapı hastalığının ilk görüldüğü yıllar ve bazı ülkeler.....	9
Tablo 2.2.1.2. Koyunlarda 136, 154 ve 171. kodonlardaki polimorfizme göre kategorize edilen skrapı görülme risklerine ait gruplar	12
Tablo 2.2.2.1. Fransa'da yapılan bir çalışmada koyunlarda 136, 141, 154 ve 171. kodonlardaki polimorfizme göre kategorize edilen atipik skrapı görülme risklerine ait gruplar.....	14
Tablo 2.3.1. Dünya'da PrP lokusunun genetik yapısının çalışıldığı birçok ülkede yapılan yayınlardan çalışmada yararlanılmış olanlar.....	15
Tablo 3.1.1. Çalışılan koyun ırkları, ırkların kısaltılmış isimleri ve projede ırklara ait kullanılan birey sayıları	17
Tablo 3.2.1.1. Babar ve ark. (2009)'nın çalışmalarında kullandıkları primerler...	20
Tablo 3.2.1.2. Babar ve ark.(2009)'na göre PrP gen bölgesini PZR ile yükseltgemek için kullanılan reaksiyon bileşenleri	22
Tablo 3.2.1.3. PrP gen bölgesinin tek bir primer çifti ile yükseltgemek için laboratuvarımızda kullanılmış olan değiştirilmiş PZR yükseltgeme koşulları.....	22
Tablo 3.2.2.1. Ün ve ark.(2008)'nin çalışmasında kullandıkları primerler.....	25
Tablo 3.2.2.2. Ün ve ark. (2008)'nin çalışmasında kullandıkları PZR ile yükseltgenme bileşenleri.....	26
Tablo 3.2.2.3. PrP gen bölgesinin (745 bç) Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile yükseltgemesi için laboratuvarımızda kullanılan koşullar.....	26
Tablo 3.2.2.4. Kodonların aminoasit karşılıkları ve kısaltmaları.....	28
Tablo 3.3.3.1. Dünya Jeodetik (1984) sistemine göre ırkların lokasyon bilgileri..	30
Tablo 4.2.1. Türkiye koyun ırklarında 136, 141, 154 ve 171. kodonlarda görülen polimorfik nükleotidler ve kodonlara karşılık gelen aminoasitler.....	33
Tablo 4.2.1.1. PrP lokusundaki haplotip frekansları (klasik skrapı: 136, 154 ve 171. kodonlarına göre).....	35

Tablo 4.2.1.2. Farklı ülkelerde yapılan araştırmalarda elde edilen PrP lokusundaki klasik haplotip frekansları.....	40
Tablo 4.2.2.1. Akkaraman, Karayaka, Hemşin, Morkaraman İvesi ve Dağlıç koyun ırklarında yapılan çalışmalar ve sonuçları	44
Tablo 4.2.2.2. Gökçeada, Sakız ve Kıvırcık koyun ırklarında yapılan çalışmalar ve sonuçları	47
Tablo 4.2.3.1. Proje kapsamında çalışılan ırkların Hardy-Weinberg dengesinden sapma durumlarının F_{IS} ölçütü ile incelenmesi.	48
Tablo 4.2.3.2. Türkiye Koyun İrklarında Klasik Skrapi Genotip Frekansları ve Risk Gruplarına Dağılımı.....	51
Tablo 4.2.3.3. Proje kapsamında çalışılan bazı bireylerde 171. kodonda 2 nükleotidin varyasyon göstermesi halindeki olası genotipler.....	53
Tablo 4.2.3.4. CRK, MRG ve MAK genotiplerinin 171. İnci kodon ile ilgili olarak görüldüğü ırklar ve dağılımları.....	53
Tablo 4.2.4.1. PrP lokusundaki atipik skrapi haplotip allel frekansları (136, 141, 154 ve 171. kodona göre)	57
Tablo 4.2.4.2. Atipik skrapiye yönelik çalışmalar	58
Tablo 4.2.4.3. Farklı ülkelerde yapılan araştırmalarda elde edilen PrP lokusundaki Atipik Skrapi için haplotip frekansları.....	59
Tablo 4.2.5.1. Proje kapsamında çalışılan ırkların Hardy-Weinberg dengesinden sapma durumlarının F_{IS} ölçütü ile incelenmesi.	60
Tablo 4.2.5.2. Türkiye Koyun İrklarında Atipik Skrapi Genotip Frekansları ve Risk Gruplarına Dağılımı.....	62
Tablo 4.2.6.1. Türkiye yerli koyun ırklarında görülen polimorfizmler ve diğer çalışmalar ile karşılaştırılması.....	66
Tablo 4.2.6.1. Aminoasitlere ait kodonlarda gözlenen mutasyonların 248 kodonluk dizide 5'lik pencerelerde dağılımı.	69
Tablo 4.2.7.1.1. İrklar arası F_{st} genetik uzaklık değerleri.	70
Tablo 4.2.7.1.2. PrP gen sekanslarına göre hesaplanan ırklar arası F_{st} genetik uzaklık değerleri.	71
Tablo 4.2.9.1. Nükleotid dizileri kullanılarak hesaplanan Nötralite test sonuçları.....	80

Tablo 4.2.10.1. Lojistik Regresyon Analizinde kullanılan Ülke, Irk Sayısı ve Verim yönleri.....	83
Tablo 4.2.10.2. Lojistik regresyon modeline göre incelenen bağımlı ve bağımsız değişkenler.	84
Tablo 4.2.10.3. VRQ alleli frekanslarında görülen değişimin verim parametreleri ve çevre etmenleri ile ilişkisinin lojistik regresyon analizi ile irdelenmesi	85
Tablo 4.2.10.4. VRQ alleli frekanslarında görülen değişimin verim parametreleri ve yağmurla ilişkisinin lojistik regresyon analizi ile irdelenmesi.....	86
Tablo 4.2.10.5. Farklı ülke verilerinde (22 ülke) VRQ alleli frekanslarında logistik regresyon analizi sonuçları	87
Tablo 4.2.11.1. Klasik skrapi riskini azaltmak için kullanılması tavsiye edilen erkekler ve banka kodları.....	89
Tablo 4.2.11.2. Klasik skrapi riskini azaltmak için kullanılmaması tavsiye edilen dişiler ve banka kodları.....	90

ŞEKİLLER LİSTESİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. Koyunlarda Prion Protein Geninin Genomik Organizasyonu	8
Şekil 2.2.1.1 1938-1977 yılları arasında skrapinin İngiltere'den Dünyanın diğer bölgelerine yayılımı	9
Şekil 2.2.1.2. Skrapi hastalığına yakalanmış koyunlardan örnekler	10
Şekil 3.1.1. Proje kapsamında çalışılan koyun ırkları ve örneklerin toplandığı alanlar.....	18
Şekil 3.1.2. Güney Karaman Irkı Örneklemesi (Konya Bahri Dağdaş Uluslararası Araştırma Enstitüsü- Haziran 2011)	19
Şekil 3.1.3. Güney Karaman Irkı ikinci örneklemesi (Antalya – Manavgat 17-20 Kasım 2011)	19
Şekil 3.2.1.1. Babar ve ark.(2009)'nın ayrıca Ün ve ark.(2008)'nin kullandığı primerlerin PrP geni üzerindeki yeri.....	21
Şekil 3.2.1.2. Babar ve ark.(2009)'nin kullandığı primerin değiştirilmiş koşullar ile ve PZR'da yükseltgenmesi sonuçlarını gösteren jel görüntüsü	23
Şekil 3.2.1.3. Dağlıç ırkına ait 48 nolu örneğin genotipini (ALRQ/ALRQ) belirlemede kullanılan fenogram.....	24
Şekil 3.2.1.4. Babar ve ark.(2009)'nin kullandığı primer ile Ün ve ark.(2008)'nin kullandığı primerlerin PZR ile yükseltgenmesi sonuçlarını gösteren jel görüntüsü.....	24
Şekil 3.2.2.1. Ün ve ark.(2008)'nin kullandığı primerin PZR ile yükseltgenmesi sonuçlarını gösteren jel görüntüsü.....	27
Şekil 4.1.1. İzole edilen Güney Karaman ırkına ait bireylerin DNA'larının %0.8'lik jelde görünüşleri.....	32
Şekil 4.2.3.1. Dağlıç populasyonunda 171. kodonda 2 farklı nükleotidte heterozigot durumun görülmesine (MRG ve CRK genotipleri) örnek.....	52
Şekil 4.2.3.2. Klasik skrapi açısından genotiplerin İngiliz Ulusal Planına göre tanımlanmış risk seviyelerinin renklerle belirtilmesi	54
Şekil 4.2.3.3. İngiliz Ulusal Skrapi Planı (NSP) dikkate alınarak Türkiye yerli koyun ırklarının klasik skrapi risk seviyesinin dağılımı	55

Şekil 4.2.5.1. Atipik skrapi açısından genotiplerin tanımlanmış risk seviyelerinin renklerle belirtilmesi.....	63
Şekil 4.2.5.2. Farklı renkler ile belirtilen risk yelpazesine göre Türkiye'deki yerli ırkların atipik skrapi risk haritası.....	64
Şekil 4.2.7.1.1. Klasik skrapi frekanslarına göre çalışılan ırklar ve Çok Boyutlu Ölçekleme Analizi sonucunda ilk iki ekseninde sergiledikleri benzerlikler.....	72
Şekil 4.2.7.1.2. Klasik skrapi frekanslarına göre çalışılan ırklar ve Çok Boyutlu Ölçekleme Analizi sonucunda ilk iki ekseninde sergiledikleri benzerlikler.....	74
Şekil 4.2.7.1.3. Atipik skrapi frekanslarına göre çalışılan ırklar ve Çok Boyutlu Ölçekleme Analizi sonucunda ilk iki ekseninde sergiledikleri benzerlikler.....	75
Şekil 4.2.7.1.4. Atipik skrapi frekanslarına göre çalışılan ırklar ve Çok Boyutlu Ölçekleme Analizi sonucunda ilk iki ekseninde sergiledikleri benzerlikler.....	75
Şekil 4.2.7.1.5. Bölgenin sekanslarına göre çalışılan ırklar ve Çok Boyutlu Ölçekleme Analizi sonucunda ilk iki ekseninde sergiledikleri benzerlikler.....	76
Şekil 4.2.7.1.6. Bölgenin sekanslarına göre çalışılan ırklar ve Çok Boyutlu Ölçekleme Analizi sonucunda ilk iki ekseninde sergiledikleri benzerlikler.....	76
Şekil 4.2.8.1. Klasik skrapi ile ilgili kodonlara göre Türkiye'de gözlenen genetik dağılım örgülerini sergilemekte olan sentetik harita.....	78
Şekil 4.2.8.2. Atipik skrapi ile ilgili kodonlara göre Türkiye'de gözlenen genetik dağılım örgülerini sergilemekte olan sentetik harita.....	78
Şekil 4.2.8.3. PrP bölgesi sekanslarına göre Türkiye'de gözlenen genetik dağılım örgülerini sergilemekte olan sentetik harita.....	79

KISALTMALAR LİSTESİ

A:	Alanin
N:	Asparajin
D:	Aspartik asit
F:	Fenilalanin
G:	Glisin
E:	Glutamik asit
H:	Histidin
I:	İzolösin
K:	Lisin
L:	Lösin
M:	Metiyonin
P:	Prolin
R:	Arginin
S:	Serin
C:	Sistin
T:	Treonin
W:	Triptofan
Y:	Tirozin
Q:	Glutamin
V:	Valin
N:	Asparagin
P:	Prolin
AKK:	Akkaraman
ÇİÇ:	Çineçaparı
DAĞ:	Dağlıç
GÖK:	Gökçeada

GK:	Güney karaman
HEM:	Hemşin
HER:	Herik
İVE:	İvesi
KRG:	Karagül
KRY:	Karayaka
KIV:	Kıvırcık
MOR:	Morkaraman
NOR:	Norduz
SAK:	Sakız
PZR:	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
ORF:	Open Reading Frame (Açık Okuma Kalıbı - Aminoasitleri kodlayan ve proteinleri oluşturan kodonlar)
NSP:	National Scrapie Plan (İngiltere Ulusal Skrapı Planı)
FAO:	Food and Agriculture Organization (Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü)
PrP :	Protein related prion (Prion ile ilişkili Protein)
PrP^c:	Normal hücresel prion ile ilişkili protein
PrP^{Sc}:	Prion hastalıkları ile ilişkili patojenik prion ile ilişkili protein
Nor98:	Skrapinin tipik olmayan formu
MHC:	Major histocompatibility complex (hücre zarında bulunan doku uyumunu gösteren bir protein)
bç:	Baz çifti
µl:	Mikro litre
TÜRKHAYGEN-I:	Türkiye Yerli Evcil Hayvan Genetik Kaynaklarından Bazılarının InvitroKorunması ve Ön Moleküler Tanımlanması – I (TÜBİTAK Proje No: 106G005)
ECONOGENE:	Sustainable Conservation of Animal Genetic Resources in Marginal Rural Areas: Integrating Molecular Genetics Socio-economic and

Geostatistical Approaches

- TÜBİTAK:** Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu
- TSE:** Transmissible Spongiform Encephalopathy ([Bulaşıcı Süngerimsi Ensefalopati](#))
- TNP:** Tek Nükleotid Polimorfizmi (Single Nucleotid Polymorphism)

ÖZET

Koyun ve keçilerin inkübasyon süresi uzun, ölümcül, merkezi sinir sistemini etkileyen (nörodejeneratif) bir hastalığı olan skrapi; birçok memeli türünü etkileyen bulaşıcı süngerimsi ensefalopatilerden (Transmissible Spongiform Encephalopathy -TSE) yani prion protein hastalıklarından biridir. Koyunda üç ekzon ve iki introndan oluşan prion protein geninde üçüncü ekzon bölgesinde halen 50'den fazla nokta mutasyonu polimorfizmi (TNP) gözlenmiştir. Ancak, skrapiye direnç / hassasiyeti belirleyen prion protein gen bölgesindeki mutasyonların 136, 141, 154 ve 171. kodonlarına dayalı genotiplerin olduğu bildirilmektedir. Avrupa-Asya yelpazesinde birikmiş verilerin çoğunlukla Avrupa'dan olduğu dikkat çekicidir. Halbuki arkeolojik ve genetik veriler Orta Doğu'nun koyun evcilleştirme merkezi olduğunu göstermektedir. Ancak, yapılan çalışmalar incelendiğinde bu bölgeden verilerin daha sınırlı olduğu görülmektedir. Bu çalışmada, skrapi vakasının rapor edilmediği Türkiye yerli koyun ırklarında prion protein gen polimorfizminin 15 farklı popülasyonda incelemesi yapılmıştır. Çalışmada prion protein gen bölgesinin 3'üncü ekzon bölgesine ait 745 bç (baz çifti) uzunluğundaki bölgesi 655 bireyde sekanslanarak çalışılmıştır. Elde edilen veriler, Türkiye'de skrapiyi önlemeden sorumlu otoriteler, hayvan yetiştirme birlikleri ve üniversitelerin araştırma birimlerince kullanılması açısından yararlıdır. Ayrıca veriler, Dünya'daki PrP protein polimorfizm verilerinin coğrafi dağılımındaki büyük boşluğu önemli ölçüde doldurmuştur. Çalışmada elde edilen detaylı veriler fonksiyonu tam olarak bilinmeyen PrP protein bölgesinin hangi evrimsel güçler etkisinde olabileceği ile ilgili bilgilere katkılarda bulunmaktadır.

Anahtar kelimeler: yerli koyun ırkları, skrapi, prion protein geni, polimorfizm, nötralite testleri, evrimsel etmenler

ABSTRACT

Scrapie is an infectious fatal disease of sheep and it is a member of Transmissible Spongiform Encephalopathies (TSE) (or a prion disease) and affects the central nervous system. Susceptibility to scrapie is associated with polymorphisms in sheep prion protein (PrP) gene, based on their genotypes at codons 136, 141, 154 and 171. In Europe-Asia spectrum, accumulated data is mostly from Europe. Whereas, archeological and genetic evidences indicated that Middle East is the heart of sheep domestication and all of the sheep breeds must have went out from this region. Yet, data from this region is preliminary. The main purpose of the study is to collect an extensive data, covering 14 breeds 15 different populations represented by 655 individuals where each of which are sequenced for 745 base pairs of PrP 3rd exon region. It will be a data where individuals were from Turkey from which scrapie incidence was not reported.

This data is important and useful for the authorities responsible from the risk management of scrapie in Turkey, for animal breeders association and for research units of universities. At the same time, it will, considerably, fill the big gap which is present in the data of geographic distribution of PrP polymorphisms in the world. The detailed data obtained by the study will contribute to the understanding of evolutionary mechanisms operating on the PrP gene of which the function is unknown.

Keywords: native sheep breeds, scrapie, prion protein gene, polymorphism, neutrality tests, evolutionary mechanisms.

1. GİRİŞ

Skrapi, koyun ve keçilerde merkezi sinir sistemini etkileyen ölümcül bir hastalıktır. Hastalanan bireylerde hastalığın oluşumu prion proteini (PrP)'nin, merkezi sinir sisteminde, normalde gözlenmeyen bir izoformunun birikmesi ile ilişkilendirilmiştir. Skrapi, koyunlarda önce verim azalması sonra yarattığı ölümlerle ekonomik kayba sebep olduğu gibi, skrapili koyun dokularının hayvan yemine karışması durumunda sığırlarda da ölümcül deli dana (Bovine Spongiform Encephalopathy, BSE) hastalığının oluşmasına ve onlardan da insanlara oral yolla bulaşarak yine ölümcül prion hastalığı olan Creutzfeld-Jacob hastalığı varyantı (vCJD)'nin ortaya çıkmasına neden olabilmektedir (Collinge, 2001).

Koyunda 13. kromozom üzerinde yer alan prion proteininin üç ekzon ve iki introndan oluşan 256 aminoasit uzunluğunda olan PrP'i kodlayan genin üçüncü ekzonunda halen 35 farklı kodonda 50'den fazla nokta mutasyonu (TNP) gözlenmiş bulunmaktadır (Alvarez ve ark., 2011). Ancak, koyun endüstrisini, insan ve hayvan sağlığını özellikle ilgilendirdiğine inanılan mutasyonların 136, 154 ve 171. kodonlarda görülenler olduğu belirlenmiştir. Bunlardan 136. kodonun Alanin (A), Valin (V) ya da nadiren Treonin (T), 154. kodonun Arginin(R) veya Histidin (H), 171. kodonun R, H, Glutamin (Q) veya Lisin (K) isimli aminoasitleri kodlamış olduğu gözlenmiştir. Bu aminoasitlerin çeşitli kombinasyonları çeşitli haplotipler yaratmaktadır. Gözlem ve deneylerle, üçlü aminoasit kombinasyonları yelpazesinde, ARR haplotipinin koyunlarda skrapiye dirençli, diğer taraftan VRQ haplotipinin de skrapiye hassas koyunlarda bulunduğu gösterilmiştir (Tongue ve ark., 2004, Gama ve ark., 2006). Gene bu haplotiplerin kombinasyonları da çeşitli genotipler (örn. ARR-ARR veya ARQ-TRQ gibi) oluşturmaktadır. Bu genotipler skrapiye hassasiyette farklılıklar göstermektedir (Vaccari ve ark., 2001; Tongue ve ark., 2004). İngiltere Ulusal Skrapi Planı çerçevesinde önceden gözlenmiş genotipler risk grupları olarak sınıflandırılmışlardır (Hunter ve ark., 2007; Dawson ve ark., 1998). Bu planın risk gruplarını baz alan ülkeler, kendi koyun ırklarını skrapiye dirençlilik açısından değerlendirmek ve idare etmek üzere, PrPgen bölgesi

polimorfizmlerini özellikle yukarıda belirtilen 3 kodon açısından taramaktadır. Ayrıca, birçok ülkede, özellikle Avrupa Birliği ülkelerinde, skrapiye dirençli sürüler oluşturmak amacı ile dirençli genotiplerin frekansını arttırıcı sıkı seleksiyon programları uygulanmaktadır (Kao ve ark., 2001, Sipos ve ark., 2002, Green ve ark., 2007). Bu program çerçevesinde çok sayıda birey hem PrP geni hem de skrapi varlığı açısından taranmıştır.

Son yıllarda biriken gözlemler farklı skrapi soylarının, izolatlarının (atipik skrapi) da var olduğunu ortaya çıkarmıştır. Bir önceki deneylerle tarif edilen (Örn. ARR/ARR genotipinin dirençli olduğu) skrapi soyu klasik skrapi olarak anılmaya başlanmıştır. Atipik skrapiye hassas bireylerin çoğunlukla, ilk ve son iki amino asit bölgesi göz önüne alındığında (ARR ve ARQ) klasik skrapiye göreceli olarak dirençli olan (ALRR/ALHQ, ALRR/AFRQ, AFRQ/ALRQ), yani önceki seleksiyon programlarının sıklığını arttırdığı genotiplerde (Benestad ve ark., 2003, Lühken ve ark., 2008) ortaya çıkabileceğinin anlaşılması uygulanmakta olan programların gözden geçirilmesi gerektiğine işaret etmiştir. Ayrıca, klasik skrapiye hassas genotiplerin Avrupa'da yüksek olmasının bir nedeninin bazı verim özellikleri ile ilgili olabileceği, hastalığın buradaki koyunların verimlerini arttırma esnasında ortaya çıkmış olabileceğini düşündürmektedir. Bir taraftan klasik skrapiye dirençli genotiplerin atipik skrapiye hassas olabileceği, diğer taraftan klasik skrapiye dirençli sürü yaratırken verimin azalabileceği düşüncesi endişe yaratmış ve hem PrP protein geninin polimorfizmlerinin, hem de skrapi ve verim özellikleri ilişkilerinin daha kapsamlı bir biçimde çalışılması gereğini ortaya koymuştur. Atipik skrapinin kaynağı henüz tam olarak bilinmemekle birlikte, yapılan çalışmalar 141. ve 154. kodonlardaki mutasyonların birlikte atipik skrapinin kaynağını oluşturduğunu düşündürmektedir (Moum ve ark., 2005; Benestad ve ark. 2008, Fediaevsky ve ark., 2009) . Atipik skrapi içinde farklı genotipteki bireyler de atipik skrapiye hassasiyette farklılıklar göstererek ayrı risk grupları oluşturmaktadır (Fediaevsky ve ark., 2009).

PrP polimorfizmlerinin tamamına yakınına görebilmek, polimorfizmlerin hangi verim özellikleri ile ilişkili olduğuna dair ön tahminde bulunabilmek için çalışılan koyunların var olan

tüm koyunları temsil etmesi gerekir. Son arkaeolojik veriler (Zeder, 2008) koyun için, tüm dünyada tek bir evcilleştirme merkezi olduğunu onun da Güneydoğu Anadolu'da olduğunu göstermektedir. Tüm dünyadaki yerli koyunlar bu bölgeden gitmiştir. O halde merkeze yakın yerli ırkların çalışılması polimorfizmlerin tamamına yakınına ortaya koymak açısından oldukça önemlidir. Türkiye'nin, içinde bulunduğu bölgenin evcilleştirme merkezini içerdiği düşünüldüğünde yerli koyun ırklarında yapılacak genetik çalışmalar literatürde bulunan gerek Avrupa gerekse Asya'daki verilerle karşılaştırmalı olarak çalışıldığında PrP haplotiplerinin ortaya çıkışları (bölgede yüksek haplotip varyasyonu beklenir), yayılışları (göçlerle), frekansların şekillenmesi (seleksiyon ile örn. et kalitesi genlerinden birine bağlı olarak / çevresel faktörlerle ya da rastlantısal sürüklenme ile) yani evrimleri ile ilgili bilgiler verebileceği düşünülmektedir. Bu nedenle, Türkiye yerli koyun ırklarının Prp gen bölgesi polimorfizmlerinin çalışılmasının önemi büyüktür.

Türkiye'de yerli koyun ırklarında prion protein genine ait polimorfizmlerin çalışıldığı değerli çalışmalar mevcuttur (Ün ve ark., 2008, Lühken ve ark., 2008, Alvarez ve ark., 2011, Öner ve ark., 2011, Frootan ve ark., 2011). Türkiye'den 10 ırk (Akkaraman, Morkaraman, Dağlıç, Karayaka, Sakız, Kıvırcık, Gökçeada, Hemşin, Tuj ve İvesi) taranmış olmakla beraber yüksek sayıda yerli ırka sahip olan ülkemizde (Türkiye'de 15'den fazla) PrP geninin genetik çeşitliliğinin tam olarak anlaşılabilmesi için daha çok ırk ve bireyin sekanslama ile çalışılması gerekmektedir. Bu çalışmanın birincil amacı, Türkiye yerli koyun ırklarında PrP geni polimorfizmlerini ve haplotip dağılımlarını coğrafya ve ırk bazında yansıtan verileri genişletmek olduğu kadar bu gen bölgesinin genetik çeşitliliğini çok sayıdan bireyin sekansları ile ortaya koyarak bu gen bölgesi için işleyen evrimsel mekanizmaları/ çeşitliliğin coğrafi dağılımının ortaya çıkışını araştırmaktır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Prion proteinleri ve Prion gen bölgesi

Prion proteinleri; merkezi sinir sistemi başta olmak üzere, canlılarda çeşitli hücrelerde (daha az olarak kalp, böbrek, akciğer, pankreas, testis, trombositler ve lökositlerde) sentezlenen ve prion ile ilişkili protein olarak adlandırılan ve görevleri hala tanımlanmamış (Detweiler and Baylis, 2003) proteinlerdir. Nükleik asitte değişikliğe neden olan pek çok inaktivasyon prosedürüne direnç gösteren, protein yapısındaki enfeksiyöz partikülleri ifade eden "Prion" terimi ilk olarak Prusiner (1982) tarafından kullanılmıştır. Bu proteinin PrP^C formu, normal hücresel PrP'yi ifade ederken, PrP^{SC} formu, prion hastalıkları ile ilişkili patojenik PrP'yi ifade etmektedir. PrP'nin normal formu (PrP^C), genellikle tek parçalı yapıya sahip bir glikoproteindir. Proteaz enzimine duyarlı olan PrP^C, glycophosphatidylinositol (GPI) glycolipid çapa ile hücre membranlarına bağlanır. Hücre yüzeyindeki PrP'lerin yarı-ömrü 3-6 saat arasındadır. Üç boyutlu yapısında α -sarmalı bakımından zengin olan PrP^C, mekanizması tam olarak ortaya konulamamış biçimsel bir değişikliğe uğrayarak α -sarmalı bakımından fakir, aksine β -yaprağından zengin PrP^{SC}'ye dönüşmekte ve enfeksiyöz özellik kazanmaktadır. PrP^C'nin patolojik formu yapısal olarak çok parçalı ve proteaz enzimine PrP^C'den daha dirençlidir. PrP^C ve PrP^{SC} kimyasal olarak özdeş olmasına rağmen, çözünürlükleri, ikincil yapıları ve stabiliteleri gibi biyofiziksel özellikleri birbirinden tamamen farklıdır. Bu karakteristik özellikler, patolojik PrP'nin, bir araya gelerek amyloid fibriller oluşturma yeteneğini kazandırmış gibi görünmektedir ve Alzheimer, Parkinson ve Huntington gibi diğer proteinlerin hatalı katlanması (misfolding) hastalıklarında görülen anormal protein birikimi ile benzerdir(Howlett, 2003). TSE olarak adlandırılan hastalıkların etkeninin yalnızca PrP^{SC} den ibaret olduğu varsayımı araştırmacılar arasında geniş olarak kabul görse de, bu konuda ki araştırmalar, PrP^C'nin PrP^{SC}'ye biçimsel dönüşümünde başka moleküllerin komponent ya da kofaktör olarak görev yapıyor olabileceğini göstermiştir (Thackray ve ark.,

2003 ; Thackray ve ark., 2006; Caughey ve Baron 2006, Michel ve Bakovic 2007, Solfrosi ve ark 2007, Kupfer ve ark. 2009).

Prion hastalıkları insan ve bazı hayvan türlerinde (Tablo.2.1) Nakledilebilir Süngerimsi Beyin Hastalığı'na (TSE, Transmissible Spongiform Ensefalopati) neden olan ve yaklaşık 250 aminoasitten oluşan protein yapısındaki hastalık etmenleridir.

Tablo. 2.1. İnsan ve Hayvanlarda Görülen Prion Hastalıkları

Tür	Hastalık
Koyun, Keçi	Skrapi
Sığır	BSE(Bovine Spongiform Ensefalopati= Deli Dana Hastalığı)
Mink (vizon)	Transmissible Mink Ensefalopati
Geyik	Kronik Zayıflama Hastalığı (Chronic Wasting Disease)
Devekuşu	Spongiform encephalopathy (bulaşıcı olduğu henüz belirlenmemiştir)
Kediler ve Hayvanat Bahçelerindeki Kedigiller	Feline Spongiform Ensefalopati
Hayvanat Bahçelerindeki değişik çift tırnaklı hayvan türleri	Ekzotik çift tırnaklıların Spongiform Ensefalopatisi
İnsan	Kuru, Creutzfeldt Jacob Hastalığı (CJD) iatrogenic Creutzfeldt–Jakob Hastalığı (iCJD) Varyant Creutzfeldt Jacob Hastalığı (vCJD) familial Creutzfeldt–Jakob Hastalığı (fCJD) sporadic Creutzfeldt–Jakob Hastalığı (sCJD) Gerstmann Straussler-Scheinker Sendromu Fatal Familial İnsomnia

http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/transmissible_spongiform_encephalopathy.pdf

(26.02.2012)

Prion proteinin hastalıklı izoformu (PrP^{Sc}), hücresel izoformu ile aynı amino asit dizisine ve aynı translasyonel eklemlere (Stahl ve ark., 1993; Prusiner ve ark., 1998;

Castilla ve ark., 2005) sahip olmasına rağmen, koyunlarda görülen skrapı prion proteininin (Prusiner, 1982) PrP^C molekülünün aksine ikincil β -sheet yapısı bakımından zengin olduğu anlaşılmıştır (Baldwin ve ark., 1993; Pan ve ark., 1993; Safar ve ark., 1998). PrP^{Sc} molekülünün Glikozil Fosfatidil Gnositol (Glycosylphosphatidylinositol) yapısı analiz edildiğinde siyalik asit içeren değişik bir yapıya sahip olduğu anlaşılmıştır (Stahl ve Prusiner, 1991). Hücrel PrP izoformu (PrP^C) bir posttraslasyonel işlem sonucunda yarı ömrü 4-6 saat olan PrP^{Sc} molekülüne dönüşür (Borchelt ve ark., 1992). Enfekte hücrelerde PrP^C moleküllerinin yaklaşık olarak %5'inin PrP^{Sc}'ye dönüştüğü belirtilmektedir. Geri kalan diğer moleküller ise yıkılmak üzere endozom ve lizozom gibi organellere gönderilir (Borchelt ve ark., 1990; Arnold ve ark., 1995).

Prion enfeksiyonu ve yayılmasının mekanizmaları hala tam olarak bilinmemektedir. Hastalıklı protein formunun sağlıklı proteinlerle etkileşime girerek şekil değiştirmelerini sağladığı düşünülmektedir (Marino ve ark., 1996). Öne sürülen hipoteze göre, henüz tanımlanmamış hücrel X proteini (muhtemelen GP69) bu iki molekül ile kompleks oluşturarak PrP^C'nin PrP^{Sc}'ye dönüşmesine sebep olabileceği düşünülmektedir (Telling ve ark., 1995). Diğer yandan, PrP^C molekülünün ortasında bulunan bir amino asit dizisinin PrP^{Sc} ile olan benzeşimi (homolojisi), PrP^C molekülünün PrP^{Sc}'ye dönüşümünü etkilediği görülmüştür (Scott ve ark., 1993; Telling ve ark., 1994, 1995; Steele ve ark., 2006). Söz konusu bu bölgede tek bir aminoasit farklılığının olması halinde meydana gelen dönüşümün engellenmesi, türler arasında prion enfeksiyon bariyerini açıklamaktadır (Prusiner, 1998).

Bu anormal izoformların merkezi sinir sisteminde örneğin beyinde toplanması ile amiloid fiberler, fiberlerin birikmesi ile de plaklar oluşur. Her fiberin sonu serbest proteinlerin gelip bağlanabildiği bir kalıp görevini üstlenmiştir. Böylece fiberler büyüyerek gelişir ve nörodejeneratif süngerimsi yapıların oluşumuna sebep olduklarından, prion hastalıkları TSE (Transmissible Spongiform Encephalopathy) olarak isimlendirilmiştir (Prusiner ve ark., 1998).

Sağlıklı organizmalarda prion proteininin kesin fonksiyonu tam olarak bilinmediği halde, PrP^C'lerin hücre-hücre iletişimi ve sinyal iletimi üzerinde önemli bir etkisi olduğu

düşünülmektedir (Hu ve ark., 2008). Ayrıca prion proteinlerinin bakıra gösterdiği bağlantı kurma eğiliminden (afinite) dolayı (Hornshaw ve ark., 1995; Brown ve ark., 1997). PrP^C lerin bakır homeostazisinde etkin bir role sahip olduğu düşünülmektedir (Brown ve ark., 1999). Ayrıca bazı bulgular, PrP moleküllerinin uzun süreli hafızanın korunmasında fonksiyonel olduklarına da işaret eder (Shorter ve Lindquist, 2005).

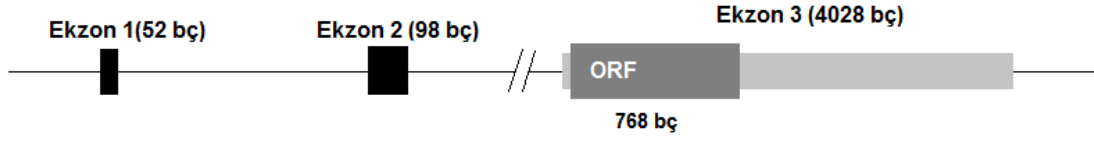
Prion hastalıklarının (TSE), prion genindeki mutasyonlar (%15) sonucunda meydana gelebildiği gibi enfeksiyon sebebiyle (%5) veya spontan (%80) bir şekilde de gelişebileceği bildirilmiştir (Frootan, 2009).

Bütün türlerde gen yapıları birbirlerine benzer olan PrP geni insanlarda 20. kromozomun kısa kolunda, sığır ve koyunlarda ise 13. kromozomda yer almaktadır. Bu türlerin hepsinde PrP geni iki büyük intronla birbirinden ayrılmış üç ekzondan oluşmaktadır. Tüm bu türlerde açık okuma çerçevesi (ORF-open reading frame) bölgesi 3.ekzonda yer almaktadır. Koyun, keçi, sığır ve insanda PrP geninin ekzon, intron ve ORF sıralarının bç olarak karşılaştırmalı uzunlukları Tablo.2.2'de verilmiştir.

Tablo 2.2. Koyun, keçi, sığır ve insanda PrP geninin ekzon, intron ve ORF sıralarının bç olarak karşılaştırmalı uzunlukları

Tür	Ekzon 1	Ekzon 2	Ekzon 3	ORF	Intron 1	Intron 2
Koyun	52	98	4028	768	2421	14 031
Keçi	52	98	4019	771	2430	14020
Sığır	53	98	4091	795	2436	13 552
İnsan	134	99	2354	762	2622	9 975

Koyunlarda 13. kromozomda yer alan PrP geni 52, 98 ve 4028 bç'lik üç ekzondan ve bunları birbirinden ayıran 2421 ve 14031 bç'lik iki introndan oluşmaktadır. 768 bç'den oluşan ve 3. ekzonda yer alan ORF bölgesi 256 amino asitlik prion proteininin primer yapısını kodlamaktadır(Tranulis, M.A. 2002). Koyunlarda bulunan PrP genin yapı şeması Şekil.2.1 de verilmiştir.



Şekil.2.1. Koyunlarda Prion Protein Geninin Genomik Organizasyonu (Tranulis, M.A. 2002).

ORF: Açık Okuma Kalıbı

2.2.Koyunlarda Prion Hastalıkları

2.2.1.Klasik Skrapi

Skrapie, koyun ve keçilerin, bulaşıcı, beyin dokusunda anormal PrP^{SC} birikimine bağlı kofullaşma (vakuolizasyon) ve nöro-dejenerasyonlarla karakterize edilen, uzun inkübasyon süresine sahip, bilinen en eski ve dünya çapında en yaygın prion hastalığıdır (Goldmann ve ark. 1990, Cloucard ve ark. 1995, Benestad ve ark. 2003).

Bilinen en eski prion hastalığı olan skrapi, yaklaşık 280 yıldır tüm dünyada koyun ve keçilerde görülmektedir. Hastalık ilk defa 1732 yılında İngiltere’de rapor edilmiştir (Thompson and Gasser, 2008). Hastalığın ortadan kaldırılması konusunda çalışmalarını tamamlamış olan Avustralya ve Yeni Zelanda haricinde hastalığa Dünya’nın çeşitli yerlerinde rastlanmaktadır.

Günümüzde, skrapienin anadan yavruya vertikal yolla bulaştığı, enfekte hayvanların yavru zarlari ve yavru sularının çevreyi kontamine ederek hastalığı yatay yolla duyarlı hayvanlara bulaştırdığı ve sürüler arası temasın bulaşmada etkili olduğu kabul edilmektedir (Philippe ve ark. 2005).

İngiltere ve daha sonra birçok Avrupa ülkesinde tespit edilen skrapri hastalığının, özellikle 2. Dünya savaşı yıllarında, merinos gibi ekonomik olarak önemli bazı ırkların, dünya çapında yayılması ile kıtalar arası bir dağılım alanı, Şekil 2.2.1.1'de gösterildiği gibi, bulunduğu düşünülmektedir (Detwiler ve Baylis 2003, Detwiler 1992).



Şekil 2.2.1.1 1938-1977 yılları arasında skrapinin İngiltere'den Dünyanın diğer bölgelerine yayılımı (Detwiler ve Baylis 2003).

Farklı ülkelerde skrapri hastalığının ilk defa görüldüğü yıllar Tablo.2.2.1.1'de verilmiştir.

Tablo.2.2.1.1. Skrapri hastalığının ilk görüldüğü yıllar ve bazı ülkeler

Ülke	Yıl	Ülke	Yıl
Avustralya	1952	Yeni Zeland	1952-1954
Brezilya	1977	Norveç	1958-1959
Kanada	1938	Güney Amerika	1964-1972
Kolombiya	1968-1971	ABD	1947
Kenya	1970	İngiltere	1732

Koyunlarda hastalığın inkübasyon süresi 2-5 yıl arasında olup bir yaşın altındaki kuzularda ender olarak rastlanmaktadır (Dickinson ve ark., 1974). Enfekte prionlar derideki yaralardan veya bağırsaklardan hayvanın vücuduna girip, oradaki normal hücrel proteinlerin konformasyonel değişimine sebep olabilmektedir (van Keulen ve ark., 2000). Hastalarda klinik bulgular sabit olmayıp hayvanın genotipine bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Başlangıçta yaygın semptomlardan bazıları, önce verim azalması, ilerleyen dönemlerde sürüden ayrı olmaya çalışmak, kas koordinasyonu bozukluğu (davranış, duruş, yürüyüş bozuklukları, dudak, baş ve vücutta titremeler), körlük, titreme ve derinin aşırı kaşınması, tüy ve yünlerde dökülme (Foster ve ark., 2001; Redman ve ark., 2002) (Şekil 2.2.1.2) olarak gözlenmektedir. Hastalığın geç evrelerinde ise, hasta koyunun su içme ve idrara çıkma oranında fark edilen değişiklikler gözlenebilmektedir (Gibbs, 1996).



Şekil. 2.2.1.2. Skrapi hastalığına yakalanmış koyunlardan örnekler (28.02.2012)

Skrapinin insan sağlığı açısından doğrudan bir tehdit olduğu konusunda bilimsel kanıtlar olmasa da; 1986 yılında ortaya çıkan deli dana hastalığı (BSE) epidemisi ve BSE'nin insanlarda teşhis edilen vCJD ile bağlantısının ortaya konulması, dahası 1996 yılında

BSE'nin deneysel olarak koyunlara bulaşabilirliğinin kanıtlanması Avrupa ülkelerini skrapı hastalığı ile ilgili eradikasyon programları oluşturmaya zorlamıştır (Palhière 2011).

Skrapı, hayvancılık sektörü açısından büyük bir mali kayba neden olması dışında, insan sağlığına olan etkilerinden emin olunmaması nedeniyle de kontrol altına alınmaya çalışılmaktadır. Hastalık etkeninin birçok dezenfektana dirençli olması, uzun inkübasyon süresi nedeniyle erken teşhisin konulamaması ve hastalık için henüz kesin sonuç veren bir tanı testinin bulunmaması, biyopsi dışında immünolojik testlerin kullanılmaması hastalığın kontrolünü zorlaştırmaktadır (O'Rourke ve ark.,2002).

Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda; scrapıye direnç veya duyarlılığın büyük ölçüde genetik kontrol altında olduğu, PrP geninde özellikle 136, 154 ve 171. kodonlardaki polimorfizmlerin hastalığa karşı genetik direnç konusunda önemli rol oynadığı ortaya konulmuştur (Laplanche ve ark. 1993, Clouscardve ark. 1995, Hunter ve ark.1997). Bu amaçla genetik polimorfizmden yararlanarak Avrupa Birliği başta İngiltere olmak üzere tüm üye ülkelerde uygulanması amaçlanan ve uzun süreçte skrapı hastalığının ortadan kaldırılması ve genetik olarak dirençli hayvanların yetiştirilmesini hedefleyen Ulusal Skrapı Planı'nı hazırlamıştır (Ibeagha-Awemu ve ark., 2008; Dawson ve ark., 1998).

İngiltere'de oluşturulan Ulusal Skrapı Planı (National Scrapie Plan-NSP) çerçevesinde en genel 15 genotip ve direnç seviyeleri Tablo 2.2.1.2'de gösterilmiştir.

Tablo.2.2.1.2 Koyunlarda 136, 154 ve 171. kodonlardaki polimorfizme göre kategorize edilen skrapi görülme risklerine ait gruplar

İngiliz Ulusal Skrapi Planı (NSP)	
NSP1	Genetik olarak skrapiye en dirençli genotip <u>(ARR/ARR)</u>
NSP2	Genetik olarak skrapiye dayanıklı grup, fakat daha sonraki yetiştirme işlerinde kullanılmaları halinde seleksiyonlarında dikkat edilmesi gereklidir. <u>(ARR / AHQ, ARR / ARH, ARR / ARQ)</u>
NSP3	Genetik olarak skrapiye çok az dayanıklı grup. Satılmaları ve yetiştirilmeleri NSP sürülerinde sınırlıdır. Bu gruptaki koyunlar özel olarak yetiştirilmelidir. <u>(ARQ / ARH, ARQ / AHQ, AHQ / AHQ, ARH / ARH, AHQ / ARH, ARQ / ARQ)</u>
NSP4	Bu gruptaki hayvanlar skrapiye genetik olarak duyarlıdır ve genel durumları uygun olmadıkça ve kontrollü yetiştirme programı uygulanmadıkça damızlıkta kullanılmamalıdır. <u>(ARR/VRQ)</u>
NSP5	Skrapiye yüksek düzeyde duyarlı genotipler, yetiştirme sistemlerinde damızlık olarak kullanılmamalı <u>(AHQ/VRQ, ARH/VRQ, ARQ/VRQ, VRQ/VRQ)</u>

Bu plan Avrupa Topluluğu'nun almış olduğu düzenleme kararına (260/2003) göre etki altındaki sürülerden VRQ haplotipinin kaldırılması ve ARR/ARR genotipine sahip koyun sayısının artırılması amaçlayan bir yetiştirme programıdır.

Bu plan dikkate alınarak birçok ülkede çalışma yapılmış olup genotip yapılarına göre tanımlanan bireyler yukarıdaki risk gruplarına atanmıştır. Avrupa Birliği ülkelerindeki koyunlar arasında yapılan çalışmalar incelendiğinde büyük farklılıkların olduğu belirlenmiştir. Bazı ülkelerde (örneğin Almanya, Fransa, Hollanda, Litvanya, Macaristan) örneklerin %20 - %65'i çok dirençli gruba (NSP1) dahil iken, diğer bazı ülkelerde (örneğin Danimarka, İrlanda, Norveç, Avusturya, İsveç) çalışılan örneklerin büyük çoğunluğu NSP4 ve NSP5 gruplarında yer aldığı görülmektedir (Sviland ve ark., 2006). Dirençli sınıfına giren ülkelerdeki koyunların daha önceki yıllarda skrapiye duyarlı olabileceği ve doğal seçimle dirençli hale geldiği tahmin edilmektedir. (Woolhouse ve ark., 1998, 2001).

Ulusal Skrapı planının dikkate alındığı bazı ülkelerde (örneğin Fransa, İspanya, Portekiz, Yunanistan, İtalya, Slovakya, Almanya) kontrollü yetiştirme politikası 2003 yılından beri uygulanmaktadır.

2.2.2. Atipik Skrapı

Norveç'te 1998 yılında klasik skrapiden farklı bir skrapı türü ortaya çıkmıştır ve gözlenmiş olduğu ülke ile gözlenme yılına atfen, "Nor98" olarak tanımlanmıştır.

Nor98, klasik skrapiden epidemiyoloji, klinik görünüm ve hasta hayvan genotipleri bakımından farklılıklar göstermektedir (Benestad ve ark., 2003). Epidemiyolojik olarak Nor98, Avrupa koyun populasyonunda 1/10000 oranında görülmektedir. Klasik skrapı "2-5 yaşlarda" ortaya çıkarken atipik skrapı 5 yaşın üzerinde olan bireylerde ortaya çıkmaktadır (OIE *Terrestrial Manual* 2009). Atipik skrapinin ilerlemiş yaştaki koyunlarda sporadik olarak ortaya çıktığının düşünüldüğü bildirilmiştir (Lühken ve ark., 2007). Nor98'de klasik skrapinin nörolojik belirtileri daha zayıf olarak görülür, PrP^{Sc} birikimi sadece merkezi sinir sisteminde görülür ve bu birikim sonucu beyinde vakuolizasyon yerine daha farklı biçimde ve sık olarak mikro vakuolizasyon olduğu görülmektedir (Benestad ve ark., 2003). PrP^{Sc} molekülleri bakımından farklılıklara bakıldığında ise; Nor98'e ait PrP^{Sc} molekülü protein kinazla muamele edildiğinde 7 kDA ağırlığına yakın ve Western blot'ta hızlı ilerleyen bir parça oluşturmaktadır (Klingeborn, 2006). Klasik skrapı de ise görülen en ufak parça C-terminal ucu içeren 19–21 kDA ağırlığındaki fragmenttir (Hope,1999; Hayashi, 2005) Atipik skrapinin tanısı klasik skrapıye göre daha zordur.

Araştırmacılar, atipik skrapı teşhisi koydukları koyunların, klasik skrapıye karşı dirençli kabul edilen genotiplere sahip olduğunu rapor etmişlerdir (Benestad ve ark. 2003).Klasik skrapıye dirençli genotipleri arttırma politikasını başlatmış olan ülkeler bu durumda politikalarını gözden geçirmeye başlamıştır. Ayrıca atipik skrapı konusunda araştırmalar yoğunlaşmıştır.

Norveç'ten sonra ilerleyen yıllarda Almanya ve Fransa (Buschmann ve ark. 2004), Belçika (De Bosschere ve ark. 2004), İsveç (Gavier-Widén ve ark. 2004), İngiltere (Everest ve ark. 2006), İsviçre (Nentwig ve ark. 2007), ABD (Loiacono ve ark. 2009), İspanya (Rodríguez-Martínez ve ark. 2010) gibi birçok ülkede atipik skrapı vakaları rapor edilmeye başlanmış ve bu konu üzerinde yapılan çalışmalar yoğunlaşmaya başlamıştır. Atipik skrapı hakkında birçok soru halen tam olarak yanıt bulamamış durumdadır. Hastalığın nedeni, dağılımı, görülme sıklığı, hastalığı etkileyen etmenler, hayvanlarda bulaşma durumu ve türler arası bulaşma durumu hakkında net bilgiler henüz bilinmemektedir. Fakat çalışmaların pek çoğunda 141. ve 154. kodundaki mutasyonların birlikte atipik skrapının kaynağını oluşturduğu belirtilmektedir (Moum ve ark., 2005; Benestad ve ark., 2008, Fediaevsky ve ark., 2010).

Klasik skrapı kapsamında olduğu gibi ülkeler atipik skrapı içinde riskli genotipleri belirlemek ve yetiştirme programlarını düzenlemek istemektedir. Fediaevsky ve ark., (2009)'nın çalışmasında Fransa koyun ırkları için hazırlamış olduğu İngiltere Ulusal Skrapı Planına benzer (Tablo 2.2.2.1) risk tablosu oluşturulmuştur.

Tablo.2.2.2.1. Fransa'da yapılan bir çalışmada koyunlarda 136, 141, 154 ve 171. kodonlardaki polimorfizme göre kategorize edilen atipik skrapı görülme risklerine ait gruplar

Grup	Prp gen bölgesi genotipleri	Risk seviyesi
1	ALRR/ALRQ, ALRR/ VLRQ, ALRQ/ALRQ, ALRQ/ALRH, ALRQ/VLRQ	0
2	ALRR/ALRR, ALRR-ALRH, VLRQ/VLRQ	1
3	ALHQ/ALRH, ALHQ-VLRQ, AFRQ/ALRH, ALRH/ALRH, AFRQ/VLRQ, ALRH-VLRQ	2
4	ALRR/ALHQ, ALRR/AFRQ, ALHQ/ALRQ, AFRQ/ALRQ	3
5	ALHQ/ALHQ, ALHQ/AFRQ, AFRQ/AFRQ	4

Atipik skrapi için henüz tüm ülkeler tarafından kabul edilen bir yetiştirme programı planı mevcut değildir.

2.3. PrP Genotipleri açısından incelemeleri içeren yayınlardan bazıları

Birçok ülkede PrP koyunlarda taranması (çoğunlukla klasik skrapi haplotipleri olarak, bazen atipik skrapi haplotipleri, pek az olarak da sekanslama ile) yapılmıştır (Tablo 2.3.1). Projenin tamamlanması esnasında da üç tane olmak üzere, Türkiye'den de kapsamlı yayınlar yapılmıştır (Alvarez ve ark., 2011; Oner ve ark., 2011; Frootan ve ark., 2011).

Tablo 2.3.1. Dünya'da PrP lokusunun genetik yapısının çalışıldığı birçok ülkede yapılan yayınlardan çalışmada yararlanılmış olanlar

Yazar	Yayın Adı
Acin ve ark.,2004	Prion protein gene polymorphisms in healthy and scrapie-affected Spanish sheep
Acutis ve ark.,2004	Low frequency of the scrapie resistance-associated allele and presence of lysine-171 allele of the prion protein gene in Italian Biellese ovine breed
Alvarez ve ark.,2006	Identification of a new leucine haplotype (ALQ) at codon 154 in the ovine prion protein gene in Spanish sheep
Alvarez ve ark.,2007	Genetic diversity loss due to selection for scrapie resistance in the rare Spanish Xalda sheep breed
Alvarez ve ark., 2009	Quantifying diversity losses due to selection for scrapie resistance in three endangered Spanish sheep breeds using microsatellite information
Alvarez ve ark., 2011	Genetic variability in the prion protein gene in five indigenous Turkish sheep breeds
Babar ve ark., 2008	Genetic variability at seven codons of the prion protein gene in nine Pakistani sheep breeds
Babar ve ark., 2009	Frequencies of PrP genotypes and their implication for breeding against scrapie susceptibility in nine Pakistani sheep breeds
Bossers ve ark., 1999	PrP genotype frequencies of the most dominant sheep breed in a country free from scrapie
Boulton ve ark., 2010	Associations of PrP genotype with lamb production traits in four commercial breeds of British upland and crossing sheep
Drögemüller ve ark., 2001	PrP genotype frequencies in German breeding sheep and the potential to breed for resistance to scrapie
François ve ark., 2003	Breeding Sheep for scrapie resistance
Frootan ve ark., 2011	Prion Protein Coding Gene (<i>PRNP</i>) Variability in Sheep from Turkey and Iran
Gama ve ark., 2006	Prion protein genetic polymorphisms and breeding strategies in Portuguese breeds of sheep
Gombojav ve ark., 2003	Amino acid polymorphisms of PrP gene in Mongolian sheep
Gorjanc ve ark., 2010	Inference of genotype probabilities and derived statistics for PrP locus in the Jezersko–Solcava sheep
Guan ve ark., 2011	Polymorphisms of the prion protein gene and their effects on litter size and risk evaluation for scrapie in Chinese Hu sheep

Hagenaars ve ark., 2010	Scrapie prevalence in sheep of susceptible genotype is declining in a population subject to breeding for resistance
Han ve ark., 2011	Polymorphism of prion protein gene in sheep of Inner Mongolian, China
Hurtado ve ark., 2002	Genetic susceptibility to scrapie in a population of Latxa breed sheep in the Basque Country, Spain
Ianella ve ark., 2008	Evaluation of PRNP polymorphisms in Brazilian local adapted breeds
Karami ve ark., 2011	Polymorphisms of the prion protein gene Arabi sheep breed in Iran
Kastelic ve Kompan, 2009	The effect of PrP genotype on growth of rams on test station
Kipanyula ve ark., 2009	Prion protein (PrP) gene polymorphism in Red Maasai and Black Head Persian sheep breeds in Tanzania: Consistent profile regardless of locations
Lan ve ark., 2006	Prion protein gene (PRNP) polymorphisms in Xinjiang local sheep breeds in China
L'Homme ve ark., 2008	PrP genotype frequencies of Quebec sheep breeds determined by real-time PCR and molecular beacons
Lipsky ve ark., 2008	Analysis of prion protein genotypes in relation to reproduction traits in local and cosmopolitan German sheep breeds
Mazza ve ark., 2010	Co-existence of classical scrapie and Nor98 in a sheep from an Italian outbreak
Oner ve ark., 2011	Prion protein gene (PrP) polymorphisms in healthy sheep in Turkey
Otelea ve ark., 2011	The scrapie genetic susceptibility of some sheep breeds in southeast Romanian area and genotype profiles of sheep scrapie infected
Pongolini ve ark., 2009	A new genotyping strategy for efficient scoring of closely positioned SNPs in the ovine prion protein gene
Roden ve ark., 2006	Breeding programmes for TSE resistance in British sheep I. Assessing the impact on prion protein (PrP) genotype frequencies
Sawalha ve ark., 2007	Lambs with Scrapie Susceptible Genotypes Have Higher Postnatal Survival
Sipos ve ark., 2002	PrP Genotyping of Austrian Sheep Breeds
Sirakov ve ark., 2011	Genetic predisposition of some Bulgarian sheep breeds to the scrapie disease
Tsunoda ve ark., 2010	Prion Protein Polymorphisms and Estimation of Risk of Scrapie in East Asian Sheep
Ün ve ark., 2008	Genotyping of PrP gene in native Turkish sheep breeds
Van Kaam ve ark., 2008	Prion protein gene frequencies in three Sicilian dairy sheep populations
Wang ve ark., 2008	Polymorphisms of the prion protein gene in sheep of Inner Mongolia, China
Wisniewska ve ark., 2006	Prion protein (PrP) gene polymorphisms and breeding for resistance to scrapie in Polish Merino sheep
Wisniewska ve ark., 2009	Different breeding strategies for scrapie resistance depending on breed-specific PrP allele and genotype frequencies in the Polish sheep

3.MATERYAL ve YÖNTEM

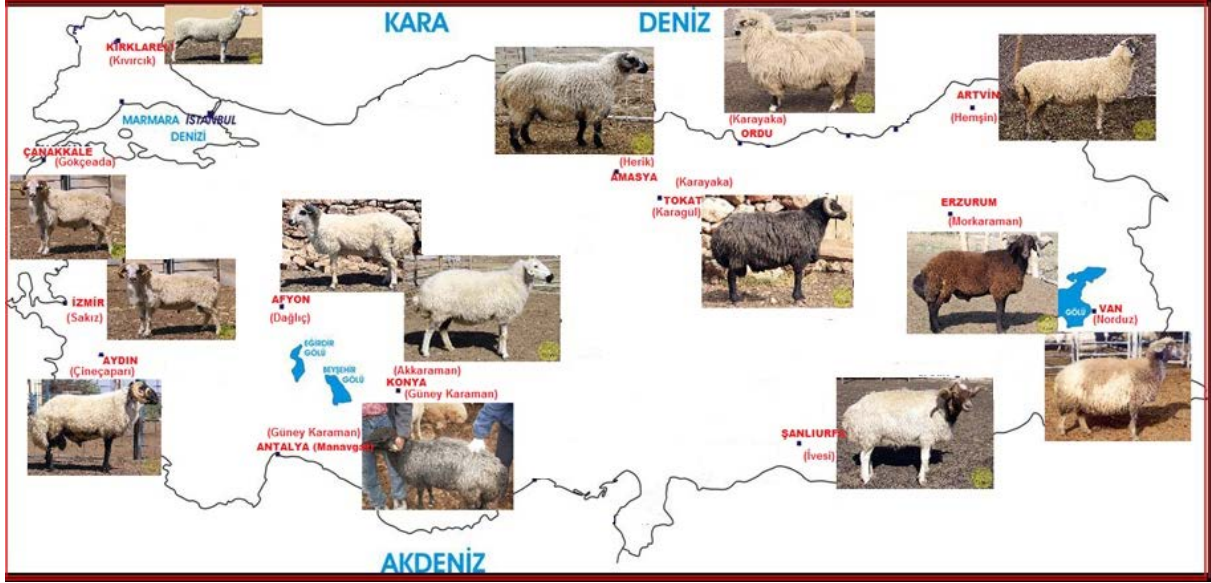
3.1. Hayvan materyali ve genomik DNA izolasyonu:

Çalışmada Türkiye'nin farklı coğrafi bölgelerinin çevre koşullarına uyum sağlamış, farklı verim özellikleri açısından yetiştiriciliği yapılan TURKHAYGEN-I projesi kapsamında çalışılan 13 yerli koyun ırkı (Norduz, Çineçaparı, Dağlıç, Herik, Kıvırcık, Akkaraman-1, Sakız, İvesi, Morkaraman, Hemşin, Karagül, Karayaka ve Gökçeada), daha önceki yıllarda Sivas, Konya ve Ankara civarından (n=31) toplanmış olan Akkaraman ırkına ait 2. bir örnekleme grubu ve bu proje kapsamında Konya ve Antalya – Manavgat civarından toplanmış olan Güney Karaman (n=45) koyun ırkına ait toplam 655 birey DNA kaynağı olarak kullanılmıştır (Tablo.3.1.1).

Tablo.3.1.1 Çalışılan koyun ırkları, ırkların kısaltılmış isimleri ve projede ırklara ait kullanılan birey sayıları

IRK	Kısa ırk ismi	Örneklerin hangi proje kapsamında toplandığı	Örnek Sayısı
Norduz	NOR	TURKHAYGEN-I projesi kapsamında toplanan ve çalışılan bireyler (TÜBİTAK-106G115)	42
Çineçaparı	ÇİÇ		44
Dağlıç	DAĞ		47
Herik	HER		45
Kıvırcık	KIV		42
Akkaraman-1	AKK-1		48
Akkaraman-2	AKK-2	TUBİTAK VHAG1553 ve ECONOGENE Projesi örnekleri (Ankara-Konya- Sivas civarı)	31
Sakız	SAK	TURKHAYGEN-I projesi kapsamında toplanan ve çalışılan bireyler (TÜBİTAK-106G115)	40
İvesi	İVE		47
Morkaraman	MOR		49
Hemşin	HEM		42
Karagül	KRG		43
Karayaka	KRY		43
Gökçeada	GÖK		47
Güney Karaman	GK	Konya, Antalya (Manavgat ilçesi) 2 farklı örnekleme (TÜBİTAK-106G115)	45
TOPLAM			655

Çalışılan bireylere ait örnekleme yapıldığı alanlar Şekil.3.1.1'de görülmektedir. Her bir ırka ait bireylerden 10 ml kan örneği EDTA içeren tüplere alınmış ve bu kan örneklerinden standart fenol kloroform DNA izolasyon metoduna göre izole edilmiştir (Sambrook ve ark., 1989).



Şekil.3.1.1. Proje kapsamında çalışılan koyun ırkları ve örneklerin toplandığı alanlar

Güney Karaman ırkına ait örnekler bu proje kapsamında toplanmıştır. Projenin 6-12 aylık dönemi içerisinde Güney Karaman ırkına ait 48 bireyden kan örneği alınmıştır (Şekil.3.1.2). Bu örneklerden Fenol-Kloroform yöntemine göre DNA'lar izole edilmiş ve istenen DNA konsantrasyonlarında hazırlanmış örnekler TÜRKHAYGEN-I kapsamında kurulmuş olan DNA bankasına da gönderilmiştir.



Şekil 3.1.2.Güney Karaman İrki Örnekleme (Konya Bahri Dağdaş Uluslararası Araştırma Enstitüsü- Haziran 2011)

Güney Karaman ırkına ait bu örnekler Konya Bahri-Dağdaş Uluslararası Tarımsal Araştırma Enstitüsü'ndeki sürülerden Haziran ayı (09 Haziran 2011) içerisinde yapılan örnekleme ile toplanmıştır. Enstitü sürüsü 2 farklı yerden örnekleme yapılarak oluşturulmuş kapalı bir sürüdür. Bu sürünün bir kısmı 2001 yılında Konya Taşkent'ten, diğer bir kısmı ise Mersin Mut civarından 2010 yılında satın alınmıştır.

Projenin 12-18 aylık dönemi içerisinde (17 - 20. Kasım. 2011) Güney Karaman ırkına ait sürülerden 2. bir örnekleme (Şekil 3.1.3) Antalya'nın Manavgat ilçesi merkez köylerinden yapılmıştır. Yapılan örneklemede sadece 3 farklı yetiştiricide Güney Karaman ırkına ait bireylere rastlanmıştır. Bu bireyler fenotipik olarak değerlendirilmiş ve saf olduğu düşünülen sadece 9 bireylerden kan örneği alınmış ve bu bireylerin DNA'ları izole edilmiş bunların DNA ları da DNA bankasına yollanmıştır.



Şekil 3.1.3. Güney Karaman İrki ikinci örnekleme (Antalya – Manavgat 17-20 Kasım 2011)

3.2. PrP gen bölgesine ait DNA bölgesinin yükseltgenmesi

Türkiye yerli koyun ırklarında prion protein (PrP) geninde DNA dizi analizine dayalı polimorfizmi inceleyebilmek için yapılan bu proje kapsamında iki farklı çalışma referans olarak alınmıştır (Babar ve ark., 2009 ; Ün ve ark., 2008) .

PZR ile optimizasyon çalışmalarına öncelikle Ün ve ark. (2008)'nin çalışmasında kullanılan primerler ile başlanmıştır. Çalışma sonuçlarını proje ortağımız olan Babar ve ark.(2009)'nin çalışmasının sonuçları ile karşılaştırabilmek amacı ile ilerleyen dönemlerde Babar ve ark.'nin çalışmasında kullanılan primer bölgesi denenmiştir.

3.2.1. PrP Gen Bölgesi'nin PZR ile Çoğaltılması (Babar ve ark., 2009 tarafından önerilen bölgeye göre yapılan çalışmalar), ortaya çıkan sorunlar ve yöntem değiştirilmesi

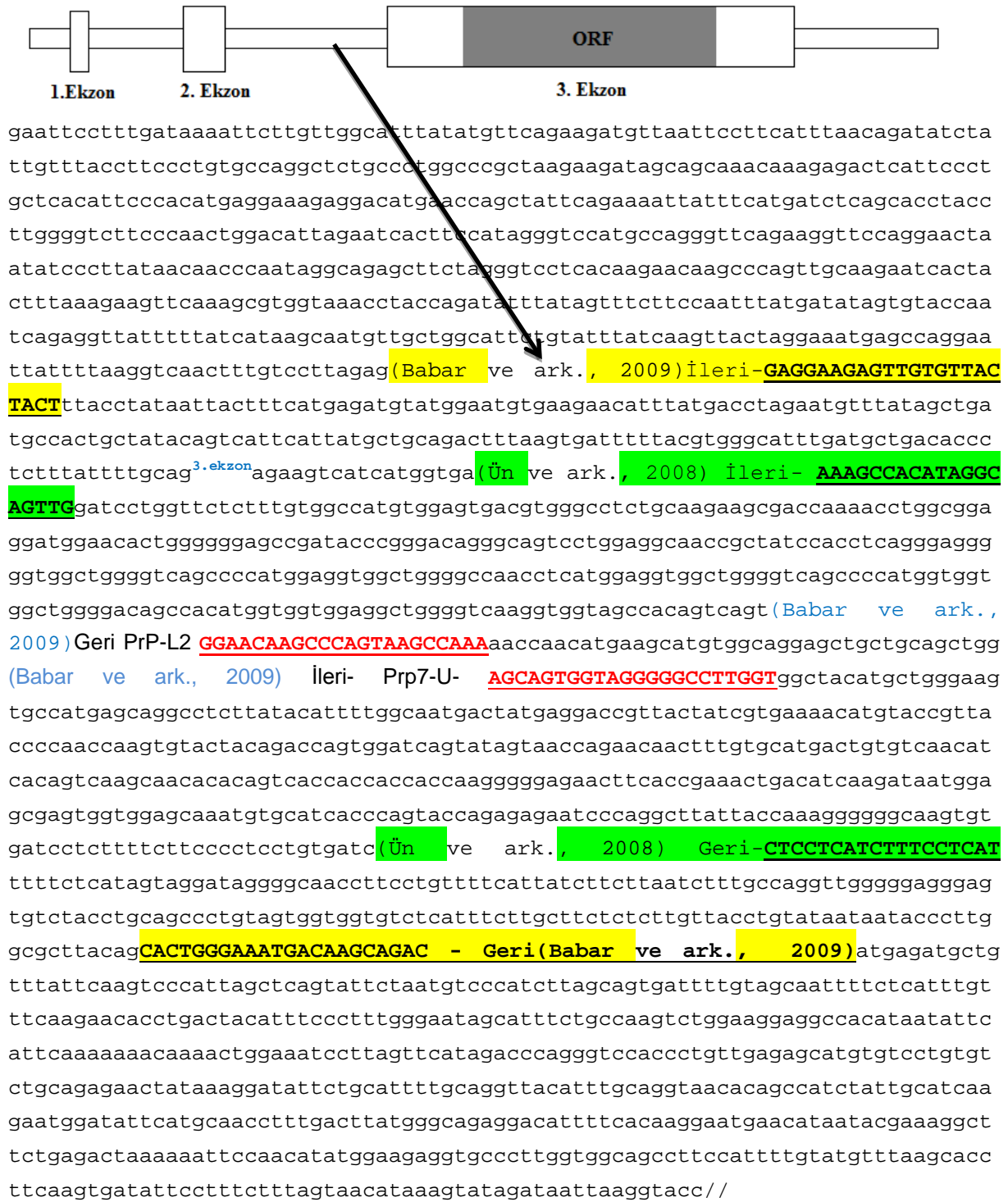
Babar ve ark. (2009)'nin yaptığı çalışmada prion protein geninin 3. ekzon bölgesindeki yaklaşık 1126'bc olan bölgede çalışılmıştır. Bu bölgenin yükseltgenmesi için kullanılan primerler Tablo 3.2.1.1' de verilmiştir.

Tablo.3.2.1.1. Babar ve ark. (2009)'nin çalışmalarında kullandıkları primerler

Primer Dizilimleri	
İleri (F)	5'- GAGGAAGAGTTGTGTTACTACT-3'
Geri (R)	5'-GTCTGCTTGTCATTTCCCAGTG-3'
İleri- Prp7-U	5'-AGCAGTGGTAGGGGGCCTTGGT-3' (iç primer)
Geri PrP-L2	5'- TTTGGCTTACTGGGCTTGTTC-3' (iç primer)

Primerlerin yeri veri bankasından (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) alınan dizi ile aşağıda Şekil 3.2.1.1'de görüldüğü gibi kontrol edilmiştir. Bölge Ün ve ark.'nin (2008) çalışmasında kullandıkları primer bölgesini de içermektedir.

Ovis sp. gene for prion protein PrP, complete cds (GenBank: D38179.1)



Şekil.3.2.1.1. Babar ve ark.(2009)'nin ayrıca Ün ve ark.(2008)'nin kullandığı primerlerin PrP geni üzerindeki yeri

Sarı renk ile işaretlenen diziler; Babar ve ark.'nın (2009) kullandığı dış (F ve R) primerleri, kırmızı renk ile işaretlenen diziler Babar ve ark.'nın kullandığı iç primerleri, yeşil renk ile işaretlenen diziler ise, Ün ve ark.'nın (2008) kullandığı primerleri ifade etmektedir.

Babar ve ark.(2009)'nın PrP gen bölgesini yükseltgemedde kullanılan reaksiyon bileşenleri aşağıda belirtilmiştir (Tablo.3.2.1.2).

Tablo.3.2.1.2. Babar ve ark.(2009)'na göre PrP gen bölgesini PZR ile yükseltmek için kullanılan reaksiyon bileşenleri

Bileşenler	PCR bileşimine konulan miktar (µL)	Stok Konsantrasyonu
1x buffer	2.5	10 X PCR Tamponu
MgCl ₂	2.0	25mM
dNTP	0.5	10mM
Primer F+R	0.5	10pmol / µl
Taq enzimi	0.2	5 u / µl
DNA	2.5	50-100 ng
d(H ₂ O)	16,8	
Toplam Hacim	25	dH ₂ O ile 25 µl'ye tamamlanır.

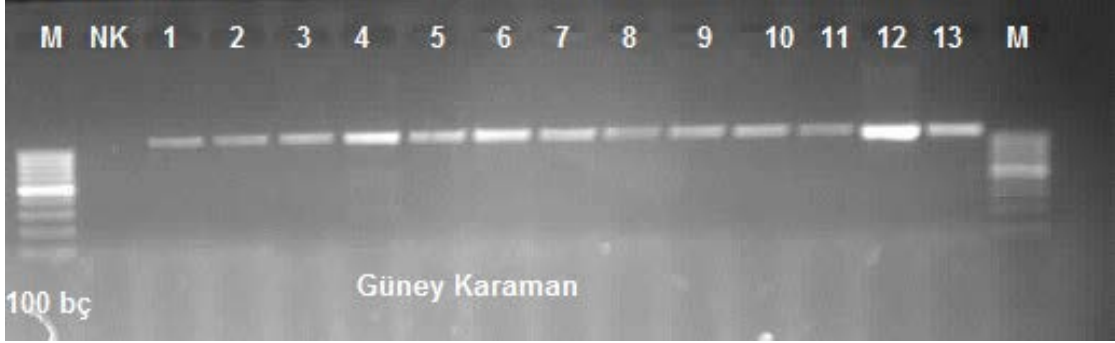
PrP gen bölgesinin tek bir primer çifti ile yükseltmek için laboratuvarımızda kullanılmış olan değiştirilmiş koşullar ise Tablo.3.2.1.3'te verilmiştir.

Tablo.3.2.1.3. PrP gen bölgesinin tek bir primer çifti ile yükseltmek için laboratuvarımızda kullanılmış olan değiştirilmiş PZR yükseltgeme koşulları

Aşamalar	Sıcaklık	Süre	Döngü sayısı
1.Basamak	94 ⁰ C'de (DNA denatürasyon sıcaklığı)	4 dk	1
2.Basamak	94 ⁰ C'de 54 ⁰ C'de 72 ⁰ C'de	45 sn 45 sn 1 dk	35 döngü
3.Basamak	72 ⁰ C'de	10 dk	1

PZR sonucunda yükseltgenen prion protein gen bölgesine ait bantların gözlenmesi için % 1'lik agaroz jel kullanılmıştır. Agaroz jele 5 µL PZR ürünü ve 5 µL yükleme tamponu (1 X loading dye) birlikte karıştırılarak yüklenmiştir. PZR ürünü bandın uzunluğunu kontrol

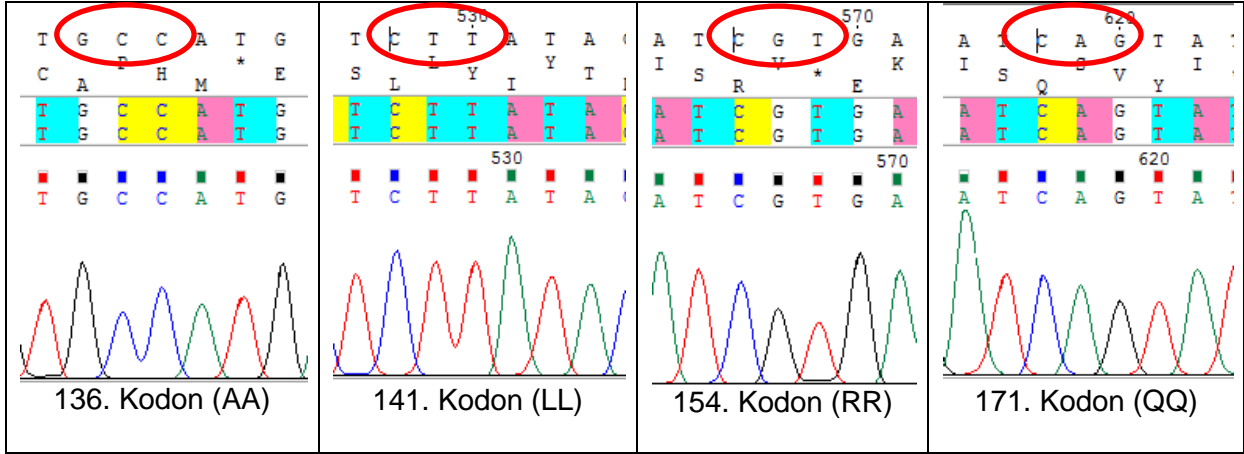
edebilmek amacı ile 3 µL 1000 bç'lik işaretleyici yüklenmiştir. Ayrıca negatif kontrol kullanılmıştır. Elde edilen ilk jel görüntüsü aşağıda Şekil 3.2.1.2'de sunulmuştur.



Şekil.3.2.1.2. Babar ve ark.(2009)'nın kullandığı primerin değiştirilmiş koşullar ile ve PZR'da yükseltgenmesi sonuçlarını gösteren jel görüntüsü (M: GeneRuler™ DNA Ladder Mix, 100-1000bç)

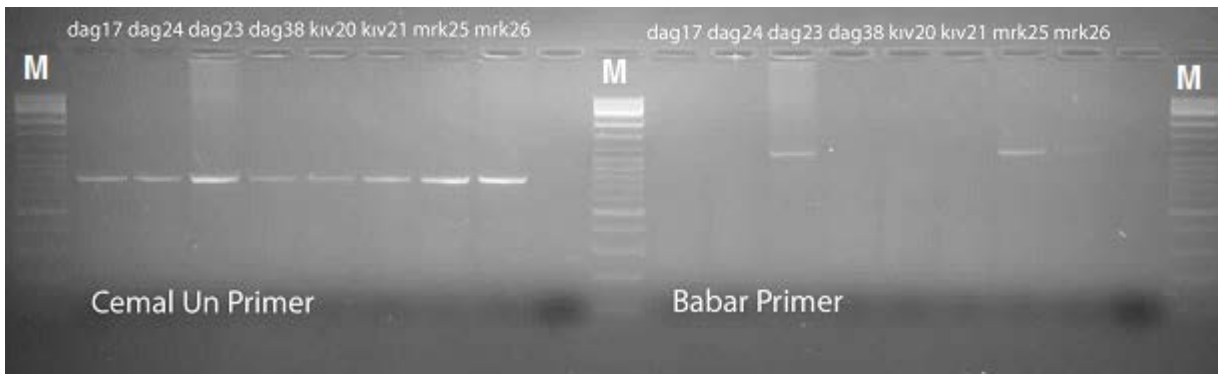
Başarılı bir şekilde çoğaltılan örnekler DNA dizi analizine gönderilmek amacıyla PCR temizleme kiti (Roche, High Pure PCR Product Purification Kit) kullanılarak temizlenmiştir. PrP bakımından genotiplerin belirlenmesi amacıyla elde edilen PCR ürünlerinin DNA sıra analizi otomatik DNA dizi analiz sistemi (ABI 3100 PRISM) kullanılarak "REFGEN-Gen Araştırmaları ve Biyoteknoloji" laboratuvarlarında hizmet alımı şeklinde yaptırılmıştır.

DNA sıra analizlerinde PCR uygulamasında kullanılan primerlerden yararlanılmıştır. Bu amaçla öncelikle hem ileri hem de geri primerlerin kullanıldığı ön denemeler yapılmış ve elde edilen sonuçlara göre de DNA dizi analizi işlemine ileri – geri primerler ile devam edilmiş ve DNA sıra analizi bu şekilde tamamlanarak, fenogramlar kullanılarak, PrP genotipleri hem klasik hem de atipik skrapi için önemli olduğu literatürde belirtilmiş 4 aminoasit pozisyonu (kodon) açısından belirlenmiştir (Şekil 3.2.1.3).



Şekil.3.2.1.3. Dağlıç ırkına ait 48 nolu örneğin genotipini(ALRQ/ALRQ) belirlemede kullanılan fenogram.

Optimizasyon çalışmaları sonrasında Babar ve ark.(2009)'nın çalıştığı primerler (sadece dış primerler) kullanılarak dizi analizi yapılan 234 bireyde genotipler belirlenmiştir (EK.1). Projenin ilerleyen aşamalarında yeni çalışılan bireylerde Babar ve ark.(2009)'nın primerleri kullanılarak yapılan genotip belirleme çalışmalarında PZR ile yükseltgemedeki bireylerin pek çoğunda sonuç alınamamıştır. Babar ve ark.(2009)'nın primerleri ile yükseltgenemeyen bireylerin PZR'u Ün ve ark. 'nın (2008) çalışmasında kullanılan, 745 bp'lık bölgenin yükseltgenmesinde kullanılan primerler ile yapıldığında Babar ve ark.'nın primeri ile yükseltgenemeyen bireylerin hepsinde sonuç alındığı belirlenmiştir (Şekil.3.2.1.4).



Şekil 3.2.1.4. Babar ve ark.(2009)'nın kullandığı primer ile Ün ve ark.(2008)'nin kullandığı primerlerin PZR ile yükseltgenmesi sonuçlarını gösteren jel görüntüsü (M: GeneRuler™ DNA Ladder Mix, 100- 10.000bp).

Özet olarak, Babar ve ark.(2009)'nın çalıştığı primer bölgesi ile (sadece dış primerler kullanılarak) Türkiye yerli koyun ırklarında çalışılmasının güç olduğu belirlenmiştir. Ancak, salt dış primerlerle çalışmayan 10 birey iç ve dış primerlerle denenmiştir ve hepsinin çalıştığı gözlenmiştir. Ancak, iki primer çifti kullanılarak yapılacak dizi analizi maliyeti iki misli arttırdığından Ün ve ark.(2008)'nin primerlerinin kullanılması uygun görülmüştür.

3.2.2. PrP Gen Bölgesi'nin PZR ile Çoğaltılması

(Ün ve ark., 2008 tarafından önerilen bölgeye göre yapılan çalışmalar)

Prion protein gen bölgesinin 3. ekzon bölgesinde yer alan Ün ve ark. (2008)'nin çalışmasında kullanılan 745 bç'den oluşan bölgenin polimeraz zincir reaksiyonu ile çoğaltılmasında kullanılan ileri ve geri primerler aşağıdaki Tablo.3.2.2.1 verilmiştir.

Tablo.3.2.2.1. Ün ve ark.(2008)'nin çalışmasında kullandıkları primerler

Primer Dizilimleri	
İleri (F)	5'-AAAGCCACATAGGCAGTTG-3'
Geri (R)	5'-AATGAGGAAAGAGATGAGGAG-3'

Ün ve ark.(2008)'nin PrP gen bölgesini yükseltgemedde kullanılan bileşenler aşağıda belirtilmiştir (Tablo.3.2.2.2).

Tablo.3.2.2.2. Ün ve ark. (2008)'nin çalışmasında kullandıkları PZR ile yükseltgenme bileşenleri

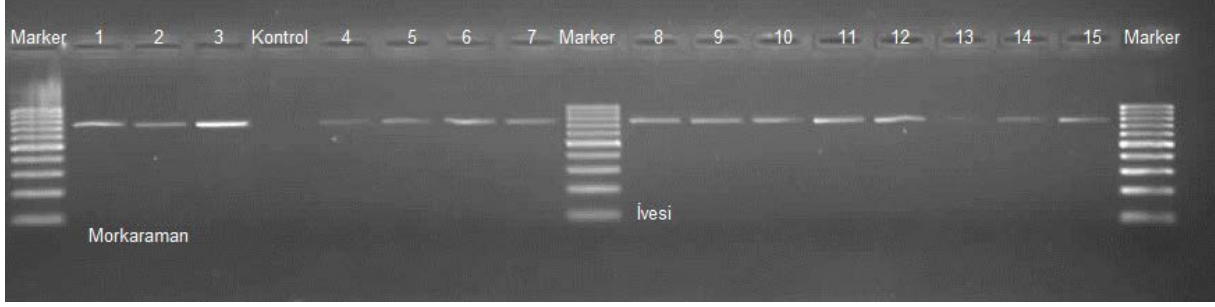
Bileşenler	PCR bileşimine konulan miktar (µL)	Stok Konsantrasyonu
1x buffer	2.5	10 X PCR Tamponu
MgCl ₂	2.0	25mM
dNTP	0.5	10mM
Primer F+R	0.5	10pmol / µl
Taq enzimi	0.2	5 u / µl
DNA	2.5	50-100 ng
d(H ₂ O)	16,8	
Toplam Hacim	25	dH ₂ O ile 25 µl'ye tamamlanır.

PrP gen bölgesinin (745 bç) Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile yükseltgemesi için laboratuvarımızda kullanılan koşullar aşağıdaki tabloda verilmiştir (Tablo.3.2.2.3).

Tablo.3.2.2.3. PrP gen bölgesinin (745 bç) Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile yükseltgemesi için laboratuvarımızda kullanılan koşullar

Aşamalar	Sıcaklık	Süre	Döngü sayısı
1.Basamak	94 ⁰ C'de (DNA denatürasyon sıcaklığı)	2 dk	1
2.Basamak	94 ⁰ C'de	1 dk	30 döngü
	57 ⁰ C'de	1 dk	
	72 ⁰ C'de	1 dk	
3.Basamak	72 ⁰ C'de	10 dk	1

PZR sonucunda yükseltgenen prion protein gen bölgesine ait bantların gözlenmesi için % 1.5'lük agaroz jel kullanılmıştır. Agaroz jele 5 µL PZR ürünü ve 5 µL yükleme tamponu (1 X loading dye) birlikte karıştırılarak yüklenmiştir. PZR ürünü bandın uzunluğunu kontrol edebilmek amacı ile 3 µL 1000 bç'lik işaretleyici yüklenmiştir. Ayrıca negatif kontrol kullanılmıştır. Elde edilen ilk jel görüntüsü aşağıda sunulmuştur(Şekil.3.2.2.1).



Şekil.3.2.2.1. Ün ve ark.(2008)'nın kullandığı primerin PZR ile yükseltgenmesi sonuçlarını gösteren jel görüntüsü (Marker: GeneRuler™ DNA Ladder Mix, 100- 1000bç)

Başarılı bir şekilde çoğaltılan örnekler DNA sıra analizine gönderilmek amacıyla PCR temizleme kiti (Roche, High Pure PCR Product Purification Kit) kullanılarak temizlenmiştir. PrP bakımından genotiplerin belirlenmesi amacıyla elde edilen PCR ürünlerinin DNA sıra analizi otomatik DNA dizi analiz sistemi(ABI 3100 PRISM) kullanılarak “REFGEN-Gen Araştırmaları ve Biyoteknoloji” laboratuvarlarında hizmet alımı şeklinde yaptırılmıştır.

Ün ve ark.'nın (2008) çalışmasında belirtilen PrP bölgesinin (745 bç) yükseltgenmesi sonrasında bireylerin dizileme analizi ileri (F) ve geri (R) primerlere göre yapılmıştır. Genotiplerin belirlenmesi öncesi tüm diziler, BioEdit programında ClustalW Multiple Alignment metoduna (Thompson ve ark., 1994) göre hizalanmıştır. Elde edilen dizilimlerden 136, 141, 154 ve 171. kodonlardaki nükleotid değişimleri dikkate alınarak genotiplerin belirlenmesi yapılmıştır.

PrP genotiplerinin isimlendirilmesinde DNA dizi analizi sonucunda ilgili kodonlarda belirlenmiş olan genotiplere karşılık gelen aminoasitlerin isimlendirilmesinde standart genetik kodonlar (Tablo 3.2.2.4) ve kısaltmalar kullanılmıştır. Buna göre haplotip alleleri belirlenirken aminoasitler tek harflik kodlarına göre kısaltılarak tanımlanmıştır. Bu tanımlamada A, Alanin; V, Valin; H, Histidin; R, Arginine; Q, Glutamin; K, Lisin, L, Lösin ve T, Treonin'e karşılık olarak kullanılmıştır. Ayrıca 136/141/154/171 şeklindeki kodonlara karşılık gelen aminoasitler yine bu sıraya göre tek harflik kodlara göre isimlendirilmiştir.

Tablo 3.2.2.4. Kodonların aminoasit karşılıkları ve kısaltmaları

		KODONDAKİ İKİNCİ BAZ				
		T	C	A	G	
KODONDAKİ BİRİNCİ BAZ	T	TTT <i>Phe (F)</i>	TCT <i>Ser (S)</i>	TAT <i>Tyr (Y)</i>	TGT <i>Cys (C)</i>	T C A G
		TTC <i>Phe (F)</i>	TCC <i>Ser (S)</i>	TAC <i>Tyr (Y)</i>	TGC <i>Cys (C)</i>	
		TTA <i>Leu (L)</i>	TCA <i>Ser (S)</i>	TAA <i>Stop</i>	TGA <i>Stop</i>	
		TTG <i>Leu (L)</i>	TCG <i>Ser (S)</i>	TAG <i>Stop</i>	TGG <i>Trp (W)</i>	
	C	CTT <i>Leu (L)</i>	CCT <i>Pro (P)</i>	CAT <i>His (H)</i>	CGT <i>Arg (R)</i>	T C A G
		CTC <i>Leu (L)</i>	CCC <i>Pro (P)</i>	CAC <i>His (H)</i>	CGC <i>Arg (R)</i>	
		CTA <i>Leu (L)</i>	CCA <i>Pro (P)</i>	CAA <i>Gln (Q)</i>	CGA <i>Arg (R)</i>	
		CTG <i>Leu (L)</i>	CCG <i>Pro (P)</i>	CAG <i>Gln (Q)</i>	CGG <i>Arg (R)</i>	
	A	ATT <i>Ile (I)</i>	ACT <i>Thr (T)</i>	AAT <i>Asn (N)</i>	AGT <i>Ser (S)</i>	T C A G
		ATC <i>Ile (I)</i>	ACC <i>Thr (T)</i>	AAC <i>Asn (N)</i>	AGC <i>Ser (S)</i>	
		ATA <i>Ile (I)</i>	ACA <i>Thr (T)</i>	AAA <i>Lys (K)</i>	AGA <i>Arg (R)</i>	
		ATG <i>Met (M)</i>	ACG <i>Thr (T)</i>	AAG <i>Lys (K)</i>	AGG <i>Arg (R)</i>	
	G	GTT <i>Val (V)</i>	GCT <i>Ala (A)</i>	GAT <i>Asp (D)</i>	GGT <i>Gly(G)</i>	T C A G
		GTC <i>Val (V)</i>	GCC <i>Ala (A)</i>	GAC <i>Asp (D)</i>	GGC <i>Gly(G)</i>	
		GTA <i>Val (V)</i>	GCA <i>Ala (A)</i>	GAA <i>Glu (E)</i>	GGA <i>Gly(G)</i>	
		GTG <i>Val (V)</i>	GCG <i>Ala (A)</i>	GAG <i>Glu (E)</i>	GGG <i>Gly(G)</i>	

Ala, Alanin; **Arg**, Arginin; **Asn**, Asparajin; **Asp**, Aspartik Asit; **Cys**, Sistin; **Glu**, Glutamik Asit; **Gln**, Glutamin; **Gly**, Glisin; **His**, Histidin; **Ile**, İzolösin; **Leu**, Lösin; **Lys**, Lisin; **Met**, Metiyonin; **Phe**, Fenilalanin; **Pro**, Prolin; **Ser**, Serin; **Thr**, Treonin; **Trp**, Triptofan; **Tyr**, Tirozin; **Val**, Valin.

3.3. İstatistik Analizler

Genotiplerin belirlenmesi sonrasında her bir ırk için elde edilen haplotip allelleri, genotipik frekanslar ve gen frekansları ile Hardy-Weinberg genetik denge kontrolü, farklı istatistik paket programlar kullanılarak hesaplanmıştır.

3.3.1. Irkları tanımlama istatistikleri

Genotip frekansları $f_{ij} = n_{ij}/N$ formülünden yararlanarak doğrudan sayma yöntemi ile hesaplanmıştır (Ün ve ark., 2008). n_{ij} , ij genotipindeki birey sayısını, N toplam birey sayısını göstermektedir. Gen frekanslarının belirlenmesinde PowerStatsV12 (Brenner ve Morris,

1990) programı (www.promega.com/geneticidtools/powerstats/PowerStatsV12.xls) kullanılmıştır. Populasyonların Hardy-Weinberg dengesinden sapmalarının hesaplanmasında F_{IS} ölçütü (Allendorf ve Luikart, 2007) ile FSTAT programı (Goudet, 1995) kullanılmıştır. Allel frekansları ise PowerStatsV12 (Brenner ve Morris, 1990) programı ile saptanmıştır. Türkiye ya da başka ülkelerin genotip kompozisyonlarını gösteren daire üzerinde dilimler halinde olan gösterimler 'pie chart' gösterimleri (EK.2.) Microsoft Excel programı ile yapılmıştır.

3.3.2. Irkların Genetik yakınlıklarının ölçümünde F_{ST} ve

Çok Boyutlu Ölçekleme Analizi

Irkların genetik yakınlıkları klasik ve atipik skrap kodonları, ayrıca sekanslar baz alınarak F_{ST} ölçütü (Allendorf ve Luikart, 2007) Arlequin 3.11 paket programı (Excoffier ve ark., 2005) kullanılarak hesaplanmıştır. Bu uzaklıklar kullanılarak ırklar Çok Boyutlu Ölçekleme Analizi (Multi Dimensional Scaling) ile 2 boyutta R programlama dili ortamında (R project, www.R-project.org) "cmdscale" komutu (Mardia, 1978; Mardia ve ark.,1979) kullanılarak görselleştirilmiştir.

3.3.3. Genetik Çeşitliliğin Dağılım Örgüleri Analizi

Genetik çeşitliliğin Türkiye üzerinde dağılımını göstermek için çok boyutlu ölçekleme analizi sonucunda ortaya çıkan her bir boyut için üç veri seti (klasik ve atipik skrap kodon frekansları ve diziler) üzerinden sentetik gen haritaları çizilmiştir. Haritalar ArcGIS Desktop 10 yazılımının ArcInfo versiyonunda Spatial Analyst aracı kullanılarak Evrensel Kriging interpolasyon yönteminin "quadratic drift" (Universal Kriging with Quadratic drift) seçenekleri ile oluşturulmuştur. Harita oluşturmada kullanılan ırkların lokasyon bilgileri toplanan bireylerin

koordinasyonları (TÜRKHAYGEN-I kapsamında veriler toplanmıştı) ortalama değerleri alınarak hesaplanmış ve aşağıda (Tablo.3.3.3.1) ondalık sayı olarak verilmiştir.

Tablo 3.3.3.1. Dünya Jeodetik (1984) sistemine göre ırkların lokasyon bilgileri

	Boylam(X;Doğu)	Enlem(Y;Kuzey)
NORDUZ	43.51333333	38.075
ÇİNE ÇAPARI	27.83333333	37.62666667
DAĞLIÇ	30.44777778	38.41444444
HERİK	35.4966118	40.82033529
KIVIRCIK	27.50695	41.86985
AKKARAMAN-1	32.86665	37.916625
SAKIZ	26.3508125	38.2956625
İVESİ	39.02833333	37.07
MORKARAMAN	41.827072	39.841484
HEMŞİN	42.0305136	41.19721364
KARAGÜL	36.349125	40.394
KARAYAKA	36.6369643	40.46729286
GÖKÇEADA	25.93656	40.20446
GÜNEY KARAMAN	31.87885	36.9704175

3.3.4. Nötralite testleri

PrP gen sekansları kullanılarak Tajima'nın D (Tajima, 1989) ve Fu'nun F_s (Fu, 1997) testi üç farklı paket programda hesaplanmıştır. Bu programlar MEGA 5 (Tamura ve ark., ., 2011), Arlequin 3.11 (Excoffier ve ark.,2005) ve DnaSP v.5 (Librado and Rozas, 2009)' dir. Test sonuçları ile birlikte verilmeyen anlamlılık değerleri hesaplaması için (MEGA 5 ve DnaSP v.5) sırasıyla Tajima'nın 1989 çalışmasındaki Tablo-2 ve DnaSP v.5 programı içerisine uygulanmış 'Coalescent Simulasyon' aracı kullanılmıştır. Ayrıca Arlequin programının

nötralite testleri anlamlılık değerleri hesaplanmasında 'coalescent simulasyon' yaklaşımını kullandığı bilinmektedir.

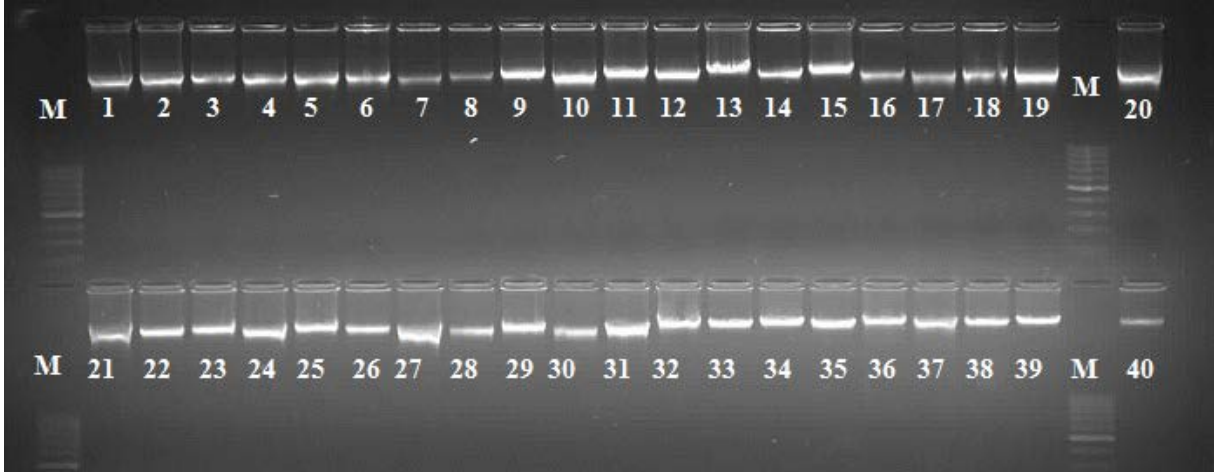
3.3.5. Lojistik Regresyon Analizi;

“Bu hastalığın bilinmeyen bir çok sorusunun bazı cevapları karşılaştırmalı çalışmalar ile ortaya çıkarılabilir” ve “çok sayıda sekans ile yapılan incelemeler bazı özgün bulgulara yol açabilir” kanısıyla lojistik regresyon (Özdamar, 2002; SAS Windows 9.2) analizi uygulanmıştır.

4.BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. DNA izolasyonu, PZR Uygulamaları ve Sekanslama

Çalışılan ırklardan Güney Karaman ırkına ait bireylerin kan örnekleri bu proje kapsamında toplanmış ve DNA'ları fenol – kloroform izoamil alkol metoduna göre izole edilmiştir (Sambrook ve ark., 1989). İzolasyon sonrası DNA'lar %0.8'lik agaroz jelde elektroforez uygulanarak görülebilir hale getirilerek izolasyonun başarılı bir şekilde yapıldığı gözlenmiştir (Şekil.4.1.1).



Şekil.4.1.1. İzole edilen Güney Karaman ırkına ait bireylerin DNA'larının %0.8'lik jelde görünüşleri

Proje kapsamında çalışılan tüm bireyler 136, 141, 154 ve 171. kodonları da içine alan 745 bç'lik hedef bölgenin çoğaltılması amacıyla PZR yöntemi uygulanmış ve 745 bç'lik gen bölgesi başarılı bir şekilde çoğaltılmış ve DNA dizilimleri elde edilmiştir.

4.2. PrP Gen Bölgesi Gen ve Genotip Frekansları

Çalışmada toplam 15 populyasyondan (Norduz, Çineçaparı, Dağlıç, Herik, Kıvırcık, Akkaraman (TURKHAYGEN-I örnekleri ve önceki dönemlerde yapılan örnekleme), Sakız,

İvesi, Morkaraman, Hemşin, Karagül, Karayaka, Gökçeada ve Güney Karaman) oluşan 655 bireyde PrP gen bölgesi polimorfizmleri incelenmiştir.

Klasik ve atipik skrapie hastalığına duyarlılık açısından önemli olan 136, 141, 154 ve 171. kodonlardaki nükleotidlerin Türkiye koyun ırklarında görülen polimorfizmleri Tablo 4.2.1'de özetlenmiştir.

Tablo 4.2.1.Türkiye koyun ırklarında 136, 141, 154 ve 171. kodonlarda görülen polimorfik nükleotidler ve kodonlara karşılık gelen aminoasitler. Yaban tipine göre farklılaşan nükleotidler kırmızı olarak yazılmıştır.

KODONLAR	DİZİLİM	Aminoasitler
136	GGA AGT <u>GCC</u> ATG AGC ^(yaban tipi)	Alanin (A)
	<u>ACC</u>	Treonin (T)
	<u>GTC</u>	Valine (V)
141	AGG CCT <u>CTT</u> ATA CAT ^(yaban tipi)	Lösin (L)
	<u>ITT</u>	Fenilalanin (F)
154	TAC TAT <u>CGT</u> GAA AAC ^(yaban tipi)	Arginin (R)
	<u>CAT</u>	Histidin (H)
171	GTG GAT <u>CAG</u> TAT AGT ^(yaban tipi)	Glutamin (Q)
	<u>CAT</u>	Histidin (H)
	<u>CGG</u>	Arginin (R)
	<u>AAG</u>	Lysine (K)

Çalışılan populasyonlardaki gözlenen varyasyonların sonuçları incelendiğinde, farklı ülkelerde çeşitli koyun ırklarıyla yapılmış olan araştırmalarda klasik ve atipik skrapide yaygın olarak gözlemlenen varyantların (ALRQ, ALRH, ALRR, AFRQ, ALHQ ve VLRQ) tümü bu araştırmada da 136, 141, 154 ve 171. kodonlarda görüldüğü saptanmıştır. Bu allellerin

dışında nadir olarak görülen ALRK, TLRQ, TLRH, TLHQ, ALHH, ALHR, AFRH, VLRR ve VLRH haplotip alleleri yine bu çalışmada düşük frekanslarda da olsa gözlemlenmiştir.

4.2.1. Klasik Skrapi Gen Frekansları

Önce klasik scrapi açısından (136, 154, 171 inci kodonlar) tüm ırk örnekleri için sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde, Türkiye koyun ırkından toplam 655 bireyde 13 farklı haplotip (Tablo.4.2.1.1), saptanmıştır.

Tablo.4.2.1.1. PrP lokusundaki haplotip frekansları (klasik skrapi: 136, 154 ve 171. kodonlarına göre).

Haplotip	NOR	CIC	DAG	HER	KIV	AKK-1	AKK-2	SAK	IVE	MOR	HEM	KRG	KRY	GÖK	GK	Toplam
AHQ	0.0244		0.0682	0.0222	0.0732			0.1375		0.0102				0.0426	0.0114	0.023
AHR														0.0319		0.002
ARH	0.1585	0.0349	0.1136	0.0222	0.0732	0.1630	0.4038	0.0500	0.1957	0.2041	0.1190	0.0952	0.0930	0.0426	0.1705	0.129
AHH										0.0102						0.001
ARK		0.0233	0.0114			0.0217		0.0125	0.0326	0.0204						0.008
TRH														0.0233		0.002
VRH					0.0122											0.001
ARQ	0.7561	0.6395	0.5795	0.7000	0.5244	0.5652	0.5000	0.6625	0.6630	0.6020	0.6786	0.6905	0.5465	0.3617	0.6818	0.609
THQ								0.0125								0.001
TRQ	0.0122	0.0233		0.0778		0.0326		0.0125	0.0326	0.0102		0.1071				0.021
VRQ		0.0465	0.0114		0.0488								0.0698	0.0106		0.010
ARR	0.0488	0.2326	0.2159	0.1778	0.2683	0.2174	0.0962	0.1125	0.0761	0.1429	0.2024	0.1071	0.2558	0.5106	0.1364	0.194
VRR													0.0116			0.001
n	42	43	44	45	41	46	26	40	46	49	42	42	43	47	44	
Haplotipsayısı	5	6	6	5	6	5	3	7	5	7	3	4	6	6	4	

İrk kısaltmaları Tablo 3.1.1'de verildiği gibidir.

Klasik skrapi açısından önemli olan 3 kodona ait haplotip allellerinin özetlendiği Tablo.4.2.1.1'deki sonuçlar incelendiğinde, Türkiye koyun ırklarında en yaygın olan allelin ARQ olduğu ve frekansının 0.7561 (NOR) ile 0.3617 (GÖK) arasında değiştiği görülmektedir. Çalışılan koyun ırklarında skrapi hastalığına karşı en dirençli allel olarak kabul edilen ikinci sırada yaygın olan ARR allelinin dağılımının 0.5106 (GÖK) ile 0.0488 (NOR) aralığında, üçüncü sırada yaygın olan ARH allelinin ise 0.4038 (AKK-2) ile 0.0222 (HER) arasında değişim gösterdiği belirlenmiştir. Genel olarak tüm ırklar bir arada değerlendirildiğinde ARQ ARR ve ARH haplotiplerinin diğer ülkelerde çeşitli koyun ırklarıyla yapılan çalışmalarda olduğu gibi yaygın alleller olduğu belirlenmiştir (Lipsky ve ark., 2008; Hagenaaars ve ark., 2010; Tsunoda ve ark., 2010, Lan ve ark., 2006; Ianella ve ark., 2011). Çalışılan ırklardan sadece Gökçeada ırkı hariç diğer tüm ırklarda ARQ alleli predominant iken, Gökçeada ırkında ARR alleli predominant olarak belirlenmiştir. Özellikle ARQ haplotipinin yaygın allel olması, ARQ allelinin yabancı allel olduğu ve bilinen diğer haplotip allellerinin de ARQ allelini kodlayan gen bölgelerinde nokta mutasyonları sonucu meydana geldiği (Tranulis, 2002) varsayımını da destekler niteliktedir. Gökçeada bir ada populasyonu olarak rastlantısal genetik salınmadan çok etkilendiği için ARQ allelini diğer ırklardan farklı frekans sıralaması sergilemekte olabilir.

Türkiye koyun ırklarından 8'inde gözlemlenen AHQ allellerinin dağılımı incelendiğinde; en yüksek değer AHQ alleli için Sakız ırkında (0,1375) en düşük değer ise Güney Karaman (0,0114) ırkında olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde 8 ırkta gözlemlenen TRQ allelinin ise en yüksek değer Karagül ırkında (0,1071) en düşük değer ise Morkaraman (0,0102) ırkında olduğu görülmektedir.

Klasik skrapi hastalığına karşı en hassas allel olarak kabul edilen VRQ allelinin Türkiye yerli koyun ırklarındaki dağılımının ise 0,0698 (KRY) ila 0.0106 (GÖK) arasında düşük frekanslarda değişim gösterdiği ve sadece çalışılan 5 ırkta (ÇİÇ, DAG, KIV, KRY ve GÖK) görüldüğü belirlenmiştir.

Koyunlarda yaygın olarak bulunduğu bildirilen 5 haplotip allelinin (ARR; ARQ, ARH, AHQ ve VRQ) tamamı Kıvırcık ve Gökçeada ırklarında saptanmıştır. Bu haplotip allelleri arasında skrapi hastalığı açısından en dayanıklı olduğu bildirilen ARR allelinin frekansının Gökçeada ırkında Kıvırcık ırkına oranla daha yüksek olduğu (0.5106) belirlenmiştir. Benzer sonuca Öner ve ark.(2011)'nin çalışmasında da rastlanmaktadır. Skrapi hastalığı açısından duyarlı allel olarak kabul edilen VRQ allelinin frekansı diğer ırklara (Kıvırcık, Karayaka ve Çine çaparı) oranla Gökçeada ırkında düşük olmakla birlikte (%1,06) bu araştırmada ele alınan ve VRQ alleleline hiç rastlanmayan diğer ırklara göre yüksek sayılabilecek bir orandır. Ayrıca Gökçeada koyun ırkında diğer ırklarda hiç görülmeyen AHR allelinin (0,0319) olduğu belirlenmiştir. Literatür verileri incelendiğinde bu allele, Almanya'da yapılan bir çalışmada ilk defa Texel, Nolana ve Suffolk ırklarında düşük frekanslarda rastlanmaktadır (Kutzer ve ark., 2002). Aynı çalışmada, Türkiye koyun ırklarından sadece Karayaka koyun ırkında rastlanan VRR (0.0116) alleleline ilk defa yine aynı ırklarda düşük frekanslarda rastlanmaktadır (Kutzer ve ark., 2002). VRR alleleline daha sonra Amerika'da yetiştirilen 21 koyun ırkında yapılan bir çalışmada bilinmeyen olarak (unknown) tanımlanmış bir grupta düşük frekanslarda (0.0129) rastlanmaktadır (DeSilva ve ark., 2003). Kıvırcık ırkında da birçok koyun ırkında yaygın olarak gözlenen ARQ, ARR, ARH, AHQ ve VRQ haplotip allellerin tümü saptanmıştır. Ayrıca Kıvırcık koyun ırkında diğer ırklarda hiç görülmeyen VRH allelinin (0.0122) olduğu belirlenmiştir. Bu allele Romanya Turcana koyun ırkında yapılan bir çalışmada (Coşier ve ark., 2011)'da düşük frekanslarda (0.004) rastlanmaktadır.

Gökçeada ve Kıvrıkcık ırklarında görülen VRR ve VRH allellerinin yanısıra Morkaraman (AHH), Karayaka (TRH) ve Sakız(THQ) ırklarına ait bireylerde görülen 3 farklı allel düşük frekanslarda gözlenmiştir. Morkaraman ırkında görülen AHH alleleline (0.0102), Sakız koyun ırkında (0.0075) (Elmacı ve ark., 2009) ve Çin'de 10 ırkta yapılan bir çalışmada (Chen ve ark., 2010) Çin merinoslarına ait grupta (0.0017) rastlanmıştır. Karayaka koyun ırkında gözlemlenen TRH alleleline (0.0233) ise, Elmacı ve ark. (2009) tarafından yapılan çalışmada Sakız ırkında (0,0037) düşük frekanslarda rastlanmıştır. Sakız ırkına ait bireylerde gözlemlenen THQ alleli (0.0125) ise sadece Sakız ırkında bu çalışmada görülmüş, literatürde bu allele daha önce hiç rastlanmamıştır. Sakız ırkında başka hiçbir ırkta görülmemiş olan Y-kromozom haplotipi H12 'nin de var olması (Meadows ve Kijas 2009) Sakız ırkının izole ve farklı bir ırk olduğu yönünde kanıt oluşturmaktadır.

Bu proje kapsamında üzerinde durulan koyun ırkları arasında en fazla haplotip alleli Sakız ve Morkaraman koyun ırkında gözlenmiş ve toplam olarak 7 adet haplotip alleli belirlenmiştir. Sakız ırkında THQ, Morkaraman ırkında ise AHH alleli hariç diğer alleller (ARQ, ARR, AHQ, ARH, ARK ve TRQ) her iki popülasyonda farklı frekanslarda görülen ortak allellerdir.

Farklı ülkelerde yetiştirilen koyun ırklarında yapılan çalışmaların haplotip allellerinin frekansları Tablo.4.2.1.2'de verilmiştir. Bu sonuçlar değerlendirildiğinde Asya ülkelerinde en yaygın olan allellerin ARR, ARQ ve ARH olduğu, diğer allellerin (AHQ ve VRQ) daha düşük frekanslarda görüldüğü dikkati çekmektedir. AHQ alleli; Pakistan, Çin, Moğolistan ve Nepal'de nispeten düşük frekanslarda yer almaktadır (0.005 ila 0.030). VRQ allel sonuçları incelendiğinde İran, Çin, Moğolistan, Burma ve Bhutan ırklarında düşük frekanslarda da olsa görülmektedir (0.002 ila 0.031 arası). Türkiye ırklarında gözlemlenen ARK alleli, yalnızca Çin ve Moğolistan'da görülmüş olup diğer Asya ülkelerinde görülmemiştir. Türkiye yerli koyunlarında da görülen TRQ alleli, Asya ülkelerinden sadece Çin'de gözlemlenmiştir.

Türkiye yerli koyun ırklarında hiç görülmeyen 2 farklı allel (TRR ve TRK) mevcut olup, bu alleller sadece Çin'de gözlemlenmiştir.

Avrupa ırklarında yapılan çalışmaların sonuçları incelendiğinde, en yaygın olan allellerin ARR, ARQ, ARH, AHQ ve VRQ olduğu dikkati çekmektedir. Bu allellerin dışında düşük frekanslarda gözlemlenen alleller, ALQ, ARK ve TRR allelidir. ALQ alleleline sadece İspanyada yapılan bir çalışmada rastlanmıştır diğer 5 çalışmada bu allel görülmemiştir. ARK alleleline İtalya, Yunanistan ve Romanya'da yapılan çalışmalarda düşük frekanslarda rastlanmıştır. TRR alleleline ise sadece Romanya'da yapılan bir çalışmada rastlanmıştır (Constantinescu ve ark., 2009). TRR alleleline birde Asya ülkelerinden biri olan Çin'de rastlanmaktadır. Salt Çin ya da İspanya'da gözlenen nadir alleller koyunların bu uç bölgelere gitmesi / varması esnasında ortaya çıkmış mutasyonlar olabilir. Hem Çin hem Romanya'da görülen nadir alleller bağımsız mutasyonların aynı sonuçları olduğu gibi Çin ile Romanya koyunları açısından bir bağıın varlığına da işaret ediyor olabilir.

Güney Amerika ülkelerinde yapılan çalışmaların sonuçları incelendiğinde de en yaygın görülen allellerin ARR, ARQ, AHQ ve VRQ olduğu ve başka allel olmadığı dikkat çekmektedir. İzlanda'da yapılan çalışma incelendiğinde de ARR allelinin hiç görülmediği en yaygın olan allellerin sırasıyla ARQ, VRQ ve AHQ olduğu belirlenmiştir. Afrika ırklarına bakıldığında gözlemlenen en yaygın allellerin sırasıyla ARQ ve AHQ olduğu dikkati çekmektedir. Ayrıca düşük frekanslarda da olsa ARR ve ARH allellerine de rastlanmıştır. Türkiye ırklarında diğer araştırmacılar tarafından yapılan çalışma sonuçları incelendiğinde en yaygın olan allellerin sırası ile ARQ, ARR, ARH, TRQ, VRQ ve ARK allelinin görüldüğü belirlenmiştir.

Tablo.4.2.1.2. Farklı ülkelerde yapılan araştırmalarda elde edilen PrP lokusundaki klasik haplotip frekansları

Ülke (ırk)	Haplotip Allel Frekansları										Kaynak
ASYA											
	ARR	ARQ	ARH	AHQ	VRQ	TRQ	ALQ	ARK	TRR	TRK	
Pakistan (9)	0.06	0.750	0.16	0.030	-	-	-	-	-	-	Babar ve ark., 2008
Pakistan (9)	0,065	0,733	0,167	0,025	-	-	-	-	-	-	Babar ve ark., 2009
İran (1)	0,216	0,678	0,10	-	0,006	-	-	-	-	-	Karami ve ark., 2011
Çin (1)	0,090	0,752	0,126	0,023	-	-	-	0,009	-	-	Lan ve ark., 2006
Çin (1)	0,183	0,577	0,097	0,005	0,002	0,066	-	0,058	0,005	0,002	Guan ve ark., 2011
Çin (2)	0,067	0,866	-	-	-	-	-	0,067	-	-	Han ve ark., 2011
Çin(3)	0,081	0,842	0,077	-	-	-	-	-	-	-	Tsunoda ve ark., 2010
Moğolistan (4)	0,158	0,777	0,038	0,0112	0,014	-	-	0,001	-	-	Gombojav ve ark., 2003
Moğolistan (3)	0,096	0,844	0,044	-	-	-	-	0,015	-	-	Wang ve ark., 2008
Moğolistan (1)	0,132	0,770	0,086	0,006	0,006	-	-	-	-	-	Tsunoda ve ark., 2010
Vietnam(1)	-	1,00	-	-	-	-	-	-	-	-	Tsunoda ve ark., 2010
Nepal (4)	0,005	0,901	0,079	0,0150	-	-	-	-	-	-	Tsunoda ve ark., 2010
Myanmar (1)	0,007	0,968	0,013	-	0,013	-	-	-	-	-	Tsunoda ve ark., 2010
Bhutan(3)	0,042	0,917	0,010	-	0,031	-	-	-	-	-	Tsunoda ve ark., 2010
Kuveyt (1)	0.167	0.524	0.310	-	-	-	-	-	-	-	Tsunoda ve ark., 2010
AVRUPA											
	ARR	ARQ	ARH	AHQ	VRQ	TRQ	ALQ	ARK	TRR	TRK	
Almanya(5)	0,343	0,556	0,013	0,0758	0,010	-	-	-	-	-	Drögemüller ve ark., 2001
Almanya(9)	0.376	0.483	0.020	0,116	0.007	-	-	-	-	-	Lipsky ve ark., 2008
Almanya (2)	0.168	0.727	0.0015	0.101	0.0020	-	-	-	-	-	Lühken ve ark., 2004
Avusturya (4)	0,207	0,680	0,029	0,0742	0,010	-	-	-	-	-	Sipos ve ark., 2002
Bulgaristan (8)	0,354	0,528	0,014	0,0688	0,048	-	-	-	-	-	Sirakov ve ark., 2011
Fransa (29)	0,426	0,493	-	0,028	0,053	-	-	-	-	-	François ve ark., 2003
Hollanda(1)	0.479	0.428	-	0.028	0.065	-	-	-	-	-	Hagenaars ve ark., 2010
İngiltere(11)	0,499	0,312	0,070	0,0855	0,036	-	-	-	-	-	Roden ve ark., 2006
İngiltere(4)	0,679	0,209	0,018	0,0832	0,009	-	-	-	-	-	Boulton ve ark., 2010
İngiltere (3)	0,158	0,547	0,053	0,165	0,077	-	-	-	-	-	Tsunoda ve ark., 2010
İskoçya (2)	0,312	0,601	-	0,077	0,01	-	-	-	-	-	Sawalha ve ark., 2007
İtalya(3)	0,348	0,562	0,019	0,039	0,030	-	-	-	-	-	Van Kaam ve ark., 2008
İtalya(1)	0,083	0,744	0,041	0,038	0,068	-	-	0,025	-	-	Acutis ve ark., 2004
İtalya(2)	0,401	0,577	0,001	0,0207	-	-	-	-	-	-	Pongolini ve ark., 2009
İtalya(1)	0,024	0,658	0,023	0,041	0,043	-	-	-	-	-	Mazza ve ark., 2010

Portekiz(16)	0,273	0,646	0,014	0,028	0,037	-	-	-	-	-	Gama ve ark., 2006			
Polonya(4)	0,352	0,633	-	-	0,015	-	-	-	-	-	Wisniewska ve ark., 2006			
Polonya(4)	0,624	0,317	-	0,027	0,031	-	-	-	-	-	Wisniewska ve ark., 2009			
Romanya(9)	0,251	0,625	0,019	0,022	0,157	-	-	-	-	-	Otelea ve ark., 2011			
Romanya (1)	0.354	0.540	0.0063	0.030	0.0606	-	-	0.0079	0.0017	-	Constantinescu ve ark., 2010			
Slovenya (1)	0,174,	0,632	0,083	0,074	0,037	-	-	-	-	-	Gorjanc ve ark., 2010			
Slovenya (2)	0,186	0,655	0,045	0,083	0,031	-	-	-	-	-	Kastelic ve Kompan, 2009			
Yunanistan (2)	0.110	0.788	0.006	0.058	0.026	-	-	0.002	-	-	Ekateriniadou ve ark 2007			
İspanya(2)	0.254	0.708	-	0.004	0.033	-	-	-	-	-	Hurtado ve ark., 2002			
İspanya (1)	0.185	0.752	0.013	0.023	0.0027	-	-	-	-	-	Ponz ve ark., 2006			
İspanya(13)	0.1992	0.6942	0.035	0.028	0.0455	-	-	-	-	-	Acin ve ark., 2004			
İspanya(2)	0,216	0,700	0,042	0,0278	0,013	-	0,002	-	-	-	Alvarez ve ark., 2006			
İspanya (1)	0.182	0.759	0.029	0.0209	0.010	-	-	-	-	-	Alvarez ve ark., 2006a			
İspanya(1)	0,227	0,737	0,020	0,0026	0,012	-	-	-	-	-	Alvarez ve ark., 2007			
İspanya(3)	0,292	0,619	0,03	0,015	0,044	-	-	-	-	-	Alvarez ve ark., 2009			
GÜNEY AMERİKA														
	ARR	ARQ	ARH	AHQ	VRQ	TRQ	ALQ	ARK	TRR	TRK				
Kanada (7)	0,465	0,498	-	0,007	0,028	-	-	-	-	-	L'Homme ve ark., 2008			
Brezilya (7)	0,227	0,706	-	0,0590	0,008	-	-	-	-	-	Ianella ve ark., 2008			
İZLANDA														
	ARR	ARQ	ARH	AHQ	VRQ	TRQ	ALQ	ARK	TRR	TRK				
İzlanda (1)	-	0.789	-	0.061	0.0730	-	-	-	-	-	Thorgeirsdottir ve ark 1999			
YENİ ZELANDA														
	ARR	ARQ	ARH	AHQ	VRQ	TRQ	ALQ	ARK	TRR	TRK				
Yeni Zelanda (10)	0,471	0,432	-	0,0714	0,025	-	-	-	-	-	Bossers ve ark., 1999			
DOĞU AFRIKA														
Tanzanya (3)	-	0,871	-	0.129	-	-	-	-	-	-	Kipanyula ve ark., 2009			
Tanzanya (2)	0.006	0.846	0.0028	0.145	-	-	-	-	-	-	Kipanyula ve ark 2008			
TÜRKİYE														
	ARR	ARQ	ARH	AHQ	VRQ	TRQ	ALQ	ARK	TRR	TRK				
Türkiye (5)	0.140	0.710	0.065	-	0.015	0.045	-	0.025	-	-	Alvarez ve ark., 2011			
Türkiye (3)	0.320	0.450	0.120	0.060	0.012	0.010	-	0.001	-	-	Oner ve ark., 2011			
Türkiye (3)	0.400	0.500	0.020	0.005	0.017	0.030	-	-	-	-	Ün ve ark., 2008			
Türkiye (5)	0.060	0.770	0.100	-	0.011	0.050	-	0.005	-	-	Frootan ve ark., 2011			
	ARR	ARQ	ARH	AHQ	VRQ	TRQ	AHH	ARK	THQ	VRR	AHR	TRH	VRH	
Türkiye (14)	0.190	0.600	0.100	0.025	0.012	0.020	0.0006	0.008	0.0008	0.0007	0.002	0.001	0.0008	Sunulan proje, 2012

Sunulan projede de en yaygın olarak gözlemlenen alleller, ARQ, ARR ve ARH'tir. Diğer alleller daha düşük frekanslarda gözlemlenmiştir. Türkiye'de yerli ırklarda yapılan çalışma sonuçlarını karşılaştırdığımızda en yüksek allel çeşitliliği proje kapsamında çalışılan bireylerde görülmektedir. Bunun birey sayısının fazla olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Özetle toplam allel sayısı olarak Türkiye'de 13 allel gözlenirken ondan sonra çeşitliliği fazla olarak Çin'de 9 ve Romanya'da 7 allel saptanmıştır. Bu yüksek çeşitlilik tam da beklenildiği gibi evcilleşme merkezine yakın, göçlerle zenginleşen ve skrapı geni açısından özel bir seleksiyonun uygulanmadığı Türkiye koyun ırklarında sadece 3 kodon bölgesi incelendiğinde görülmüştür

Projede ayrıca Azerbaycan'dan (n = 40), İran'dan (Herik - n = 15) ve Irak koyun ırkından (Hamdani – n = 22) örneklerin çalışılacağı belirtilmiştir. Bu ülkelerden örneklerin toplanması 2008 – 2009 yıllarında yapılmış olup, DNA örneği ağız mukozasından alınan fırça örneklerinden izole edilmiştir. Yaptığımız tüm denemeler sonrasında bu örneklerde DNA'ların çalışmadığı ve ilgili gen bölgesinin yükseltgenemediği belirlenmiştir. Elde mevcut olan fırçalardan tekrar DNA izole edilmiş (Dinç, 2003) fakat bu fırçalardan izole edilen DNA'larında çalışmadığı belirlenmiştir. Bu nedenle İran, Azerbaycan ve Irak koyun ırkları ile Türkiye yerli koyun ırklarının karşılaştırılması yapılamamıştır.

4.2.2. Çalışılan Irklarda Örneklem ve Önemi

Klasik skrapçi açısından önemli olan 3 kodona ait haplotip allellerinin Türkiye'nin Doğu, Kuzey ve Kuzeydoğusunda yetiştirilen koyun ırklarında yapılan önceki çalışmalar ile bu çalışma sonuçlarının karşılaştırılması Tablo.4.2.2.1'de yapılmıştır.

Tablo.4.2.2.1'deki sonuçlar incelendiğinde, 6 yerli koyun ırkında da yaygın olan allelin ARQ olduğu, ARR allelinin ise tüm ırklarda farklı frekanslarda dağılım gösterdiği belirlenmiştir. Proje kapsamında çalışılan Morkaraman ve Dağlıç ırkına ait örneklerde AHQ alleli (sırasıyla 0.0102 ve 0,0682) düşük frekansta görülmüş olup diğer üç çalışmada (Alvarez ve ark., 2011; Frootan ve ark., 2011, Lühken ve ark., 2008) incelenen popülasyonlardan sadece Dağlıç ırkına ait örneklerde (Lühken ve ark., 2008) bu allel görülmüştür (0.032). VRQ alleli sonuçlarını incelediğimizde, Akkaraman ırkında 4 çalışmada da bu allel hiç görülmezken, Karayaka ırkında iki çalışmada düşük frekanslarda görülmüş, Lühken ve ark.'nın (2008) çalışmasında kullanılan örneklerde VRQ alleleline rastlanmamıştır. Hemşin ırkında ise, Alvarez ve ark., 2011'nin çalışmasında VRQ alleli (0.043) gözlemlenmiş, proje kapsamında çalışılan bireylerin sayısı fazla olmasına rağmen hiç VRQ alleli taşıyan bireye rastlanılmamıştır. Morkaraman ırkında 2 çalışmada (Alvarez ve ark., 2011, Frootan ve ark., 2011) VRQ alleleline sahip bireyler görülmüş, fakat proje kapsamında çalışılan 49 bireyde ve Lühken ve ark.'nın çalışmasında bu allele sahip genotip hiç görülmemiştir. Frootan ve ark., (2011)'nin çalışmasında İvesi ırkına ait bireylerde VRQ alleli görülmesine rağmen, proje kapsamında daha fazla birey incelenmiş fakat bu alleleline rastlanmamıştır. Lühken ve ark.(2008)'nin çalışmasında Dağlıç ırkına ait bireylerde VRQ alleli görülmezken, proje kapsamında çalışılan bireylerde VRQ alleli taşıyan bireylere rastlanmıştır.

Tablo.4.2.2.1. Akkaraman, Karayaka, Hemşin, Morkaraman İvesi ve Dağlıç koyun ırklarında yapılan çalışmalar ve sonuçları

İrk	Allel	Türkiye İrklarında yapılan çalışmalar				
		Alvarez ve ark., 2011	Frootan ve ark., 2011	Lühken ve ark., 2008	Sunulan çalışma, 2012	
					AKK1	AKK2
Akkaraman	ARQ	0.786		0.529	0.5532	0.5000
	ARR	0.048		0.088	0.2128	0.0962
	AHQ	-		-	-	-
	VRQ	-		-	-	-
	ARH	0.119		0.382	0.1702	0.4038
	TRQ	0.024		-	0.0319	-
	ARK	0.024		-	0.0319	-
	n	21		17	48	31
Karayaka	ARQ	0.605		0.733	0.5697	
	ARR	0.211		0.250	0.2558	
	AHQ	-		-	-	
	VRQ	0.026		-	0.0465	
	ARH	-		-	0.0930	
	TRQ	0.158		-	-	
	ARK	-		0.0167	-	
	TRH	-		-	0.0233	
	VRR	-		-	0.0116	
n	19		30	43		
Hemşin	ARQ	0.804			0.6786	
	ARR	0.109			0.2024	
	AHQ	-			-	
	VRQ	0.043			-	
	ARH	0.043			0.1190	
	TRQ	-			-	
	ARK	-			-	
n	23			42		
Morkaraman	ARQ	0.650	0.6216	0.774	0.5816	
	ARR	0.150	0.1756	0.226	0.1429	
	AHQ	-	-	-	0.0102	
	VRQ	0.025	0.0405	-	-	
	ARH	0.015	0.1216	-	0.2245	
	TRQ	0.025	0.0270	-	0.0102	
	ARK	-	0.0135	-	0.0204	
	AHH	-	-	-	0.0102	
n	20	37	31	49		
İvesi	ARQ		0.7500		0.6413	
	ARR		0.0625		0.0761	
	AHQ		-		-	
	VRQ		0.0156		-	
	ARH		0.1562		0.2391	
	TRQ		-		0.0326	
	ARK		0.0156		0.0319	
	n		32		46	
Dağlıç	ARQ			0.806	0,5795	
	ARR			0.161	0,2159	
	AHQ			0.032	0,0682	
	VRQ			-	0,0114	
	ARH			-	0,1136	
	TRQ			-	-	
	ARK			-	0,0114	
	n			31	44	

ARH alleli sonuçlarını karşılaştırdığımızda, Alvarez ve ark.(2011) ve Luhken ve ark.(2008)'nin çalışmasında Karayaka ırkında bu allele hiç rastlanmazken proje kapsamında çalışılan (0.0930) bireylerde bu allel görülmüştür. Benzer şekilde Dağlıç ırkının çalışıldığı Lühken ve ark.(2008)'nin çalışmasında ARH alleli hiç görülmemiş fakat proje kapsamında çalışılan bireylerde nispeten yüksek sayılabilecek frekansta (0.1136) bu allel gözlemlenmiştir. Farklı çalışmalarda incelenen populasyonların diğerlerinde değişen frekanslarda ARH allelinin varlığı dikkati çekmektedir.

TRQ allel sonuçları değerlendirildiğinde, Akkaraman ırkında AKK-1 populasyonu ile Alvarez ve ark.,(2011)'nin çalışmasında kullanılan popülasyonda düşük frekanslarda görülmüş fakat AKK-2'de bu allele hiç rastlanmamıştır. Karayaka ırkında Alvarez ve ark.(2011)'nin çalışmasında nispeten yüksek denilebilecek frekansta (0.158) TRQ alleli görülürken proje kapsamında daha fazla birey ile çalışılmasına rağmen bu allele hiç rastlanmamıştır. Morkaraman ırkında 3 çalışmada da TRQ alleleline düşük frekanslarda rastlanmış, fakat Lühken ve ark.(2008)'nin çalışmasında Morkaraman ırkında bu allele hiç rastlanmamıştır. İvesi ırkına ait sonuçlar incelendiğinde ise TRQ alleli Frootan ve ark., (2011)'nin çalışmasında görülmezken bu çalışma kapsamında çalışılan bireylerde bu allele rastlanmaktadır.

ARK alleli Akkaraman ırkında, AKK-1 populasyonu ile Alvarez ve ark.(2011)'nin çalışmasında incelenen popülasyonda görülmüş olup; AKK-2 ve Hemşin ırklarında bu allele rastlanmamıştır. Karayaka ırkına ait sonuçlar incelendiğinde, Lühken ve ark.(2008)'nin çalışmasında ARK alleleline sahip bireyler görülmüşken diğer iki çalışmada bu allele rastlanmamıştır. Morkaraman ırkında ARK allel değişimi incelendiğinde, Alvarez ve ark.(2011) ve Lühken ve ark.(2008)'nin çalışmasında bu allel hiç görülmezken diğer iki çalışmada bu allele düşük frekanslarda da olsa rastlanmaktadır. İvesi ırkında ise her iki çalışmada da bu allele rastlanmaktadır Dağlıç ırkındaki sonuçlar incelendiğinde, Lühken ve

ark. (2008)'nin çalışmasında bu allel görülmezken proje kapsamında çalışılan bireylerde düşük frekansta da olsa gözlemlenmiştir.

Proje kapsamında çalışılan ırklarda diğer çalışmalarda gözlemlenmemiş 3 allel (TRH, VRR ve AHH) bulunmuştur. TRH ve VRR allellere proje kapsamında çalışılan Karayaka popülasyonunda, AHH allele ise Morkaraman ırkında rastlanmıştır.

Türkiye'nin batı ve kuzey batısında yetiştiriciliği yapılan 3 yerli koyun ırkında yapılan 2 farklı çalışma ve proje sonuçlarımız karşılaştırıldığında (Tablo.4.2.2.2); 3 yerli koyun ırkında da yaygın olan allelin ARQ olduğu, ARR allelinin ise tüm ırklarda farklı frekanslarda (0.5213 ila 0.1125 arasında), fakat yukarıda incelenen diğer ırklar (Akkaraman, Karayaka, Hemşin, Morkaraman İvesi ve Dağlıç) ile karşılaştırıldığında (0.2558 ila 0.048 arasında) nispeten daha yüksek olduğu belirlenmiştir. AHQ alleli sonuçları incelendiğinde Gökçeada ırkında her üç çalışmada da bu allele sahip bireyler görülürken, Kıvırcık ve Sakız ırkına ait bireylerde 2 çalışmada (Öner ve ark., 2011 ve proje sonuçları) bu allele sahip genotip görülmesine rağmen, Ün ve ark. (2008)'nin çalışmasında bu allele rastlanmamıştır. VRQ alleli incelendiğinde ise, Gökçeada ırkında Ün ve ark.'nin çalışmasında bu allele sahip bireylere rastlanmamış, diğer iki çalışmada bu allel görülmüştür. Kıvırcık ırkında üç çalışmada da bu allel gözlemlenmiştir. Sakız ırkında ise durum farklı olup proje kapsamında çalışılan bireylerde VRQ alleleline sahip birey görülmemişken diğer iki çalışmada düşük frekanslarda gözlemlenmiştir. Her üç çalışmada ARH allel sonuçları birlikte değerlendirildiğinde, Sakız ırkında her 3 çalışmada bu allel görülmüş olup, diğer iki ırkta (Gökçeada ve Kıvırcık) sadece 2 çalışmada bu allele sahip bireylere rastlanmıştır. Ün ve ark.'nin (2008) çalışmasında ARH alleleline sahip bireylere rastlanmamıştır.

Tablo.4.2.2.2. Gökçeada, Sakız ve Kıvırcık koyun ırklarında yapılan çalışmalar ve sonuçları

İrk	Allel	Türkiye İrklarında yapılan çalışmalar		
		Öner ve ark., 2011	Un ve ark., 2008	Bu çalışma, 2012
Gökçeada	ARQ	0.4014	0.7419	0.3511
	ARR	0.5000	0.2419	0.5213
	AHQ	0.0578	0.0161	0.0426
	VRQ	0.0238	-	0.0106
	ARH	0.0170	-	0.0532
	TRQ	-	-	-
	ARK	-	-	-
	AHR	-	-	0.0213
	n	147	31	47
Kıvırcık	ARQ	0.5669	0.5114	0.5244
	ARR	0.1725	0.4205	0.2683
	AHQ	0.0563	-	0.0732
	VRQ	0.0035	0.0341	0.0488
	ARH	0.1972	-	0.0732
	TRQ	-	0.0341	-
	ARK	0.0035	-	-
	VRH	-	-	0.0122
	n	142	44	41
Sakız	ARQ	0.3952	0.2941	0.7000
	ARR	0.3064	0.5588	0.1125
	AHQ	0.0685	-	0.1000
	VRQ	0.0081	0.0147	-
	ARH	0.1774	0.0588	0.0500
	TRQ	0.0444	0.0735	0.0125
	ARK	-	-	0.0125
	THQ	-	-	0.0125
	n	124	34	40

Gökçeada ırkındaki TRQ ve ARK allel sonuçları değerlendirildiğinde, her üç çalışmada da bu allellere rastlanmamıştır. Kıvırcık ırkında, Ün ve ark.'nın (2008) çalışmasında TRQ alleli görülmüş olup diğer iki çalışmada bu alleli taşıyan bireylere rastlanmamıştır. Aynı şekilde Kıvırcık ırkında ARK alleleline sadece Öner ve ark.'nın (2011) çalışmasında rastlanmış olup diğer iki çalışmada bu allele rastlanmamıştır. Sakız ırkında ise her üç çalışmada da TRQ alleli gözlemlenmişken, ARK alleleline sadece proje kapsamında çalışılan bireylerde rastlanmıştır.

Türkiye yerli ırklarında yapılan diğer çalışma sonuçları ile proje sonuçları birlikte değerlendirildiğinde, frekansı genelde yüksek olan alleller daima gözlenirken örnelemeye

bağlı olarak allel sayısı ve dağılımının değiştiği görülmektedir. Bazı ırklarda (örn: Morkaraman ARH alleli) nispeten yüksek frekansta olan bir allelin (0.2245) bir başka çalışmada yapılan örneklemede frekansının oldukça düşük (0.015) olduğu görülmektedir. Bu durum Türkiye yerli ırklarında PrP gen bölgesi için saptanan varyasyonunun örnekleme göre farklılıklar sergileyeceğini göstermektedir.

4.2.3. Klasik Skrapi Genotip Frekansları

Çalışmada toplam 14 farklı ırktan 655 bireyde PrP gen bölgesi içerisinde klasik skrapi açısından önemli olan 136, 154 ve 174. kodonlardaki polimorfizmleri incelenmiş olup (Norduz, Çineçaparı, Dağlıç, Herik, Kıvırcık, Akkaraman, Sakız, İvesi, Morkaraman, Hemşin, Karagül, Karayaka, Gökçeada ve Güney Karaman) bu ırklarda 25 farklı genotip gözlemlenmiş ve klasik skrapi risk gruplarına göre sonuçlar Tablo.4.2.3.2’de verilmiştir. Ayrıca çalışılan ırkların klasik skrapi genotipleri açısından Hardy –Weinberg dengesinde olup olmadıkları yönünden sonuçlar incelenmiş ve dengeden sapmaları ile ilgili olarak F_{IS} ölçüt değerleri Tablo.4.2.3.1’de sunulmuştur.

Tablo.4.2.3.1. Proje kapsamında çalışılan ırkların Hardy-Weinberg dengesinden sapma durumlarının F_{IS} ölçütü ile incelenmesi.

Klasik Skrapi	
İrklar	F_{IS} değeri
Norduz	0.601***
Çineçaparı	0.312**
Dağlıç	0.428***
Herik	0.350**
Kıvırcık	0.551***
Akkaraman-1	0.730***
Akkaraman-2	0.743***
Sakız	0.347**
İvesi	0.797***
Morkaraman	0.558***
Hemşin	0.663***
Karagül	0.597***
Karayaka	0.433***
Gökçeada	0.617***
Güney Karaman	0.680***

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$; NS anlamlı değil

F_{IS} değerleri FSTAT paket programı (Goudet, 1995) ile hesaplanmıştır. Bonferroni düzeltmesi uygulanmıştır.

Tablo 4.2.3.1'deki sonuçlar incelendiğinde tüm ırklarda değerler pozitif (heterozigot eksikliği vardır) olup hepsinde sapma anlamlıdır ($0.01 < p < 0.001$). Gözlemlerden, ya ırk örneklerinin oldukça izole alt gruplardan olduğu (Wahlung etkisi) ya da az sayıda erkek kullanılmasından ve bunun neticesinde ırkların küçük etkin populasyon sayısında olduğu sonucu çıkarılabilir. Aynı şekilde anlamlı sapmalar ner ve ark. (2011)'nin çalışmasında da gözlenmiştir.

Genotipler tablosu (Tablo.4.2.3.2) sonuçları incelendiğinde, proje kapsamında çalışılan tüm ırklarda ARR/ARR, ARR / ARQ ve ARQ/ARQ genotiplerinin farklı frekanslarda dağılım gösterdiği gözlenmiştir. Türkiye yerli ırklarında en yaygın olarak gözlenen ARQ/ARQ genotipi olup, bu genotip için frekansı en yüksek olan ırk Norduz (0,6667), en düşük olan ırk ise Gökçeada (0,2766) ırkı olmuştur. Diğer genotipler ırklara göre varyasyon göstermektedir. Dünya lkelerinde (Asya, Avrupa ve Afrika) farklı koyun ırklarında ilgili gen bölgesine ilişkin benzer çalışmalar incelendiğinde, ırkların pek çoğunda ARQ/ARQ genotipinin oldukça yüksek frekanslarda grldği belirlenmiştir (Sipos ve ark., 2002, Acin ve ark., 2004, Lipsky ve ark., 2008, Kipanyula, ve ark., 2009, Tsunoda ve ark., 2010) . Klasik skrapiye en duyarlı genotip olan VRQ / VRQ genotipinin grldği ineaparı, Kıvırcık ve Karayaka ırkında frekanslar sırası ile 0.0227, 0,0238 ve 0.0233 olarak belirlenmiştir. Dünya genelinde çalışılan populasyonlara bakıldığında, Asya ve Afrika kıtalarına ait koyun populasyonlarında VRQ/VRQ genotip frekanslarının Avrupa'daki ırklara göre göreceli olarak düşük ya da bazı populasyonlarda hiç görülmediği dikkati çekmektedir (Sipos ve ark., 2002, Acin ve ark., 2004, Lipsky ve ark., 2008, Kipanyula, ve ark., 2009, Tsunoda ve ark., 2010). Heterozigot olarak

ARQ/VRQ da skrapiye duyarlı bir genotip olup, bu genotipe yine Çineçaparı, Kıvırcık ve Karayaka ırklarında rastlanmaktadır. ARR/VRQ genotipi iki farklı ırkta (Dağlıç ve Gökçeada) , VRQ/ARQ genotipi ise üç ırkta (Çineçaparı, Kıvırcık, Karayaka) da gözlenmemiştir.

İkinci risk grubuna giren ARR/AHQ genotipi sadece, Dağlıç koyun ırkında görülmektedir. Skrapi hastalığı ile herhangi bir ilişkisi henüz bildirilmemiş olan genotipler incelendiğinde; ARR/AHR ve AHQ/AHR genotiplerinin sadece Gökçeada ırkında, ARH/TRH ve VRQ/VRR genotiplerinin ise sadece Karayaka ırkında olduğu saptanmıştır. ARH/VRH genotipi sadece Kıvırcık ırkında, ARQ/THQ genotipi sadece Sakız ırkında, ARH/AHH genotipi sadece Morkaraman ırkında saptanmıştır. Elmacı ve ark.(2009)'nın çalışmasında sadece Kıvırcık ırkında görülmüş olan ARQ/ARK genotipi bu çalışmada Çineçaparı, Dağlıç, Sakız ve İvesi ırklarında nispeten düşük frekanslarda saptanmıştır.

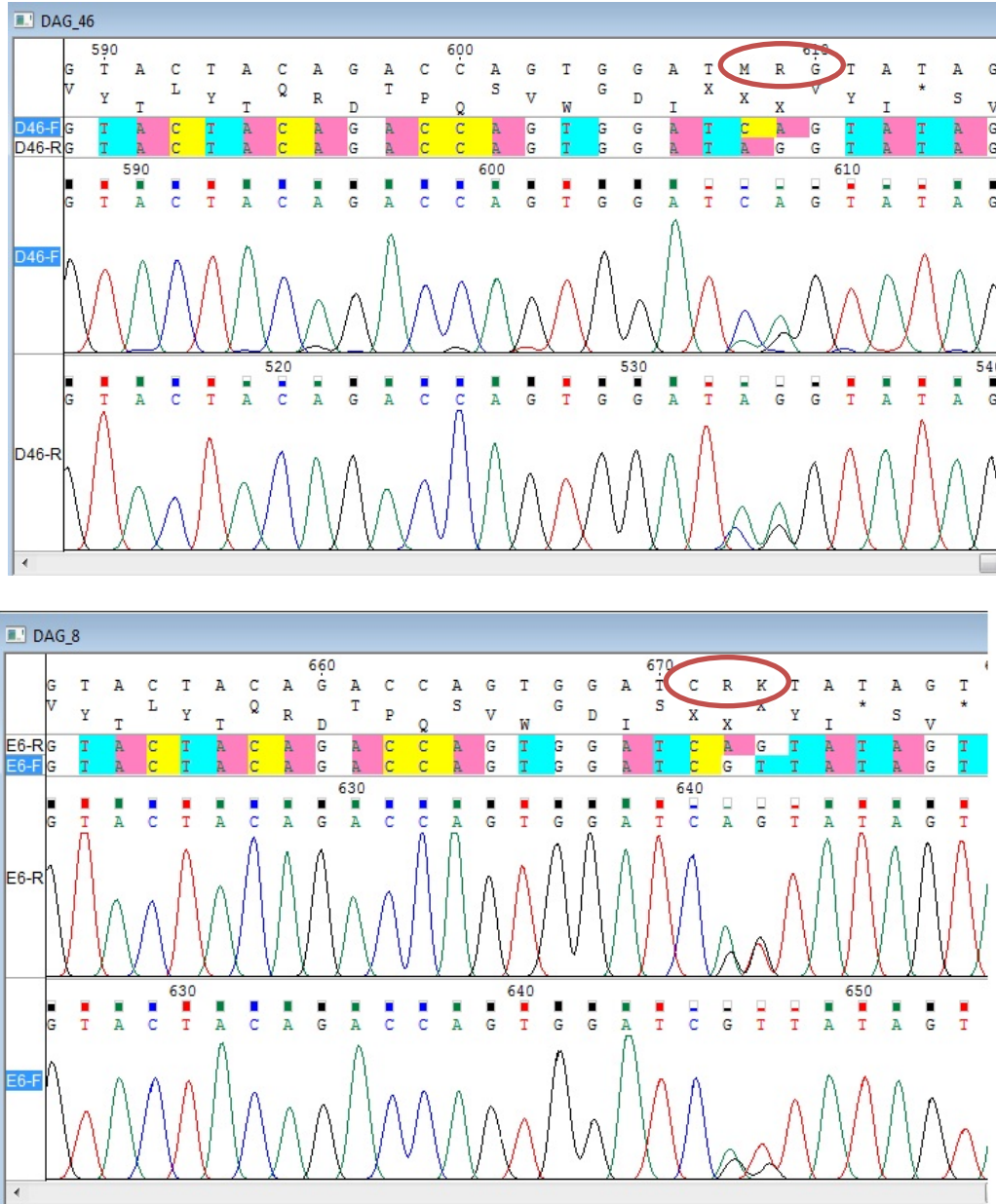
Tüm sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde, Türkiye yerli ırklarında 3. risk seviyesinde olan genotiplerin oldukça yaygın olduğu ardından 1 ve 2. risk seviyesindeki genotiplerin yaygın olduğu dikkat çekmektedir. 4. ve 5. risk seviyesindeki genotiplerin dağılımı oldukça düşük frekanslarda olup sadece 5 ırkta (Dağlıç, Gökçeada, Çineçaparı, Kıvırcık, Karayaka) görülmektedir.

Tablo. 4.2.3.2. Türkiye Koyun Irklarında Klasik Skrapi Genotip Frekansları ve Risk Gruplarına Dağılımı

Risk		NOR	ÇİÇ	DAG	HER	KIV	AKK-1	AKK-2	SAK	IVE	MOR	HEM	KRG	KRY	GÖK	GK	Toplam
R1	ARR/ARR	0,0238	0,1136	0,0851	0,0889	0,1905	0,1458	0,0645	0,0250	0,0426	0,0612	0,1190	0,0465	0,1395	0,4043	0,0667	0,117
R2	ARR/ARQ	0,0714	0,2045	0,1915	0,1556	0,1429	0,1042	0,0323	0,1500	0,0638	0,1633	0,1667	0,0930	0,2326	0,1702	0,1333	0,140
R2	ARR/ARH		0,0227				0,0208										0,006
R2	ARR/AHQ			0,0213													0,002
R2	ARR/TRQ				0,0222				0,0250				0,0233				0,005
R3	ARQ/ARQ	0,6667	0,4545	0,4043	0,5556	0,3810	0,4792	0,3548	0,5000	0,5745	0,4898	0,5952	0,5814	0,3953	0,2766	0,6000	0,498
R3	AHQ/AHQ	0,0238		0,0213		0,0476			0,0750						0,0213		0,011
R3	AHQ/ARH															0,0222	0,003
R3	ARH/ARH	0,1190	0,0227	0,1064		0,0476	0,1458	0,2903	0,0500	0,1702	0,1837	0,1190	0,0698	0,0698	0,0426	0,1556	0,106
R3	ARQ/AHQ			0,0638	0,0444	0,0476			0,1250		0,0204						0,019
R3	ARQ/ARH	0,0714			0,0444	0,0238		0,0968		0,0426	0,0204		0,0465				0,023
R3	ARQ/TRQ	0,0238	0,0455		0,0444		0,0208			0,0213	0,0204		0,0465				0,016
R3	TRQ/TRQ				0,0444		0,0208			0,0213			0,0698				0,011
R4	ARR/VRQ			0,0213											0,0213		0,002
R5	VRQ/VRQ		0,0227			0,0238								0,0233			0,003
R5	ARQ/VRQ		0,0455			0,0476								0,0698			0,011
RBD	ARR/AHR														0,0213		0,002
RBD	ARH/TRH													0,0465			0,003
RBD	ARH/VRH					0,0238											0,002
RBD	ARK/ARK						0,0208			0,0213	0,0204						0,007
RBD	ARQ/ARK		0,0455	0,0213					0,0250	0,0213							0,008
RBD	ARQ/THQ								0,0250								0,002
RBD	AHQ/AHR														0,0426		0,002
RBD	ARH/AHH									0,0204							0,002
RBD	VRQ/VRR													0,0233			0,002
	n	42	44	47	45	42	48	31	40	46	49	42	43	43	47	45	

İrk isimleri Tablo.3.1.1'de verildiği gibidir. R1- R5 risk sıralaması en az riskten en fazla riske doğru artarak. RBD: Risk grubu belli değil,

Proje kapsamında çalışılan ırklara ait sonuçlar incelendiğinde; Çineçaparı, Dağlıç, Kivırick, Akkaraman-1, Akkaraman2, Ivesi, Karagül ve Güney Karaman ırklarında 171. kodonda 2 farklı nükleotidde heterozigot olan durumun görülmesi nedeni ile bu bireylerin hangi genotiplerde olduğu belirlenememiştir (Şekil.4.2.3.1)



Şekil. 4.2.3.1. Dağlıç popülasyonunda 171. kodonda 2 farklı nükleotidde heterozigot durumun görülmesine (MRG ve CRK genotipleri) örnek.

Bu bireylerin genotiplerinin olası halleri aşağıdaki tabloda (Tablo 4.2.3.3) verilmiştir.

Tablo 4.2.3.3. Proje kapsamında çalışılan bazı bireylerde 171. kodonda 2 nükleotidin varyasyon göstermesi halindeki olası genotipler.

	136	aa	141	aa	154	aa	171	aa	ATS GENOTİPLER	KS GENOTİPLER
CRK	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CRK C(A/G)(G/T)	H/R Q/R	ALRR/ALRH ALRR/ALRQ	ARR/ARH ARR/ARQ
MRG	GCC	A	CTT	L	CGT	R	MRG (A/C)(A/G)G	K/R R/Q	ALRR/ALRK ALRR/ALRQ	ARR/ARK ARR/ARQ
MAK	GCC	A	CTT	L	CGT	R	MAK (A/C)A(G/T)	Q/K H/K	ALRQ/ALRK ALRH/ALRK	ARQ/ARK ARH/ARK

İrk isimleri Tablo.3.1.1'de verildiği gibidir. aa: Amino asit; Aminoasitler de: **A:** Alanin; **L:** Lösin; **R:** Arginin; **H:**Histidin; **Q:** Glutamin; **K:** Lisin

Atipik skrapi (ATS) ve Klasik skrapi (KS) ile ilgili genotipler (aminoasit cinsinden) son iki kolonda sunulmuştur. Tablo4.2.3.3'te görüldüğü gibi 171. kodonda **CRK MRG ve MAK** genotiplerinin görülmesi halinde farklı aminoasitlerin kodlanması söz konusu olmaktadır. Bu durum bireylerin skrapiye duyarlı ya da hassas olması halini etkilemektedir. 171. kodona göre risk sırasıyla; R > Q = H şeklindedir. Bu kodonda görülen heterozigot olma durumuna göre genotiplerin belirlenemediği ırkların dağılımı aşağıdaki tabloda verilmiştir. Bu kodonda heterozigot olan genotipler incelendiğinde en yaygın olan nükleotid değişiminin CRK olduğu, Akkaraman-1 popülasyonu hariç diğer 7 popülasyonda bu genotipe sahip bireylerin görüldüğü dikkati çekmektedir. MRG genotipine ise Dağlıç, Akkaraman-1 ve Akkaraman-2 popülasyonlarında rastlanmaktadır. MAK genotipi ise sadece Akkaraman-1 popülasyonunda gözlemlenmiştir (Tablo.4.2.3.4).

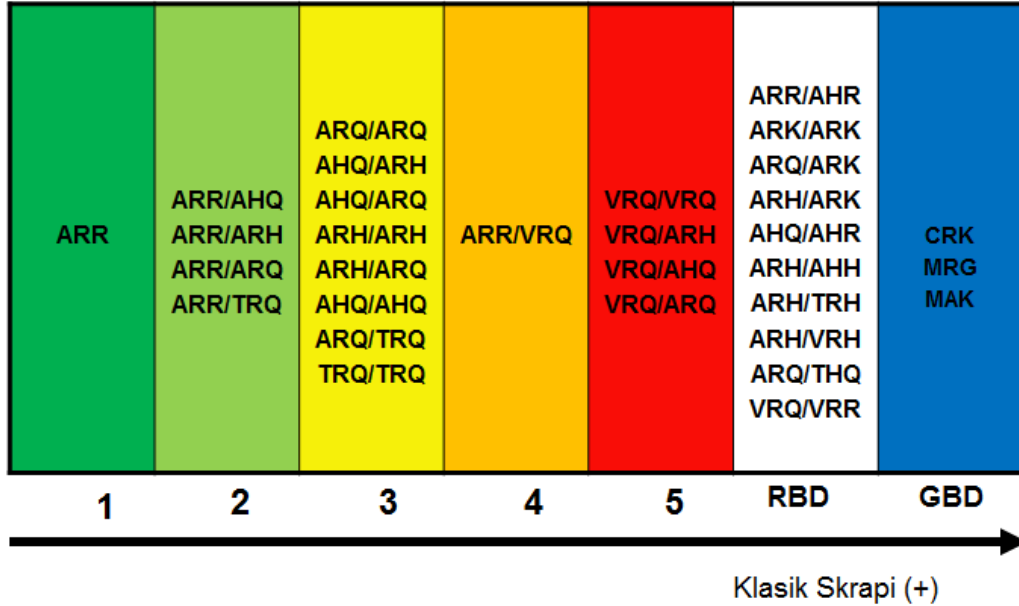
Tablo 4.2.3.4. CRK, MRG ve MAK genotiplerinin 171. İnci kodon ile ilgili olarak görüldüğü ırklar ve dağılımları

	ÇİÇ	DAG	KIV	AKK-1	AKK-2	IVE	KRG	GK
CRK	0,0227	0,0213	0,0238		0,1290	0,0213	0,0233	0,0222
MRG		0,0426		0,0208	0,0323			
MAK				0,0208				
n	1	3	1	2	5	1	1	1

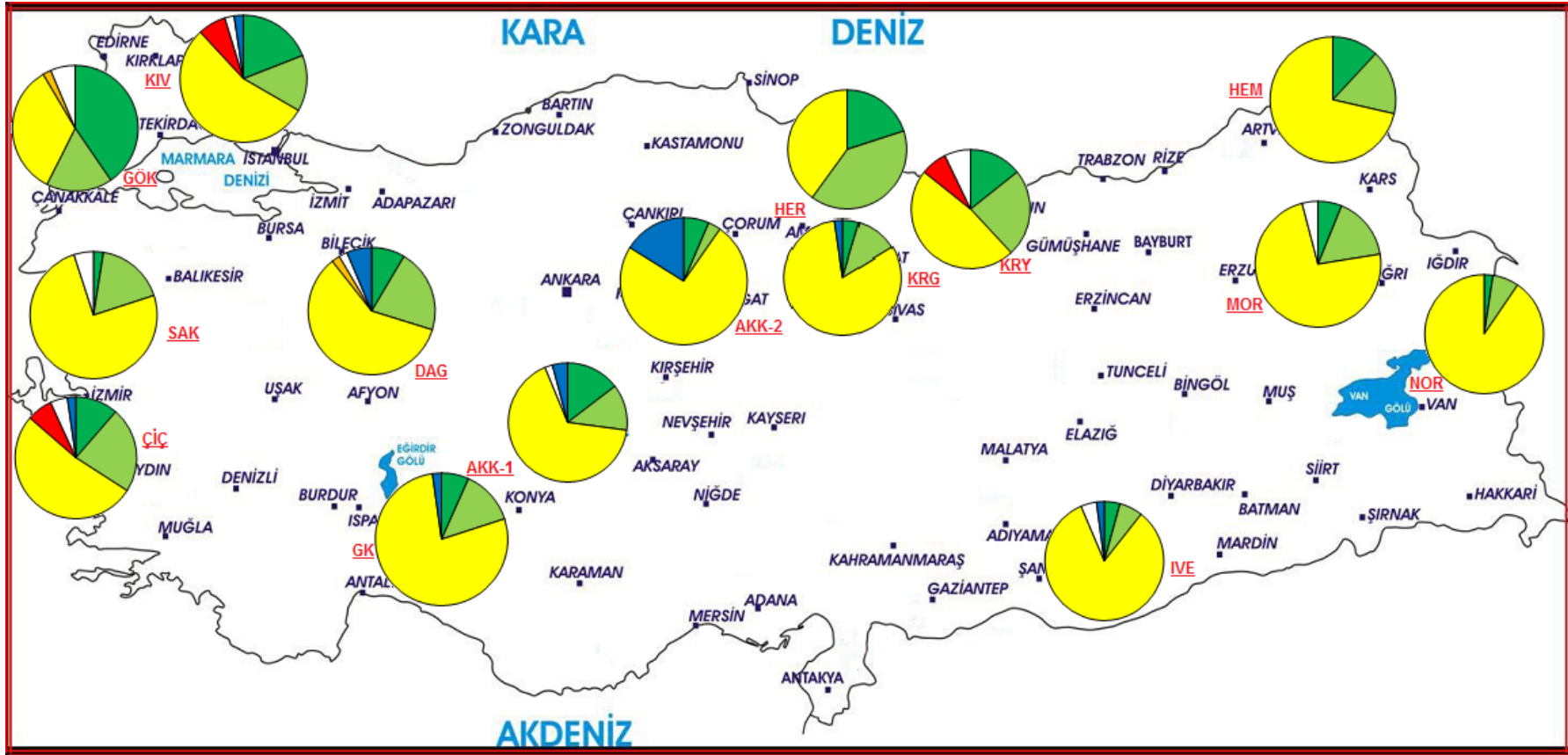
İrk kısaltmaları Tablo.3.1.1'de verildiği gibidir.

Akkaraman-2 populasyonunda CRK genotipinin görüldüğü 4 birey (0,1290), MRG genotipinin görüldüğü 1 birey (0.0323) saptanmıştır. Akkaraman-1 populasyonunda MRG ve MAK genotipleri görülürken CRK genotipine rastlanmamıştır.

Türkiye'deki yerli ırklarda genotiplere göre klasik skrapiye olan riskin dağılımını görselleştirmek için Şekil 4.2.3.2'de verilen renk yelpazesi kullanılmış ve bu renklerin (risklerin) çalışılmış birey ve ırklara göre nasıl dağıldığı Şekil 4.2.3.3'te gösterilmiştir.



Şekil. 4.2.3.2. Klasik skrapiye açısından genotiplerin İngiliz Ulusal Planına göre tanımlanmış risk seviyelerinin renklerle belirtilmesi (RBD: Risk grubu belli olmayan genotipler, GBD: Genotip Belli olmayan genotipler) (Ibeagha-AwemT ve ark., (2008)'dan uyarlanmıştır).



Şekil.4.2.3.3. İngiliz Ulusal Skrapi Planı (NSP) dikkate alınarak Türkiye yerli koyun ırklarının klasik skrapi risk seviyesinin dağılımı

R1: ■, R2: ■, R3: ■, R4: ■, R5: ■, RBD: Risk grubu belli olmayan genotipler, GBD: ■ Genotipi Belirlenemeyen grup)

Çalışılan 655 bireydeki sonuçların birlikte değerlendirilmesi sonucunda klasik skrapi açısından 5. risk seviyesinde olan (VRQ alelini taşıyan) bireylerin Çine çaparı, Kıvırcık ve Karayaka ırklarında düşük frekanslarda da olsa görüldüğü, 4. risk seviyesinde olan (ARR/VRQ) genotipine sahip bireylerin sadece Gökçeada ve Dağlıç populasyonlarında olduğu belirlenmiştir. Üçüncü risk seviyesindeki genotiplerin yerli ırklarımızda en yaygın olduğu, ardından 1. ve 2. risk seviyesindeki genotiplerin geldiği görülmektedir. Risk grubu belli olmayan grup olarak tanımladığımız genotiplerin hangi risk grubunda olduğu konusunda herhangi bir çalışma mevcut değildir. Mavi ile gösterdiğimiz diğer grup ise 171. kodonda 2 farklı nükleotidte heterizogotluğun olduğu grubu göstermekte olup, bu sonuca daha önceki çalışmalarda rastlanmamıştır.

4.2.4. Atipik Skrapi Gen Frekansları

PrP lokusunda atipik skrapi için; Türkiye yerli koyun ırkından toplam 655 örnekte 14 adet haplotip alleli (Tablo.4.2.4.1) saptanmıştır. Atipik skrapi açısından 136, 141, 154 ve 171. kodonlardaki polimorfizme göre kategorize edilen gen frekansları Tablo.4.2.4.1'de verilmiştir. Tablodaki sonuçlar incelendiğinde, Türkiye yerli ırklarında en sık görülen allelin ALRR, ALRQ ve ALRH olduğu, frekanslarının ırklara göre farklılıklar gösterdiği belirlenmiştir. Bu allelleri ALHQ ve TLRQ allelleri takip etmekte olup 15 populasyondan 8'inde gözlemlenmektedir. ALRK alleli 6 populasyonda, VLRQ alleli ise 5 populasyonda görülmektedir. AFRQ alleli Kıvırcık ve Morkaraman ırkında düşük frekanslarda saptanmıştır. ALHR, alleli sadece Gökçeada ırkında, ALHH Morkaraman ırkında, TLRH ve VLRR alleli Karayaka ırkında, VLRH Kıvırcık ırkında ve TLHQ alleli ise Sakız ırkında saptanmıştır.

Tablo.4.2.4.1. PrP lokusundaki atipik skrapi haplotip allel frekansları (136, 141, 154 ve 171. kodona göre)

	NOR	ÇİÇ	DAG	HER	KIV	AKK-1	AKK-2	SAK	IVE	MOR	HEM	KRG	KRY	GÖK	GK	Toplam
AFRQ					0.0122					0.0204						0.002
ALHQ	0.0244		0.0682	0.0222	0.0732			0.1375		0.0102				0.0426	0.0114	0.023
ALHR														0.0319		0.002
ALRH	0.1585	0.0349	0.1136	0.0222	0.0732	0.1630	0.4038	0.0500	0.1957	0.2041	0.1190	0.0952	0.0930	0.0426	0.1705	0.125
ALHH										0.0102						0.001
ALRK		0.0233	0.0114			0.0217		0.0125	0.0326	0.0204						0.009
TLRH													0.0233			0.002
VLRH					0.0122											0.001
ALRQ	0.7561	0.6395	0.5795	0.7000	0.5122	0.5652	0.5000	0.6625	0.6630	0.5816	0.6786	0.6905	0.5465	0.3617	0.6818	0.609
TLHQ								0.0125								0.001
TLRQ	0.0122	0.0233		0.0778		0.0326		0.0125	0.0326	0.0102		0.1071				0.021
VLRQ		0.0465	0.0114		0.0488								0.0698	0.0106		0.010
ALRR	0.0488	0.2326	0.2159	0.1778	0.2683	0.2174	0.0962	0.1125	0.0761	0.1429	0.2024	0.1071	0.2558	0.5106	0.1364	0.194
VLRR													0.0116			0.001
n	42	43	44	45	41	46	26	40	46	49	42	42	43	47	44	

İrk kısaltmaları Tablo.3.1.1' de verildiği gibidir.

Klasik skrapi açısından Avrupa, Asya, Amerika, Afrika ve Yeni Zellanda 'da yetiştirilen koyun ırklarındaki gen ve genotip frekansları detaylı incelenmiş, risk faktörleri açısından hastalığın incelendiği 200'un üzerinde çalışmaya rastlanmaktadır. Oysaki atipik skrapi konusunda henüz yeterince çalışma yoktur. Yapılan kaynak araştırmasında 20-25 arasında makaleye rastlanmış (Tablo.4.2.4.2) bunlardan sadece 3 çalışmada (Tablo 4.2.4.3) gen frekansları 5 farklı ülkede yetiştirilen koyun ırklarındaki ortalamaları verilmiştir.

Tablo 4.2.4.2. Atipik skrapiye yönelik çalışmalar

Çalışmanın Adı	Ülke	Yazar
Quantitative estimation of genetic risk for atypical scrapie in French sheep and potential consequences of the current breeding programme for resistance to scrapie on the risk of atypical scrapie	Fransa	Fediaevsky ve ark., 2010 <i>Genetics Selection Evolution</i> 2010, 42 :14
Putative emergence of classical scrapie in a background of enzootic atypical scrapie	Portekiz	Orge ve ark., 2010 <i>Journal of General Virology</i> (2010), 91, 1646–1650
A descriptive study of the prevalence of atypical and classical scrapie in sheep in 20 European countries	20 Avrupa Birliği ülkesi	Fediaevsky ve ark., 2008 <i>BMC Veterinary Research</i> 2008, 4 :19
Which PrP haplotypes in a French sheep population are the most susceptible to atypical scrapie?	Fransa	Moreno ve ark., 2007 <i>Arch Virol</i> (2007) 152: 1229–1232
Similar Biochemical Signatures and Prion Protein Genotypes in Atypical Scrapie and Nor98 Cases, France and Norway	Fransa ve Norveç	Arsac ve ark., 2007 <i>Emerging Infectious Diseases</i> , Vol. 13, No. 1, January 2007
Recognition of the Nor98 variant of scrapie in the Swedish sheep population	İsveç	Gavier-Widèn ve ark., 2004 <i>J Vet Diagn Invest</i> 16:562–567 (2004)
Identification of putative atypical scrapie in sheep in Portugal	Portekiz	Orge ve ark., 2004 <i>Journal of General Virology</i> (2004), 85, 3487–3491
PrP genotypes of atypical scrapie cases in Great Britain	İngiltere	Saunders ve ark., 2006 <i>Journal of General Virology</i> (2006), 87, 3141–3149
Clinical findings in two cases of atypical scrapie in sheep: a case report	UK	Konold ve ark., 2007 <i>BMC Veterinary Research</i> 2007, 3 :2
The stability and aggregation of ovine prion protein associated with classical and atypical scrapie correlates with the ease of unwinding of helix-2	USA	Fitzmaurice ve ark., 2008 <i>Biochem. J.</i> (2008) 409 , 367–375
A Case–Control Study on the Origin of Atypical Scrapie in Sheep, France	Fransa	Fediaevsky ve ark., 2009 <i>Emerging Infectious Diseases</i> , Vol. 15, No. 5, May 2009

Co-existence of classical scrapie and Nor98 in a sheep from an Italian outbreak	İtalya	Mazza ve ark., 2010 Research in Veterinary Science 88 (2010) 478–485
Atypical scrapie in sheep from a UK research flock which is free from classical scrapie	UK	Simmons ve ark., 2009 <i>BMC Veterinary Research</i> 2009, 5:8
The prevalence of atypical scrapie in sheep from positive flocks is not higher than in the general sheep population in 11 European countries	11 Avrupa Birliği ülkesi	Fediaevsky ve ark., 2010 BMC Veterinary Research 2010, 6:9
Atypical/Nor98 scrapie in the Basque Country: a case report of eight outbreaks	İspanya	Rodríguez-Martínez ve ark., 2010 BMC Veterinary Research 2010, 6:17
The natural atypical scrapie phenotype is preserved on experimental transmission and sub-passage in PRNP homologous sheep	UK	Simmons ve ark., 2010 BMC Veterinary Research 2010, 6:14
Diagnosis of the first cases of scrapie in Poland	Polonya	Polak ve ark., 2009 <u>Vet J.</u> 2010 Oct;186(1):47-52. Epub 2009 Aug 27.
Epidemiological and genetical differences between classical and atypical scrapie cases	Almanya	Lühken ve ark., 2007 Vet. Res. 38 (2007) 65–80

Tablo.4.2.4.3. Farklı ülkelerde yapılan araştırmalarda elde edilen PrP lokusundaki Atipik Skrapı için haplotip frekansları

Ülke (ırk)	Atipik Skrapı Haplotip Alel Frekansları						Kaynak
AVRUPA							
	ALRR	ALRQ	ALRH	ALHQ	AFRQ	VLRQ	
Fransa, Norveç, Almanya, İngiltere	0.237	0.168	0.012	0.310	0.261	0.012	Benestad ve ark., 2008
Norveç	0.239	0.301	0.032	0.218	0.136	0.074	Moum ve ark., 2005
YENİ ZELLANDA							
Yeni Zellanda	0.471	0.407	-	0.071	0.025	0.025	Bossers ve ark., 1999

Avrupa ülkelerindeki (Fransa, Norveç, Almanya, İngiltere) ırklarda yapılan çalışma sonuçları incelendiğinde en yaygın haplotiplerin ALRR, ALRQ, ALHQ, AFRQ, ALRH ve VLRQ olduğu görülmektedir. Yeni Zellanda da ise ALRH haplotipi hariç Avrupa'daki diğer haplotiplerin hepsi görülmüştür. Türkiye yerli koyun ırklarında elde edilen sonuçlar incelendiğinde 14 farklı haplotip allelinin görüldüğü, en yaygın allelerin ALRR, ALRQ ve ALRH olduğu saptanmıştır. ALHQ ve TLRQ allellerinin çalışılan 15 populasyondan 8'inde görüldüğü, ALRK allelinin 6 populasyonda (CIC, DAG, AKK-1, SAK, IVE, MOR), VLRQ allelinin ise 5 populasyonda (ÇİÇ; DAG, KIV, KRY, GOK) olduğu belirlenmiştir. AFRQ ve

ALHH allellerinin sadece Morkaraman ırkında olduğu, ALHR allelinin sadece Gökçeada'da ırkında olduğu, TLRH ve VLRR allellerinin sadece Karayaka ırkında olduğu, VLRH allelinin Kıvırcık ve TLHQ allelinin ise sadece Sakız ırkında olduğu görülmüştür.

4.2.5. Atipik Skrapi Genotip Frekansları

Çalışmada toplam 14 farklı ırktan 655 bireyde PrP gen bölgesi içerisinde atipik skrapi açısından önemli olan 136, 141, 154 ve 174. kodonlardaki polimorfizmleri incelenmiş olup (Norduz, Çineçaparı, Dağlıç, Herik, Kıvırcık, Akkaraman, Sakız, İvesi, Morkaraman, Hemşin, Karagül, Karayaka, Gökçeada ve Güney Karaman) bu ırklarda 28 farklı genotip gözlemlenmiş ve atipik risk gruplarına (Fediaevsky ve ark., 2009) göre sonuçlar Tablo.4.2.5.2'de verilmiştir.

İrklar atipik skrapi genotipleri açısından Hardy –Weinberg dengesinde olup olmadıkları yönünden incelenmişler ve dengeden sapmaları ile ilgili olarak F_{IS} ölçüt değerleri Tablo.4.2.5.1. da sunulmuştur.

Tablo.4.2.5.1.Proje kapsamında çalışılan ırkların Hardy-Weinberg dengesinden sapma durumlarının F_{IS} ölçütü ile incelenmesi.

ATİPİK SKRAPI	
İrklar	F_{IS} değeri
Norduz	0.601***
Çineçaparı	0.312**
Dağlıç	0.428***
Herik	0.350**
Kıvırcık	0.523***
Akkaraman-1	0.730***
Akkaraman-2	0.743***
Sakız	0.340**
İvesi	0.710***
Morkaraman	0.569***
Hemşin	0.663***
Karagül	0.597***
Karayaka	0.433***
Gökçeada	0.617***
Güney Karaman	0.680***

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$; NS anlamlı değil

Fıs değerleri FSTAT paket programı (Goudet, 1995) ile hesaplanmıştır. Bonferroni düzeltmesi uygulanmıştır. Tablo.4.2.5.1'deki sonuçlar incelendiğinde klasik skrapide olduğu gibi tüm ırklarda değerler pozitif (heterozigot eksikliği vardır) olup hepsinde sapma anlamlıdır ($0.01 < p < 0.001$).

Genotiplere ilişkin sonuçlar incelendiğinde (Tablo.4.2.5.2), proje kapsamında çalışılan tüm ırklarda 0 ve 1. risk grubuna giren ALRR/ALRR, ALRR/ALRQ ve ALRQ/ALRQ genotiplerinin farklı frekanslarda dağılım gösterdiği gözlenmiştir. Diğer genotiplerin ırklara göre varyasyon gösterdiği belirlenmiştir. Atipik skrapkiye en duyarlı genotip olan ALHQ/ALHQ genotipine Norduz, Dağlıç, Kıvırcık Sakız ve Gökçeada ırklarında değişen frekanslarda (0.075 ila 0.0213) rastlanmıştır. Atipik skrapkiye en duyarlı olan genotiplerden AFRQ/AFRQ genotiplerine proje kapsamında çalışılan sadece Morkaraman ırkında bir bireyde rastlanmıştır. nc risk grubuna giren 4 genotipten 3' (ALRR/ALHQ, ALRQ/ALHQ, ALRQ/AFRQ) Dağlıç, Herik, Kıvırcık Sakız ve Morkaraman ırklarında değişen frekanslarda görülmektedir.

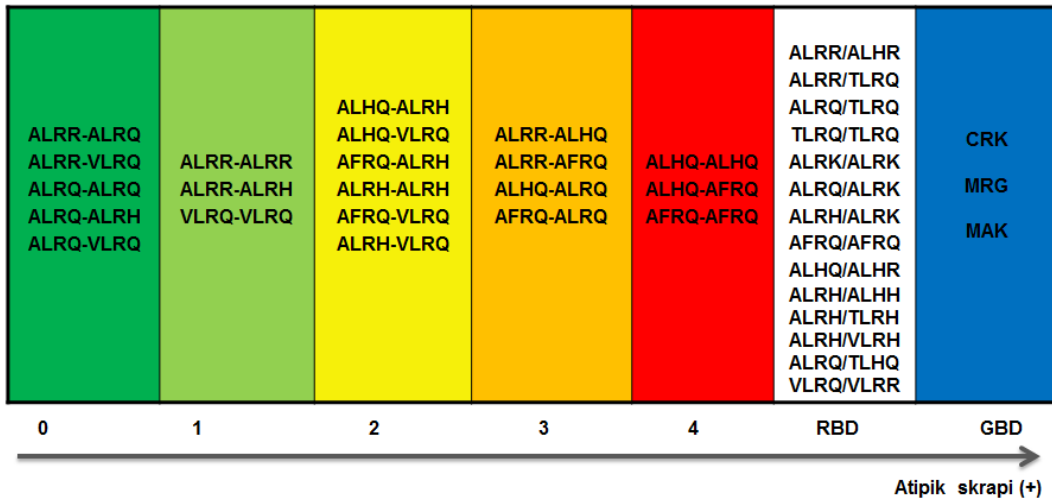
Atipik Skrapi hastalığı ile herhangi bir ilişkisi henüz bildirilmemiş olan genotipler incelendiğinde; ALRH/ALHH genotipinin sadece Morkaraman ırkında, ALRH/TLRH ve VLRQ/VLRR genotiplerinin ise sadece Karayaka ırkında olduğu saptanmıştır. ALRH/VLRH genotipi sadece Kıvırcık ırkında, ALRQ/TLHQ genotipi sadece Sakız ırkında saptanmıştır.

Tablo.4.2.5.2. Türkiye Koyun Irklarında Atipik Skrapi Genotip Frekansları ve Risk Gruplarına Dağılımı

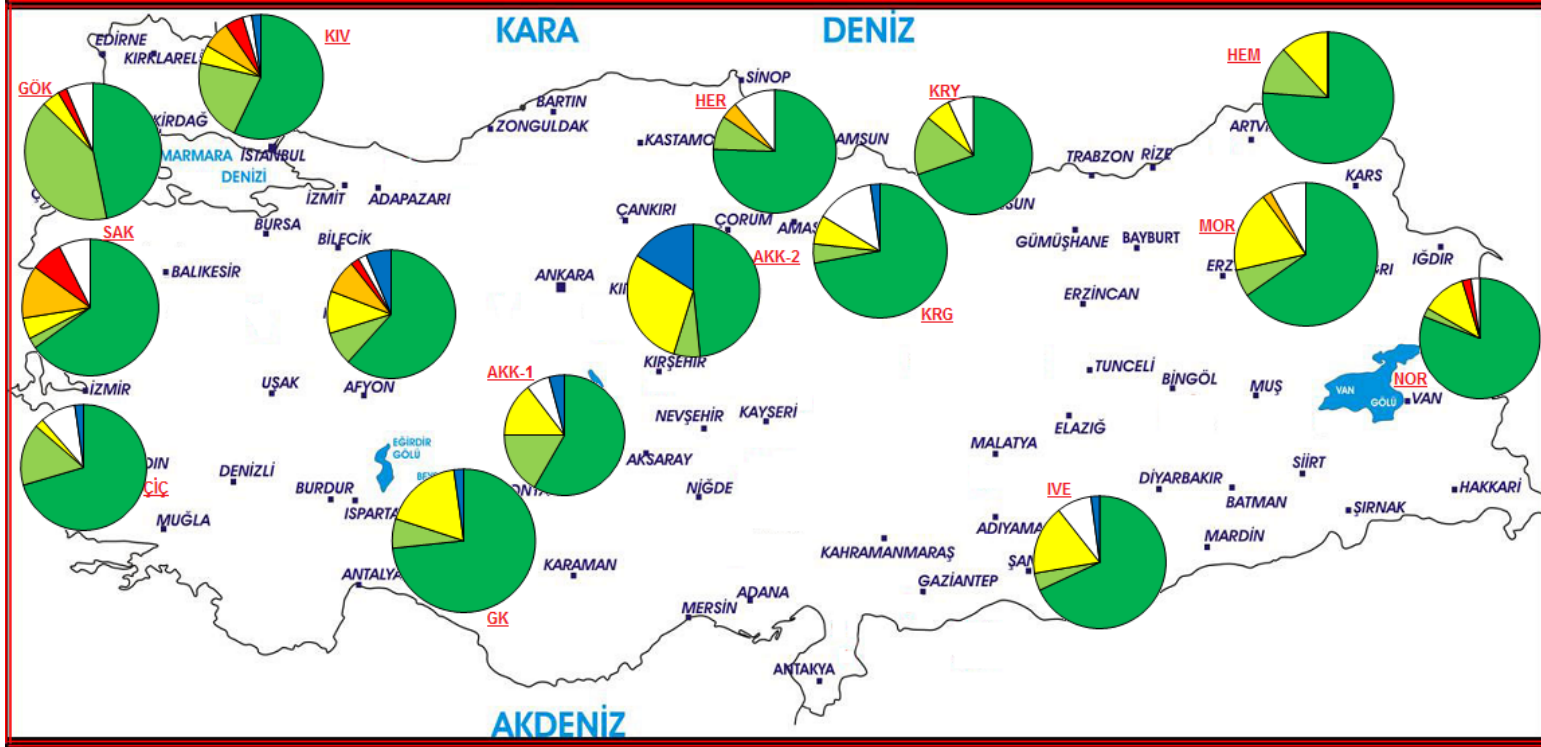
Risk	Genotip	NOR	ÇİÇ	DAG	HER	KIV	AKK-1	AKK-2	SAK	IVE	MOR	HEM	KRG	KRY	GÖK	GK	Toplam
0	ALRQ/ALRH	0,071			0,044	0,024		0,115		0,043	0,020		0,047				0,022
0	ALRQ/ALRQ	0,667	0,465	0,432	0,556	0,366	0,489	0,423	0,550	0,587	0,469	0,595	0,581	0,419	0,277	0,614	0,500
0	ALRQ/VLRQ		0,047			0,049								0,070			0,011
0	ALRR/ALRQ	0,071	0,209	0,227	0,156	0,146	0,106	0,038	0,150	0,065	0,143	0,167	0,093	0,209	0,149	0,136	0,140
0	ALRR/VLRQ														0,021		0,002
1	ALRR/ALRH		0,023				0,021				0,020				0,021		0,006
1	ALRR/ALRR	0,024	0,116	0,091	0,089	0,195	0,149	0,077	0,025	0,043	0,061	0,119	0,070	0,163	0,426	0,068	0,117
1	VLRQ/VLRQ		0,023			0,024											0,003
2	ALHQ/ALRH															0,023	0,002
2	ALRH/ALRH	0,119	0,023	0,114		0,049	0,149	0,346	0,050	0,174	0,184	0,119	0,070	0,070	0,043	0,159	0,106
3	ALRQ/ALHQ			0,068	0,044	0,049			0,100		0,020						0,019
3	ALRQ/AFRQ					0,024											0,002
3	ALRR/ALHQ			0,023													0,002
4	ALHQ/ALHQ	0,024		0,023		0,049			0,050						0,021		0,011
4	AFRQ/AFRQ										0,020						0,002
RBD	ALHQ/ALHR														0,043		0,003
RBD	ALRH/ALHH										0,020						0,002
RBD	ALRH/ALRK						0,021										0,002
RBD	ALRH/TLRH													0,047			0,003
RBD	ALRH/VLRH					0,024											0,002
RBD	ALRL/ALRL						0,021			0,022	0,020						0,005
RBD	ALRQ/ALRK		0,047	0,023					0,025	0,022							0,008
RBD	ALRQ/TLHQ								0,025								0,002
RBD	ALRQ/TLRQ	0,024	0,047		0,044		0,021			0,022	0,020		0,047				0,016
RBD	ALRR/TLRQ				0,022				0,025				0,023				0,005
RBD	TLRQ/TLRQ				0,044		0,021			0,022			0,070				0,011
RBD	VLRQ/VLRR													0,023			0,002

Atipik skrapi açısından tüm sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde, Türkiye yerli ırklarında 0 ve 1. risk seviyesinde olan genotiplerin oldukça yaygın olduğu, ardından 3 risk seviyesindeki genotiplerin yaygın olduğu dikkat çekmektedir. 4. risk seviyesindeki genotiplerin dağılımı oldukça düşük frekanslarda olup sadece 5 ırkta (Norduz, Dağlıç, Kıvırcık, Sakız ve Gökçeada) görülmektedir.

Türkiye'deki yerli ırklarda genotiplere göre atipik skrapiye olan riskin dağılımını görselleştirmek için tıpkı klasik skrapide olduğu gibi Şekil 4.2.5.1'de verilen renk yelpazesi kullanılmış ve bu renklerin (risklerin) çalışılmış birey ve ırklara göre nasıl dağıldığı Şekil 4.2.5.2'de gösterilmiştir.



Şekil. 4.2.5.1. Atipik skrapi açısından genotiplerin tanımlanmış risk seviyelerinin renklerle belirtilmesi (RBD: Risk grubu belli olmayan genotipler, GBD: Genotip Belli olmayan genotipler) (Fediaevsky ve ark., (2009)'dan uyarlanmıştır).



Şekil.4.2.5.2. Farklı renklerle belirtilen risk yelpazesine göre Türkiye'deki yerli ırkların atipik skrapi risk haritası

(R0: ■ , R1: ■ , R2: ■ , R3: ■ , R4: ■ , RBD: Risk grubu belli olmayan genotip GBD: ■ Genotip Belirlenemeyen Grup)

Atipik skrapi açısından sonuçların birlikte değerlendirilmesi sonucunda 4. risk seviyesinde olan bireylerin Norduz, Dağlıç, Kıvırcık, Gökçeada ve Sakız ırklarında düşük frekanslarda da olsa görüldüğü, 3. risk seviyesinde olan genotiplere sahip bireylerin sadece Dağlıç, Kıvırcık, Sakız ve Herik populasyonlarında olduğu belirlenmiştir. Sıfır ve birinci risk seviyesindeki genotiplerin yerli ırklarımızda en yaygın olduğu (%50'den fazla), 2. risk seviyesindeki genotiplerin geldiği görülmektedir. Risk grubu belli olmayan grup olarak tanımladığımız genotiplerin atipik skrapi açısından hangi risk grubunda olduğu konusunda herhangi bir çalışma mevcut değildir. Mavi ile gösterdiğimiz diğer grub ise 171. kodonda 2 farklı nükleotidte heterizogotluğun olduğu grubu göstermekte olup, bu sonuca daha önceki çalışmalarda rastlanmamıştır.

Atipik skrapide klasik skrapiden farklı olarak 141. kodonun mutasyonu dikkate alınarak gen ve genotip frekansları hesaplanmış ve tüm yorumlar bu kodondan kaynaklanabilecek değişimler üzerine yukarıda tekrar yorumlanmıştır.

Türkiye'de yerli ırklar açısından klasik skrapi riski (3. derece risk ağırlıklı), atipik skrapi riski (en az risk grubu ağırlıklı)'nden daha fazla olduğu söylenebilir. Ayrıca Avrupa'da atipik skrapi rastlanma sıklığı da klasik skrapie oranla 10000 kat az olduğundan Türkiye'de klasik skrapi riskini düşünmenin yeterli olabileceği sonucu çıkmaktadır.

4.2.6. PrP bölgesinin 136., 141., 154. ve 171. kodonların dışında kalan kodonlarına ait polimorfizmler

Bu araştırmada atipik ve klasik skrapi hastalığı ile ilişkisi olduğu bildirilen 136., 141., 154 ve 171. kodonların yanı sıra diğer kodonlarda gözlemlenen Tek Nükleotid Polimorfizm (TNP)'lerinin olduğu belirlenmiştir. 14 ırk, 15 populasyon 655 bireyde çalışılan proje kapsamında 54 farklı polimorfizm olduğu belirlenmiştir. Üç primerleri ile 745 bç'lik bir bölge

çalışıldığında gözlenen polimorfizmler ve frekansları EK.3'te özetlenmiştir. Babar ve ark.(2009)'nın primerleri ile yükseltgenen 224 bireye ait ilave polimorfizmler ve frekansları da EK.4'te özetlenmiştir. Yerli ırklarda belirlenmiş olan bu polimorfizmlerin literatür verileri ile karşılaştırılması Tablo4.2.6.1'de verilmiştir.

Tablo.4.2.6.1. Türkiye yerli koyun ırklarında görülen polimorfizmler ve diğer çalışmalar ile karşılaştırılması

Polimorfizmler	Makale
G7S, L11P, L13F, A16T, D20D, R40P, G81G	-
Q101R	Acin ve ark., 2004; Goldmann ve ark., 2005; Lan ve ark., 2006; Babar ve ark., 2009; Guan ve ark., 2011 Q101N: Alvarez ve ark., 2006
M112T	Goldmann ve ark., 1991; Laplanche ve ark., 1993; Ikeda ve ark., 1995; Bossers ve ark., 1996; Bossers ve ark., 1999; Bossers ve ark., 2000; Gombojav ve ark., 2004; Goldmann ve ark., 2005; Lan ve ark., 2006; Saunders ve ark., 2006; Vaccari ve ark., 2007; McIntyre ve ark., 2008; Laegreid ve ark., 2008; Ün ve ark., 2008; Babar ve ark., 2008; Babar ve ark., 2009; Saunders ve ark., 2009; Alvarez ve ark., 2011;; Frootan ve ark., 2011; Guan ve ark., 2011; Andrade ve ark., 2011
H114R, 127(RKC)	-
G127S	Gombojav ve ark., 2004; Lan ve ark., 2006; Wang ve ark., 2008; Alvarez ve ark., 2011; Oner ve ark., 2011; Frootan ve ark., 2011; Guan ve ark., 2011
G127V	Gombojav ve ark., 2004; Lan ve ark., 2006; Wang ve ark., 2008; Alvarez ve ark., 2011; Oner ve ark., 2011; Karami ve ark., 2011; Frootan ve ark., 2011; Andrade ve ark., 2011
M132I, L133M	-
A136T	Ün ve ark., 2008
A136V	Laplanche ve ark., 1993; Clouscard ve ark., 1995; Ikeda ve ark., 1995; Bossers ve ark., 1996; Bossers ve ark., 2000; Hurtado ve ark., 2002; Brandsma ve ark., 2004; Acin ve ark., 2004; Gombojav ve ark., 2004; Diaz ve ark., 2005; Goldmann ve ark., 2006; Gama ve ark., 2006; Alvarez ve ark., 2006; Alvarez ve ark., 2007; Arsac ve ark., 2009; Alvarez ve ark., 2009; Pongolini ve ark., 2009a; Pongolini ve ark., 2009b; Boulton ve ark., 2010; Mazza ve ark., 2010; Andrade ve ark., 2011
S138N	Thorgeirsdottir ve ark., 1999; Tranulis ve ark., 1999; Bossers ve ark., 2000; Goldmann ve ark., 2005; Wang ve ark., 2008; Andrade ve ark., 2011 R138M: Ün ve ark., 2008 S138R: DeSilva ve ark., 2003; Goldmann ve ark., 2005; Guan ve ark., 2011 S138S: Traoré ve ark., 2012
A138Y, S138Y, P140H	-
H143R	Heaton ve ark., 2003; DeSilva ve ark., 2003; Acutis ve ark., 2004; Goldmann ve ark., 2005; Wang ve ark., 2008; Alvarez ve ark., 2011; Oner ve ark., 2011; Frootan ve ark., 2011; Otelea ve ark., 2011;

	Andrade ve ark., 2011; Traoré ve ark., 2012
G145V	Frootan ve ark., 2011 G145S: Oner ve ark., 2011
N146S	Zhang ve ark., 2004; Lan ve ark., 2006; Ün ve ark., 2008; Babar ve ark., 2009; Alvarez ve ark., 2011; Frootan ve ark., 2011; Karami ve ark., 2011
R151R	- H151C: Goldmann ve ark., 2005 R151G: Acin ve ark., 2004; Goldmann ve ark., 2005; Traoré ve ark., 2012 R151H: Acin ve ark., 2004; Goldmann ve ark., 2005 R151C: Thorgeirsdottir ve ark., 1999; Tranulis ve ark., 1999; Bossers ve ark., 2000; Goldmann ve ark., 2005; Andrade ve ark., 2011
Y158S	-
Y172D	Acin ve ark., 2004; Goldmann ve ark., 2005; Serrano ve ark., 2007; Ün ve ark., 2008; Alvarez ve ark., 2011; Oner ve ark., 2011; Karami ve ark., 2011
S173I	- S173N: Karami ve ark., 2011
H180Q	- H180Y: DeSilva ve ark., 2003; Acutis ve ark., 2004; Goldmann ve ark., 2005; Wang ve ark., 2008; Andrade ve ark., 2011
I185T	Otelea ve ark., 2011
I185F, V187A	-
Q189L	Zhang ve ark., 2004; Gombojav ve ark., 2004; Lan ve ark., 2006; Wang ve ark., 2008; Babar ve ark., 2009; Alvarez ve ark., 2011; Oner ve ark., 2011
T193I	-
T196P	- T196S: DeSilva ve ark., 2003; Goldmann ve ark., 2005; Wang ve ark., 2008
T204A, I208L	-
V213G	- V213E: Alvarez ve ark., 2011
I218N, T219I, T219A, Y221D, S222E	-
R223K	Wang ve ark., 2008
R231R	Ün ve ark., 2008; Babar ve ark., 2009
R231G, R231W, A233E, S234C, V235V	-
L237L	Goldmann ve ark., 2005; Traoré ve ark., 2012
S239F, V243G, S248P	-
54 polimorfizm	

Tabloda Kırmızı ile işaretli olanlar, karşılarında yazılı olan çalışma(lar)da da gözlenmiş oldukları anlamına gelmektedir. Siyah ile işaretli olup karşısında makale ismi yazmayanlar şimdiye kadar hiçbir çalışmada gözlenmemiş olanlardır. Mavi ile işaretli olanlar

ise, o kodonda daha önceden görülen bir polimorfizmin olduğunu; fakat bu polimorfizmin farklı bir aminoasit değişiminden kaynaklı olduğunu göstermektedir.

Vaccari ve ark., (2007)'nin yaptıkları çalışmada 137, 142 ve 176. kodonlarında bulunan polimorfizmlerin skrapiye direnç sağlıyor olabileceğini iddia etmektedir. Ancak, bu bahsettiği aminoasitler Türk ve Pakistan'da bulunan, iki skrapiye rastlanmayan ülkede, görülmemektedir. Aynı gözlem Frootan ve ark.(2011) tarafından yapılan çalışmada Türk ve İran koyunlarında da gözlenmemiştir. Frootan ve ark.(2011) tarafından 146. kodonda gözlenen keçide de dirençliliğe katkıda bulunduğu bildirilmiş mutasyon (N146S) Türk ırklarının birçoğunda ve İran'da bulunmaktadır Ancak, Pakistan'da İvesi'de 5 bireyden birinde gözlenmiştir (Babar ve ark., 2009). Bu sonuçlar şu aşamada direnç için 136, 141, 154 ve 171. kodonların dışında olan kodonlar açısından aday polimorfizmlerin yeni gözlemlerle desteklenmediğini göstermektedir.

4.2.7. Ün ve ark. (2008)'nin kullandığı primer bölgesi için

gözlenen mutasyonların dağılım modeli

Aminoasit diziliminde, mutasyonların frekansları, bu aşamada sadece var olup olmadıkları, 5'lik aminoasit pencerelerinde gözlendi. Gözlenen mutasyonlara 136, 141, 154, 171. mutasyonları da katıldı. Mutasyon dağılımı Tablo.4.2.6.1 görülen frekans dağılım tablosunda verilmiştir.

Tablo 4.2.6.1. Aminoasitlere ait kodonlarda gözlenen mutasyonların 248 kodonluk dizide 5'lik pencerelerde (sonuncu pencere 3'lüktür) dağılımı.

Görülen Mutasyonlar	Frekanslar
0	21
1	14
2	7
3+	8

Dağılımın ortalaması 1.26 varyasyonu 1.72 olarak bulundu. Bu durumda mutasyonların rastlantısal dağılmış olabileceği (Poisson dağılımına göre varyasyonun ortalamaya eşite yakın olması nedeniyle) söylenebilir. Rastlantısal dağılımdan olan sapma da istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0.11$). Bu kaba analizle PrP geni için bir seleksiyon baskısı varsa bunun aa bölgesi boyunca oldukça homojen dağıldığı söylenebilir.

4.2.7. PrP bölgesine bağlı olarak ırklar arasında gözlenen genetik farklar ve ırk benzerliklerinin görselleştirilmesi

4.2.7.1. F_{ST} ölçütüne göre ırklar arasındaki ikili genetik farklar

İrklar arasındaki ikili genetik farklar çeşitli genetik belirteçler kullanılarak F_{ST} ölçütü cinsinde hesaplanmıştır (Tablo 4.2.7.1.1, Tablo 4.2.7.1.2.).

Tablo 4.2.7.1.1. Irklar arası Fst genetik uzaklık değerleri.

	NOR	ÇİÇ	DAĞ	HER	KIV	AKK-1	AKK-2	SAK	İVE	MOR	HEM	KRG	KRY	GÖK	GK
NOR	0.00000	0.04085	0.03426	0.02465	0.07158	0.03369	0.07816	0.02465	0.00000	0.00848	0.01393	0.00000	0.06343	0.25782	0.00000
ÇİÇ	0.04085	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.08812	0.00777	0.02127	0.01097	0.00000	0.00995	0.00000	0.10063	0.00726
DAĞ	0.03426	0.00000	0.00000	0.00828	0.00000	0.00000	0.04111	0.00000	0.00897	0.00000	0.00000	0.01746	0.00000	0.08869	0.00000
HER	0.02465	0.00000	0.00828	0.00000	0.01998	0.01173	0.11992	0.00360	0.02208	0.02579	0.00000	0.00000	0.01800	0.15772	0.01176
KIV	0.07868	0.00000	0.00000	0.02646	0.00000	0.00000	0.06423	0.00782	0.03995	0.01804	0.00701	0.04283	0.00000	0.05100	0.02214
AKK-1	0.03369	0.00000	0.00000	0.01173	0.00000	0.00000	0.02725	0.01433	0.00239	0.00000	0.00000	0.01474	0.00000	0.09227	0.00000
AKK-2	0.07816	0.08812	0.04111	0.11992	0.06221	0.02725	0.00000	0.08573	0.02647	0.00864	0.06703	0.08717	0.05612	0.17952	0.03321
SAK	0.02465	0.00777	0.00000	0.00360	0.01158	0.01433	0.08573	0.00000	0.01936	0.02013	0.01121	0.01083	0.02112	0.14929	0.00912
İVE	0.00000	0.02127	0.00897	0.02208	0.04486	0.00239	0.02647	0.01936	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.02993	0.19949	0.00000
MOR	0.01372	0.01137	0.00000	0.02813	0.01684	0.00000	0.00420	0.01997	0.00000	0.00000	0.00000	0.00943	0.00887	0.15090	0.00000
HEM	0.01393	0.00000	0.00000	0.00000	0.01328	0.00000	0.06703	0.01121	0.00000	0.00000	0.00000	0.00002	0.00000	0.13586	0.00000
KRG	0.00000	0.00995	0.01746	0.00000	0.04919	0.01474	0.08717	0.01083	0.00000	0.01292	0.00002	0.00000	0.03525	0.20654	0.00000
KRY	0.06343	0.00000	0.00000	0.01800	0.00000	0.00000	0.05612	0.02112	0.02993	0.00652	0.00000	0.03525	0.00000	0.06242	0.01491
GÖK	0.25782	0.10063	0.08869	0.15772	0.04535	0.09227	0.17952	0.14929	0.19949	0.14180	0.13586	0.20654	0.06242	0.00000	0.17277
GK	0.00000	0.00726	0.00000	0.01176	0.02760	0.00000	0.03321	0.00912	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.01491	0.17277	0.00000

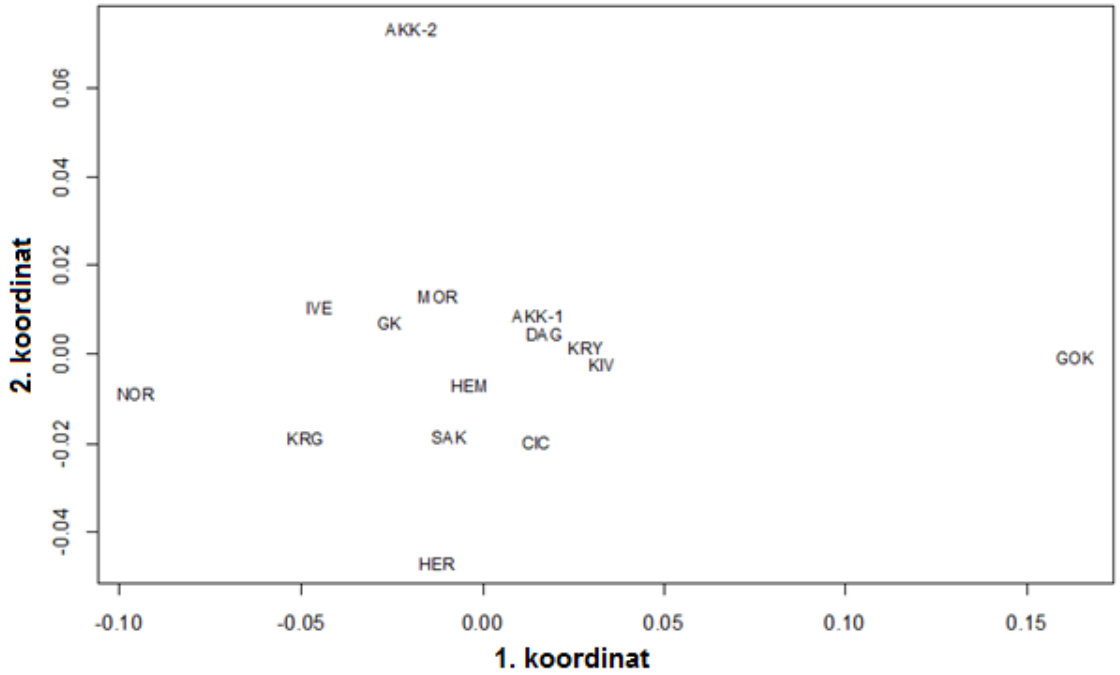
Üst çapraz klasik skrapi allel frekanslarına göre; alt çapraz atipik skrapi allel frekanslarına göre hesaplanan Fst genetik uzaklıkları göstermektedir. Hesaplama sonucu negatif çıkan değerler sıfır olarak değiştirilmiştir. Tabloda kullanılan ırk isimleri için olan kısaltmalar Tablo.3.1.1'deki gibidir.

Tablo 4.2.7.1.2. PrP gen sekanslarına göre hesaplanan ırklar arası Fst genetik uzaklık değerleri.

	NOR	ÇİÇ	DAĞ	HER	KIV	AKK-1	AKK-2	SAK	İVE	MOR	HEM	KRG	KRY	GÖK	GK
NOR	0.00000														
ÇİÇ	0.04322	0.00000													
DAĞ	0.02491	0.05345	0.00000												
HER	0.02597	0.03144	0.02208	0.00000											
KIV	0.03153	0.03369	0.00200	0.02067	0.00000										
AKK-1	0.01381	0.04129	0.00094	0.01811	0.00846	0.00000									
AKK-2	0.19804	0.30852	0.13928	0.24793	0.17972	0.16090	0.00000								
SAK	0.08535	0.16839	0.03229	0.08809	0.06475	0.06200	0.11595	0.00000							
İVE	0.01009	0.07627	0.01190	0.04304	0.03101	0.01209	0.12271	0.04810	0.00000						
MOR	0.01292	0.03949	0.02898	0.01994	0.03237	0.01974	0.18725	0.07529	0.02612	0.00000					
HEM	0.01480	0.07045	0.00888	0.03586	0.02145	0.00093	0.11725	0.04104	0.00531	0.02171	0.00000				
KRG	0.01100	0.02298	0.01066	0.01013	0.00912	0.00254	0.19795	0.08131	0.02472	0.01345	0.01456	0.00000			
KRY	0.03319	0.00686	0.03241	0.02247	0.01252	0.01839	0.25078	0.13471	0.05617	0.03423	0.04604	0.01021	0.00000		
GÖK	0.14085	0.07617	0.09365	0.10252	0.06949	0.09336	0.29989	0.19577	0.15631	0.10775	0.12777	0.08257	0.06104	0.00000	
GK	0.00676	0.03067	0.01519	0.02671	0.02170	0.01247	0.16830	0.07629	0.01321	0.01927	0.01595	0.01051	0.02711	0.10750	0.00000

Değerler Ün primer bölgesi sekanslarına haplotip çözümü (haplotype reconstruction) uygulandıktan sonraki 1310 sekans üzerinden Tajima-Nei modeline (Model testi sonucunda seçildi) göre Arlequin 3.11 (Excoffier ve ark., 2005) programında hesaplanmıştır. Tabloda kullanılan ırk isimleri kısaltmalar Tablo.3.1.1'deki gibidir.

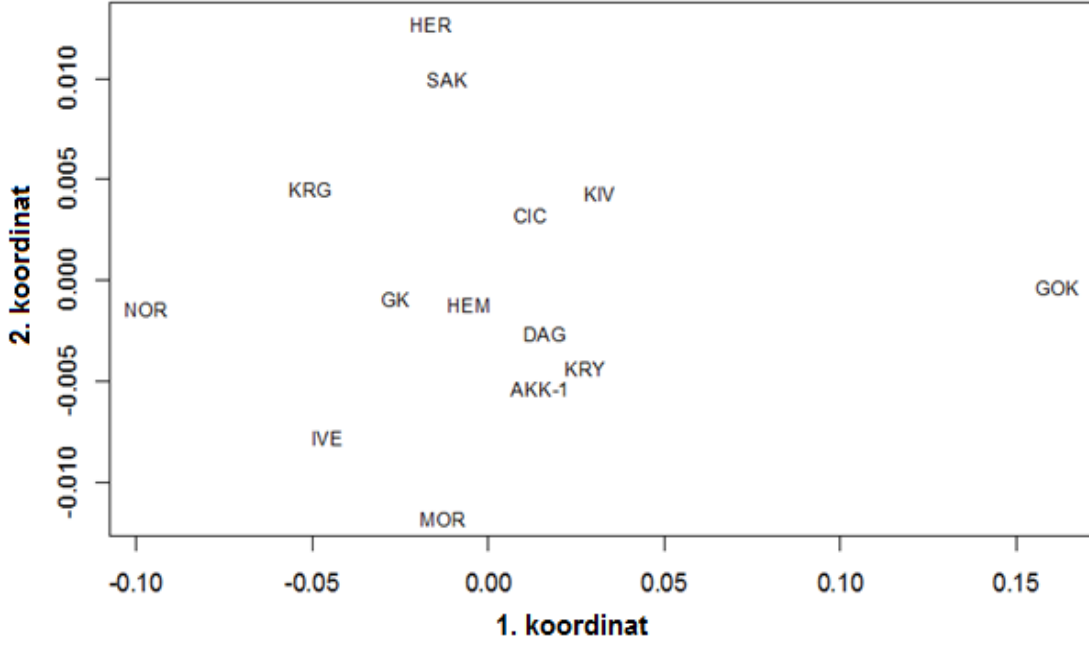
Bu ikili uzaklıkların yorumunun tablolardan anlaşılması zordur. O nedenle bunlar Çok Boyutlu Ölçekleme (Multidimensional Scaling) ile grafik haline getirilmiştir. Sunulan çalışmada elde edilen klasik skrapi, atipik skrapi haplotip frekansları ve bölgeye ait sekanslar ayrı ayrı kullanılmıştır. Her veri AKK-2 ile ve onsuuz analiz edilmiş Çok Boyutlu Ölçekleme sonuçları iki boyutta çizilmiş şekillerde (Şekil 4.2.7.1. 1 - 6) sunulmuştur.



Şekil 4.2.7.1.1. Klasik skrapi frekanslarına göre çalışılan ırklar ve Çok Boyutlu Ölçekleme Analizi sonucunda ilk iki eksende sergiledikleri benzerlikler. Irk ismi kısaltmaları Tablo3.1.1'deki gibidir.

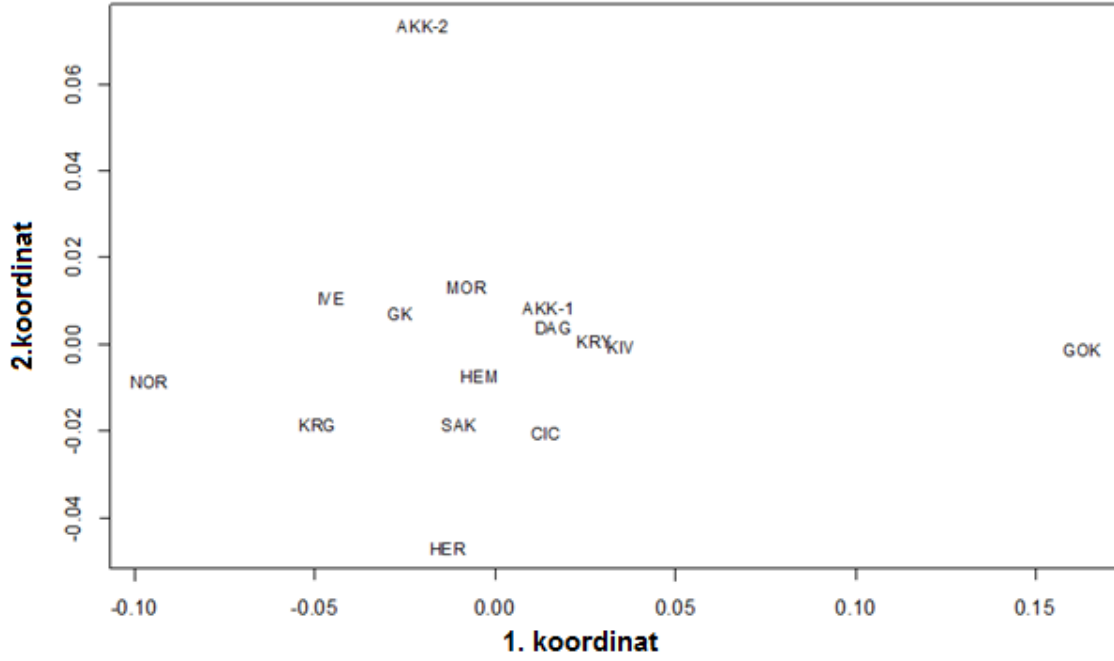
Bu şekilde ilk eksen en Doğu'daki ırkla (NOR) en Batı'daki ırkın (GOK) ayrıldığı görülmektedir. İkinci eksen de Akkaraman koyunlarının da katkıda bulunarak oluşturulduğuna inanılan HER ile Akkaraman'ın daha önceki yıllarda ve AKK-1'e göre daha yaygın alandan toplanmış örneği (AKK-2) birbirlerinden ayrılmaktadır. Genel olarak, ırklar (IVE, GK, MOR, AKK-1, DAG, KRY, KIV, CIC, HEM, SAK, KRG) skrapi frekansları bakımından birbirlerine benzemekte topluca bir öbek oluşturmaktadır ancak GOK, bir ada popülasyonu olarak, büyük olasılıkla rastlantısal sürüklenmeden, diğer popülasyonlardan

ayrılmaktadır. Bu gruptan İkinci farklı grup Akkaraman ırkının eski örneği olarak toplanmış olan AKK-2 ve daha az derecede NOR ile HER ayrılmaktadır. İki Akkaraman örneği birbirinden farklı görünmektedir. Aynı ırktan iki örnek kullanılmasının amacı, yerli ırklarımızın, örneklerin toplandıkları yerlere ya da yıllara göre farklı frekanslar sergileyebileceğini göstermektir. Daha önce aynı ırkların farklı çalışmalarda kullanılmış örneklerinde özellikle nadir görünen allelleri açısından farklı olduğu sunulan çalışmanın “Klasik Skrapı Gen Frekansları” başlığı altında vurgulanmıştır. AKK-2 2000 yılı civarında toplanmış örnekleri içermektedir. AKK-2 nin diğer tüm örneklerden farklı görünmesi ırk örneklerinin yıllar içinde de hızla değişebileceğini akla getirmektedir. Zaten yerli ırklarımız izole olmuş homojen ırklar olmadığından her bağımsız örnek için başka frekanslar sergilemeleri beklenmektedir. Ama Pazar ekonomisiyle ayrıca zamansal boyutta da hızla değişiyor olabilirler Skrapı bulaşmasına hazırlıklı olmak için bir strateji geliştirilecekse örnekleme ve genetik yapının zamansal değişim hızı da önemslenmelidir. İrkların örneklerinin yaygın alandan çok sayıda bireyle temsil edilmeli ve sonuçlar yıllar bazında tekrarlanmalıdır.. İrklar AKK-2 çıkartılarak bir kez daha analiz edildiğinde (Şekil 4.2.7.1.2.) ırklar arasında GOK gene farklı olarak gözlenmekte ırklar öbeği de biraz daha saçılmış olarak ama benzer şekilde bir arada gruplanmış olarak görülmektedir.

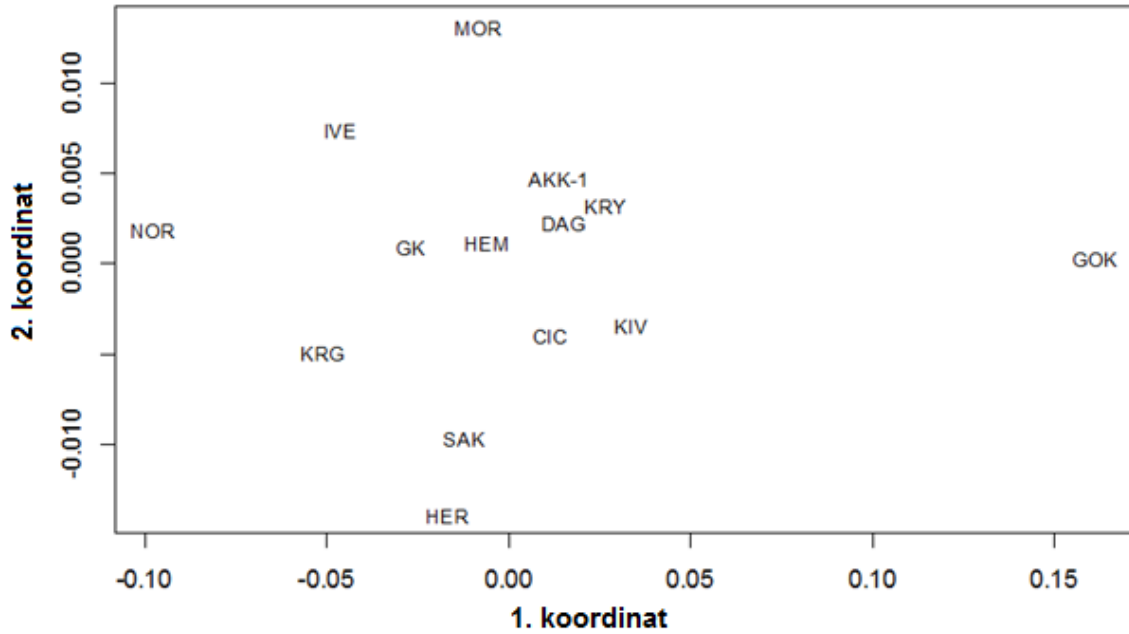


Şekil 4.2.7.1.2. Klasik skrap frekanslarına göre çalışılan ırklar ve Çok Boyutlu Ölçekleme Analizi sonucunda ilk iki eksen de sergiledikleri benzerlikler. İrk kısaltmaları Tablo.3.1.1'deki gibidir Bu şekilde AKK-2 örnekleri kullanılmamıştır.

Klasik skrap kodonlarına (136, 154 ve 171. kodonlar) sadece bir kodonun eklenmesiyle oluşan atipik skrap (141. kodon) ile ilgili ırk benzerlik ilişkilerini sergileyen şekiller (Şekil 4.2.7.1.3-4) tamamen klasik skrapinin sonuçlarına benzemektedir.

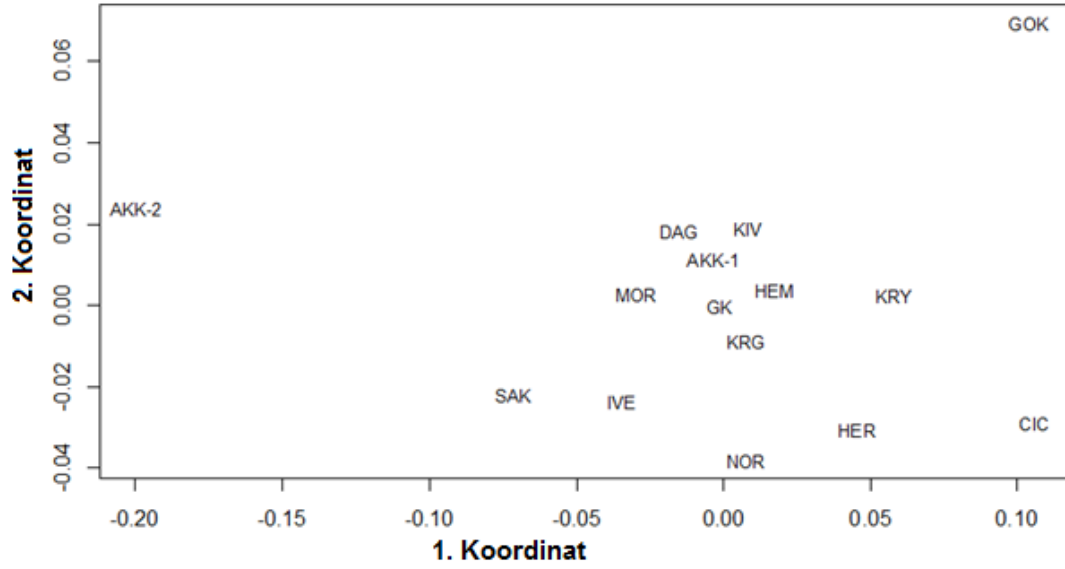


Şekil 4.2.7.1.3. Atipik skrapi frekanslarına göre çalışılan ırklar ve Çok Boyutlu Ölçekleme Analizi sonucunda ilk iki eksenle sergiledikleri benzerlikler. İrk kısaltmaları Tablo3.1.1' deki gibidir

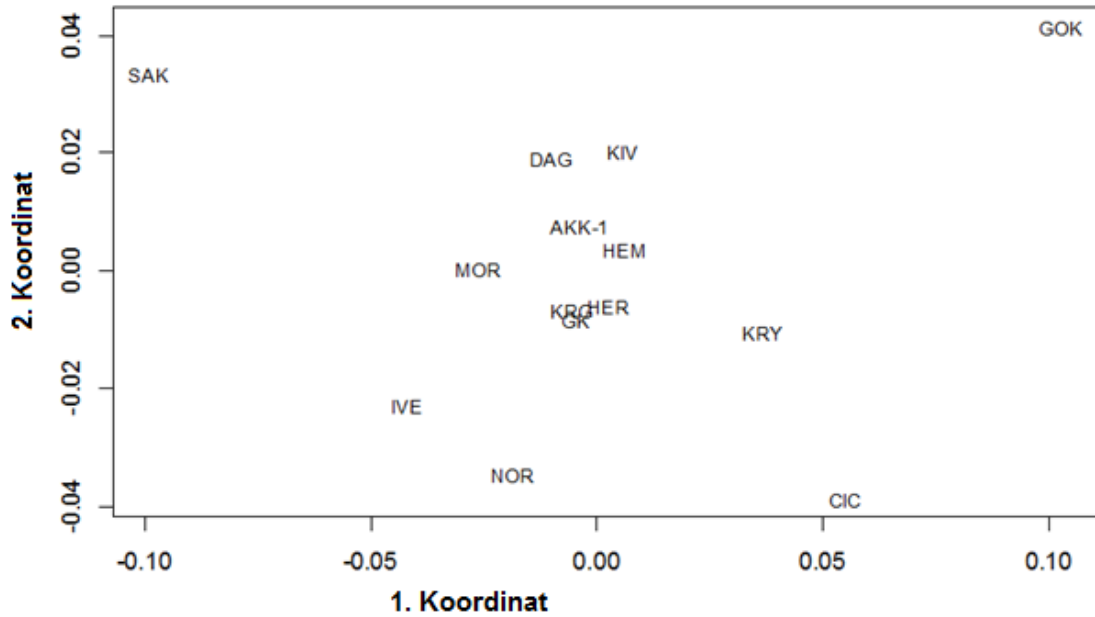


Şekil 4.2.7.1.4. Atipik skrapi frekanslarına göre çalışılan ırklar ve Çok Boyutlu Ölçekleme Analizi sonucunda ilk iki eksenle sergiledikleri benzerlikler. İrk kısaltmaları Tablo3.1.1 deki gibidir. Bu şekilde AKK-2 örnekleri kullanılmıştır.

Ancak, 3 ya da 4 kodona dayalı benzerlikler yerine, 745 bç benzerlikleri kullanıldığında ilişkiler yine değişmemiş GÖK ve varsa AKK-2 farklılığını korumuştur (Şekil 4.2.7.1.5 - 6).



Şekil 4.2.7.1.5. Bölgenin sekanlarına göre çalışılan ırklar ve Çok Boyutlu Ölçekleme Analizi sonucunda ilk iki eksenle sergiledikleri benzerlikler. İrk kısaltmaları Tablo3.1.1' deki gibidir.



Şekil 4.2.7.1.6. Bölgenin sekanslarına göre çalışılan ırklar ve Çok Boyutlu Ölçekleme Analizi sonucunda ilk iki eksende sergiledikleri benzerlikler. Irk kısaltmaları Tablo3.1.1' deki gibidir. Bu şekilde AKK-2 örnekleri kullanılmamıştır.

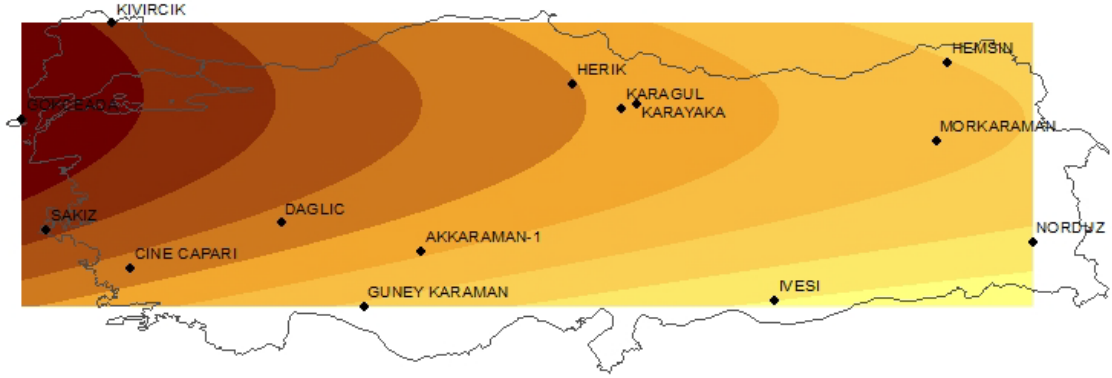
AKK-2 örnekleri kullanılmadığı durumda SAK ayrılmaktadır. Coğrafi olarak iki yakın ırk birinci eksene göre (ama ikinci eksene göre değil) birbirinden en farklı olarak gözükmiştir.

Sonuçlar şu şekilde özetlenebilir,

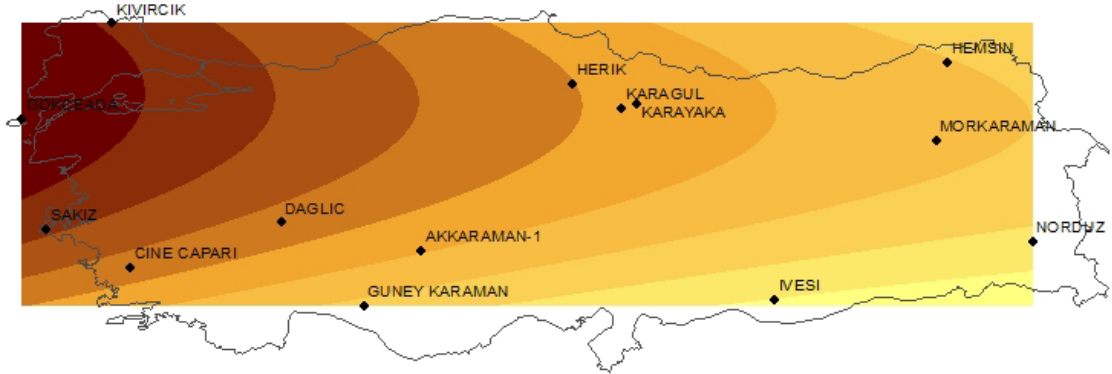
- 1) Çalışılan ırk örnekleri PrP Gen bölgesi hangi parametreyle çalışılırsa çalışılsın GÖK (bir ada popülasyonu) diğer ırlardan farklı çıkmaktadır. Projede sunulan önceki analizlerde de sadece bu ırkta ARR frekansı ARQ frekansından yüksekti Sadece bu ırkta AHR (sunulan çalışmada ve bir önceki projede) görülmekteydi.
- 2) Skrapı / atipik skrapı ile ilişkili olduğu düşünülen kodonlar ya da proteini kodlayan bölgenin neredeyse tamamına ait sekans, ırk benzerliği ile ilgili farklı sonuçlar vermemektedir. Türkiye için, aynı ırkın farklı iki örneği farklı iki ırkın örneğinden daha büyük genetik fark gösterebilir. O nedenle bir ırka ait frekansların uygulama için kullanımında dikkatli olunmalıdır.

4.2.8. PrP Bölgesi Genetik Çeşitliliğinin Dağılım Örgüleri

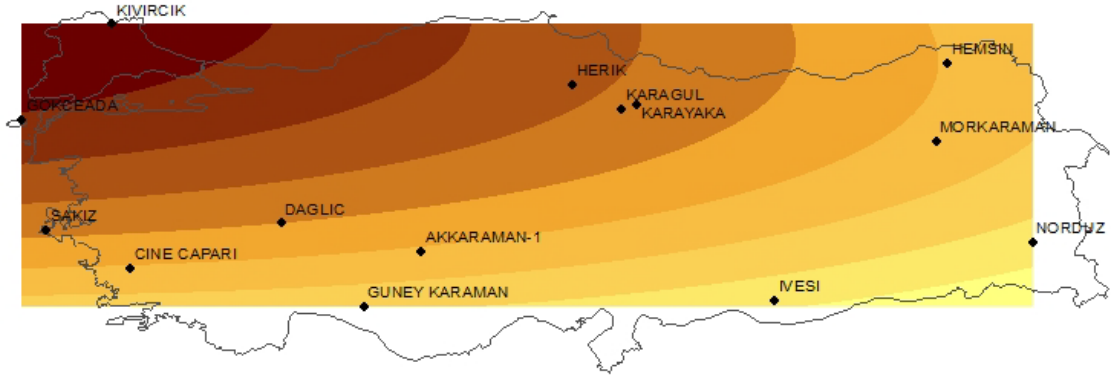
Klasik skrapı ve atipik skrapı frekansları ile PrP bölgesinin sekansı için oluşturulmuş Çok Boyutlu Ölçekleme sonuçları sentetik haritalar oluşturmak için kullanılmıştır. Türkiye haritası üzerinde farklı genetik çeşitlilik ölçülerine göre ortaya çıkan örgüler gözlenmiştir. Çok Boyutlu Ölçekleme şekillerinin ilk eksenlerine göre ortaya çıkan sentetik haritalar Şekil 4.2.8. 1-3 'te verilmiştir.



Şekil 4. 2. 8. 1. Klasik skrapi ile ilgili kodonlara göre Türkiye'de gözlenen genetik dağılım örgülerini sergilemekte olan sentetik harita. Irklar için Çok Boyutlu Ölçeklemenin birinci eksenindeki değerler kullanılmıştır. Harita ArcGIS Kriging yöntemine göre hazırlanmıştır. Irk kısaltmaları Tablo.3.1.1' de belirtilmiştir. AKK-2 ırk örneği olarak çok aykırı görüldüğünden analizlere katılmamıştır.



Şekil 4. 2. 8. 2. Atipik skrapi ile ilgili kodonlara göre Türkiye'de gözlenen genetik dağılım örgülerini sergilemekte olan sentetik harita. Irklar için Çok Boyutlu Ölçeklemenin birinci eksenindeki değerler kullanılmıştır. Harita ArcGIS Kriging yöntemine göre hazırlanmıştır. Irk kısaltmaları Tablo.3.1.1' de belirtilmiştir. AKK-2 ırk örneği olarak çok aykırı görüldüğünden analizlere katılmamıştır.



Şekil4. 2. 8. 3. PrP bölgesi sekanslarına göre Türkiye’de gözlenen genetik dağılım örgülerini sergilemekte olan sentetik harita. Irklar için Çok Boyutlu Ölçeklemenin birinci eksenindeki değerler kullanılmıştır. Harita ArcGIS Kriging yöntemine göre hazırlanmıştır. Irk kısaltmaları Tablo.3.1.1’ de belirtilmiştir. AKK-2 ırk örneği olarak çok aykırı görüldüğünden analizlere katılmamıştır.

Her üç haritada da ard arda gelen farklı koyulukta genetik çeşitlilik zonları olduğu gözlenmektedir. Zonlara göre genetik çeşitlilik açısından Kuzeybatı ve Güneydoğu en farklı ırkların olduğu bölgelerdir. Aradaki ırklar için ani değişimler gözlenmemekte, ara ırklar, en farklı ırkların çeşitli oranlarda karışımları olarak gözlenmektedirler. İki odaktan Kuzeybatı odağı daha önce klasik skrapi ve atipik skrapi risk grupları frekanslarında hassas ırkların görüldüğü yerleri hatırlatmaktadır. Koyu zonlar yüksek risk gruplarının bulunduğu ya Avrupa’dan olan karışımı (örn. Merinos), ya da Avrupa’ya atalık etmiş skrapiye yatkın koyun ırklarını (KRY da gözlenen klasik skrapi allelerinden VRR’nin Texel, Suffolk ve ABD de ırklarda gözlendiği hatırlanmalıdır), açık renkli zonlar da Asya’dan gelen yağlı kuyruklu olup yüksek risk kategorisi içermeyen (VRQ az ve skrapi hastalığı bildirilmemiş) ekonomik verim özellikleri göreceli az marjinal çevre koşullarına uyumlu ırkları sergilemekte olabilir. Bu yorum doğru ise Türkiye’de görülen PrP geni genetik çeşitliliği koyunların göçleri ile şekillenmiştir denebilir. Skrapi hastalığının görünmesi durumunda seleksiyon basıncı altında şu anda gözlenen geçişli yayılım (cline) değişecektir.

4.2.9. PrP bölgesi üzerinde rol oynayan etmenlere açıklık getirmek için yapılmış çalışmalar

Çalışmada 745 nükleotid uzunluğunda ve protein ürünü olan bir bölgeye (Ün bölgesi) ait 655 sekans bölgesi elde etmiş olarak polimorfizmlere detaylı olarak bakma olanağı elde edilmiştir. Bütün testler daha az sayıda bireyde (n=224) ancak daha uzun (897 bç) nükleotid uzunluğunda bir bölge (Babar bölgesi) için de yapıldı.

Sekanslar 3 ayrı paket program (DnaSP, Arlequin 3.11 ve Mega 5) 3 ayrı algoritma ile iki ayrı nötralite testinden geçirildi (Tablo.4.2.9.1). Testler Tajima'nın D Testi (Tajima, 1989) ve Fu'nun Fs Testi (Fu, 1997) olarak bilinmektedir. Bilindiği gibi PrP gen bölgesi otozomal kromozom bölgesidir. Bazı heterozigot bölgeler nedeniyle sekanslar her kromozom için tanımlanamamaktadır. Arlequin ve DnaSP paket programları olasılıklarla iki kromozomun sekanslamalarını çözmektedir. Sunulan raporda bu işlem 'sekans çözümü' olarak kullanılmıştır.

Tablo.4.2.9.1. Nükleotid dizileri kullanılarak hesaplanan Nötralite test sonuçları

	Nötralite Testleri	Babar bölgesi (n=224; n=448 ¹)	Ün bölgesi (n=655;n=1310 ¹)
MEGA 5 paket programı ile	Tajima'nın D	-1.130043 NS ²	-2.356929 ^{**} , ²
	Fu'nun Fs	-	-
Arlequin 3.11 paket programı ile	Tajima'nın D	-1.11280 NS ³	-1.92718 ^{***} , ³
	Fu'nun Fs	-26.59249 ^{***} , ³	-26.33287 ^{***} , ³
DnaSP v 5.1 paket programı ile	Tajima'nın D	-1.34226 NS ²	-2.01375 ^{**} , ³
	Fu'nun Fs	-76.076 ^{***} , ³	-287.064 ^{***} , ³

*p<0.05 ; ** p<0.01 ; ***p<0.001; NS anlamlı değil

¹DnaSP programında haplotip çözümü yapıldıktan sonraki örnek sayısı. Arlequin ve DnaSP programlarındaki hesaplamalarda kullanılan örnek sayısı.

²Anlamlılık değerleri ölçümü için Tajima'nın (1989) çalışmasındaki beta dağılımına bağlı "Confidence limit of *D*" tablosu (Tablo-2) kullanılmıştır.

³ Anlamlılık değerleri 'Coalescent Simulasyon' ile hesaplanmıştır.

DnaSP programında haplotip çözümü (haplotype reconstruction) 100 tekrarlı MCMC algoritmasına dayalı PHASE (Stephens ve ark., 2001; Stephens and Donnelly 2003) algoritması ile yapılmıştır.

Bu tabloya göre (Tablo.4.2.9.1) Ün bölgesi için yapılan testler, tüm algoritmalarda, en az 0.01 düzeyinde anlamlı yani nötraliteden sapmış olarak bulunmuştur. Daha az sayıda bireyle çalışılan Babar bölgesinde ise *Fu*' nun kıstasına göre nötraliteden sapma ancak Tajima'nın *D* istatistiğinde sapma (değerler gene negatif) ama anlamlı olmayan sapma bulunmuştur. Bu durum birey sayısının azlığından kaynaklanmaktadır. Final raporu sunulan projede, çok sayıda bireyden sekans elde edilmiş olmasının önemi böylece ortaya çıkmaktadır.

Bir sekans bölgesinin nötraliteden sapmış olması iki olasılığı akla getirmektedir: Çalışılan bireyler bir populasyon genişlemesine işaret etmektedir ya da çalışılan bölge üzerinde varyasyonu artırma yönünde bir pozitif seleksiyon vardır (Jobling ve ark., 2004). Her ne kadar 5000 yıl kadar önce günümüz koyunlarının büyük bir genişmeden geçtiği kabul edilse de (Chessa ve ark., 2009). EK.3'te mutasyonların pek azının sessiz, büyük çoğunluğunun aminoasit değişimine sebep olan mutasyonlar olduğunu görmek bu bölgede de tıpkı MHC lokusu gibi (Jobling ve ark., 2004) varyasyon artırıcı pozitif seleksiyonun çalıştığı yönündeki savı desteklemektedir. Sekansları bu yönden inceleme fikri Pakistan ekibinin fikridir. Bulunan sonuç da PrP geni çalışmalarında özgün bir bilgidir. Savın sınanması için daha detaylı araştırmalar Pakistan ekibi tarafından yapılmaktadır.

4.2.10. Skrapi genotiplerinin çevre etmenleri ve ırkların verim özellikleri ile ilişkisi

Projenin sunum aşamasında PrP polimorfizmleri sıklığının ırkların verim özellikleri ile ilgili olabileceği bu nedenle risk yelpazesinde bulunan iki uç haplotip sıklığını, VRQ'dan arınma ve ARR'yi arttırma, çalışmalarında ırkların verimlerinin de değişebileceği endişesi vardı (DeVries ve ark., 2004; Alexander ve ark., 2005; Benkel ve ark., 2007). Son yayınlarda (Alvarez ve ark., 2011) artık bu yönde bir endişe olmadığı belirtilmektedir. Sunulan proje kapsamında “ırkların verim özellikleri ile ARR ve VRQ haplotip sıklığı arasında bir bağlantı var mı?” sorusunu sınamak için lojistik regresyon analizi yöntemi kullanıldı.

Türkiye'den veriler katılmadan (verim yönleri tam tanımlanmamış olduğu için) literatürde verim yönü bilinen geniş bir coğrafyayı temsil eden Tablo.4.2.10.1' de belirtilen (22 ülkenin (156 ırk) ARR (skrapiye direnç) ve VRQ (skrapiye hassasiyet) ile ilişkili allel sıklıkları ile çevresel değişkenler (sıcaklık, yağış) ya da verim (et, süt vb) özellikleri açısından incelenmiştir. Kullanılan ırkların verim özelliklerine ait bilgiler literatürden (Tablo.4.2.10.1) ve <http://www.sheep101.info/> (28.02.2012) adresinden, çevresel değişkenler ile ilgili bilgiler ise (ülkelerin 10 yıllık sıcaklık ve yağış ortalaması) <http://www.climatetemp.info/> (28.02.2012) adresinden alınmıştır.

Tablo.4.2.10.1. Lojistik Regresyon Analizinde kullanılan Ülke, Irk Sayısı ve Verim yönleri

Ülke	IRK sayısı	Çalışma	Verim yönü
Hollanda	1	Hagenaars ve ark., 2010	Et
Almanya	9	Lipsky ve ark., 2008, Drögemüller ve ark., 2001	Et, yapağı Süt Et Yapağı
Avusturya	4	Sipos ve ark., 2002	Et, yapağı Yapağı Et
Polonya	5	Wisniewska and Mroczkowski, 2009	Et Et, yapağı Yapağı
Kanada	5	Homme ve ark., 2008	Et Et, yapağı
Moğolistan	4	Tsunoda ve ark., 2010 Wang ve ark., 2008	Et Verimi belli olmayan grup (0) Et, yapağı
Vietnam	1	Tsunoda ve ark., 2010,	Verimi belli olmayan grup (0)
Nepal	4	Tsunoda ve ark., 2010	Yapağı Et
Burma	1	Tsunoda ve ark., 2010	Verimi belli olmayan grup (0)
Yeni Zellanda	1	Bossers ve ark., 1999	Et
Bulgaristan	6	Sirakov <i>et al.</i> , 2011	Et, yapağı Süt Yapağı
İtalya	1	Acutis ve ark., 2004	Et, yapağı
İngiltere	14	Tsunoda ve ark., 2010, Roden ve ark., 2006	Et, yapağı Et, süt Yapağı
Fransa	29	François ve ark., 2003	Et Süt Yapağı (Et ağırlıklı)
İspanya	15	Acin ve ark., 2004 Hurtado ve ark., 2002	Süt Et Et, süt (Süt ağırlıklı)
Portekiz	16	Gama ve ark., 2006	Et, yapağı Et, yapağı (Eşit sayılabilir)
Tanzanya	3	Kipanyula ve ark., 2009	Et
Bhutan	3	Tsunoda ve ark., 2010	Yapağı
Kuveyt	1	Tsunoda ve ark., 2010	Et
Çin	4	Tsunoda ve ark., 2010 Lan ve ark., 2006	Et, yapağı Yapağı Et
Yunanistan	1	Billinis ve ark., 2004	Süt

Lojistik regresyon analizi bağımlı değişkenin iki kategorili bir değişken olması durumunda çoklu regresyon modelinin bir türü olarak düşünülebilir ve biyolojik araştırmalarda sıkça kullanılır. Bu çalışmada bağımlı değişkenler ve bağımsız değişkenler aşağıdaki Tablo.4.2.10.2'de verilmiştir. Bağımsız değişkenlerden ısı ve yağmur için nümerik değerler mevcutken verim değerleri katagorik olarak belirtilebilmektedir. Metodun gereksinimi olarak bu değerlerle ilgili bir referans katagori belirlenmesi gerekmektedir. Bu analizde referans katagori verim yönü belli olmayan ırklar olarak seçilmiştir.

Tablo.4.2.10.2. Lojistik regresyon modeline göre incelenen bağımlı ve bağımsız değişkenler.

Değişkenler	Kategori
Bağımlı Değişken	
ARR	22 ülkeye ait 156 ırk frekansı
VRQ	22 ülkeye ait 156 ırk frekansı
Bağımsız Değişkenler	
Verim Yönü	0-Verimi belli olmayanlar
	1-Et
	2-Süt
	3-Yapağı
	4-Et-süt
	5-Süt – yapağı
	6-Et Yapağı
Ortalama Sıcaklık	7-Et-süt – yapağı
	S ₁ - Aralık - Ocak - Şubat
	S ₂ -Mart-Nisan-Mayıs
	S ₃ -Haziran -Temmuz-Ağustos
Ortalama Yağış	S ₄ -Eylül-Ekim-Kasım
	Y ₁ -Aralık - Ocak - Şubat
	Y ₂ -Mart-Nisan-Mayıs
	Y ₃ -Haziran -Temmuz-Ağustos
	Y ₄ -Eylül-Ekim-Kasım

ARR frekanslarından yararlanarak yapılan lojistik regresyon analizinde yukarıda belirtilen bağımsız değişkenlerden hiç birinin önemli bulunmadığı görülmüştür. Diğer bir açıklama ile; verimi belli olanlar ile verimi belli olmayan ırklar arasında ARR frekans farkı verim yönünü belirten hiç bir bileşenle ya da sıcaklıkla (verim yönünden ve yağıştan bağımsız olarak) ya da mevsimsel yağmurlarla (verim yönünden ve sıcaklıktan bağımsız

olarak) ilişkili bulunmamıştır. VRQ alleli için yapılan logistik analiz sonuçları ise aşağıdaki tabloda verilmiştir (Tablo.4.2.10.3).

Tablo.4.2.10.3. VRQ alleli frekanslarında görülen değişimin verim parametreleri ve çevre etmenleri ile ilişkisinin lojistik regresyon analizi ile irdelenmesi

Bağımsız Değişkenler	Kategori	OR (95%)	CI (%95)	P değeri
Verim Yönü	0-Verimi belli olmayanlar	Referans alınan grup		
	1-Et	>999.999	0.926 - >999.999	0.0523
	2-Süt	572.275	0.235 - >999.999	0.1106
	3-Yapağı	932.458	0.440 - >999.999	0.0802
	4-Et-süt	534.454	0.191 - >999.999	0.1208
	5-Süt – yapağı	240.826	0.083 - >999.999	0.1775
	6-Et Yapağı	428.762	0.176 - >999.999	0.1278
	7-Et-süt – yapağı	>999.999	1.824 - >999.999	0.0367
Ortalama Sıcaklık	S ₁ - Aralık - Ocak - Şubat	1.211	0.800 - 1.832	0.3661
	S ₂ -Mart-Nisan-Mayıs	1.369	0.488 - 3.845	0.5508
	S ₃ -Haziran -Temmuz- Ağustos	1.026	0.571 - 1.846	0.9313
	S ₄ -Eylül-Ekim-Kasım	0.539	0.240 - 1.211	0.1347
Ortalama Yağış	Y ₁ -Aralık - Ocak - Şubat	0.915	0.853 - 0.981	0.0129
	Y ₂ -Mart-Nisan-Mayıs	1.083	1.018 - 1.152	0.0110
	Y ₃ -Haziran -Temmuz- Ağustos	0.964	0.942 - 0.987	0.0019
	Y ₄ -Eylül-Ekim-Kasım	1.088	1.023 - 1.157	0.0072

OR: Odds oranı, CI: Güven Aralığı (%95)

Bu aşamada ilk olarak 22 ülkeden 156 farklı ırk için katagorize edilmiş VRQ alleleline ilişkin olarak yukarıda sözü edilen 3 temel değişken (verim yönü, mevsimsel ortalama sıcaklık, mevsimsel ortalama yağış) ele alınarak, SAS programında ikili olabirlik oranı seçim kriteri (binary logit) kullanılarak ele alınan 3 temel değişken içerisinde önemli olanlar belirlenmeye çalışılmıştır. Elde edilen sonuçlar Tablo.4.2.10.3'teki gibidir. Üç bağımsız değişkenden oluşan modelin uyum iyiliğini gösteren olabirlik oranı (Likelihood Ratio, $\chi^2 = 56.52$, anlamlılık düzeyi; <0.0001) test sonucunun anlamlı bulunduğu anlaşılmaktadır. Sonuçlar incelendiğinde ele alınan tüm değişkenlerden ortalama yağışa ait olan değişkenler ile verim yönüne ait olan değişkenlerden sadece bir tanesinin (et-süt-yapağı) %5'e göre önemli bulunduğu gözlenmiştir. Üç değişkenden 2 tanesinin anlamlı olmasının anlaşılmasının

ardından, modelin gözlemlere uyum iyiliğini arttırmak amacı ile, diğer bir değişle daha iyi bir model kurmak amacı ile ortalama sıcaklık verileri modelden çıkarılmış ve SAS programında veriler tekrar analiz edilmiştir. Verim sınıflarından sadece biri anlamlı sonuç verdiği halde, kategorik veriler için kural gereği olarak tüm verim sınıfları modele dahil edilmiştir. Sıcaklık değişkeni olmadan yapılan lojistik analiz sonuçları Tablo.4.2.10.4'te verilmiştir.

Tablo.4.2.10.4. VRQ alleli frekanslarında görülen değişimin verim parametreleri ve yağmurla ilişkisinin lojistik regresyon analizi ile irdelenmesi

Bağımsız Değişkenler	Kategori	OR (95%)	CI (%95)	P değeri
Verim Yönü	0-Verimi belli olmayanlar	Referans alınan grup		
	1-Et	774.251	6.675 - >999.999	0.0061
	2-Süt	181.376	1.653 - >999.999	0.0300
	3-Yapağı	264.207	2.666 - >999.999	0.0174
	4-Et-süt	84.340	0.440 - >999.999	0.0981
	5-Süt – yapağı	60.348	0.339 - >999.999	0.1209
	6-Et Yapağı	174.380	1.601 - >999.999	0.0310
Ortalama Yağış	7-Et-süt – yapağı	593.581	3.466 - >999.999	0.0149
	Y ₁ -Aralık - Ocak - Şubat	0.916	0.876 - 0.959	0.0001
	Y ₂ -Mart-Nisan-Mayıs	1.094	1.042 - 1.148	0.0003
	Y ₃ -Haziran -Temmuz- Ağustos	0.969	0.955 - 0.984	<.0001
	Y ₄ -Eylül-Ekim-Kasım	1.055	1.023 - 1.089	0.0007

OR: Odds oranı, CI: Güven Aralığı (%95)

Sıcaklık bağımsız değişkeni olmadan yapılan analiz sonuçları incelendiğinde, değişkenlerden sadece 2'si hariç (et-süt ve süt-yapağı) diğer tümünün önemli bulunduğu ve modele dahil edilmesinin uygun olduğunu görmekteyiz. Gene kategorize grup için kural olarak tüm verim sınıfları modele dahil edilmektedir. İki bağımsız değişkenden oluşan modelin uyum iyiliğini gösteren olasılık (likelihood) test sonucunun ($\chi^2=49.64$, anlamlılık düzeyi <.0001) anlamlı bulunduğu anlaşılmaktadır. VRQ verilerine ve 2 değişken ele alınarak bulunan modelin doğru sınıflandırma oranı da % 80 olarak belirlenmiştir. Bağımsız değişkenlerden ortalama yağış değerlerini incelediğimizde, Y₂ (Mart-Nisan-Mayıs) ve Y₄ (Eylül-Ekim-Kasım) dönemlerindeki OR değerlerinin 1'den büyük olması nedeniyle yağış artışı

VRQ allel frekanslarında da artışa; diğer iki dönemdeki OR değerlerinin 1'den küçük olması ise, yağış artışı sonucunda frekanslarda düşüşe neden olduğu dikkati çekmektedir. Bu sonuç dikkate alınarak Y_1 ve Y_3 dönemleri çıkarılarak yeni bir analiz yapılmış ve sonucu aşağıda verilmiştir. İki bağımsız değişkenden oluşan modelin uyum iyiliğini gösteren olasılık (likelihood) test sonucunun ($\chi^2=27.78$, anlamlılık düzeyi 0,0010) anlamlı bulunduğu ve modelin doğru sınıflama oranının % 75 olduğu gözlenmiştir.

Tablo.4.2.10.5. Farklı ülke verilerinde (22 ülke) VRQ alleli frekanslarında logistik regresyon analizi sonuçları

Bağımsız Değişkenler	Kategori	OR (95%)	CI (%95)	P değeri
Verim Yönü	0-Verimi belli olmayanlar	Referans alınan grup		
	1-Et	26.107	1.328 - 513.046	0.0318
	2-Süt	11.860	0.568 - 247.734	0.1107
	3-Yapağı	8.869	0.443 - 177.675	0.1535
	4-Et-süt	3.127	0.077 - 126.559	0.5459
	5-Süt – yapağı	2.829	0.073 - 109.885	0.5776
	6-Et Yapağı	6.276	0.302 - 130.256	0.2352
Ortalama Yağış	7-Et-süt – yapağı	15.466	0.511 - 468.494	0.1156
	Y_2 -Mart-Nisan-Mayıs	1.003	0.982 - 1.024	0.7967
	Y_4 -Eylül-Ekim-Kasım	1.034	1.010 - 1.060	0.0060

OR: Odds oranı, CI: Güven Aralığı (%95)

Tablodaki sonuçlar incelenirken (Tablo.4.2.10.5), öncelikle gözlenen anlamlılık değerlerine bakılarak ilgili değişken kategorisinin anlamlı olup olmadığına bakılmaktadır. Anlamlı olan (%5'e göre) değişkenlerin belirlenmesinin ardından Y_2 ve Y_4 yağış dönemlerinde verim yönü ile skrap VRQ allelinin profilini belirlemeye yarayacak olan 1'den büyük değerler yorumlamaya çalışılmaktadır. 4. yağış döneminde (Eylül-Ekim-Kasım) yağış miktarındaki her 1 birimlik artış VRQ allelinin frekansını yaklaşık %3.4 oranında arttırmaktadır. Et verim yönlü ırklarda ise VRQ allelinin görülme oranı hiç verim yönü belli olmayan gruba göre 26.11 kat daha fazla iken, süt verim yönlü olan koyunlarda VRQ allelinin görülme olasılığı hiç verim yönü belli olmayan ırka göre 11.860 kat daha fazladır. Kombine

verim (et, süt ve yapağı) yönlü ırklarda VRQ alleli görülme olasılığı verim yönü belli olmayan ırlara oranla 15.47 kat daha fazladır.

Bu sonuçlar çerçevesinde oluşturulan yorumlar şu şekilde özetlenebilir:

- 1) Yağış gerçekten VRQ allelinin frekans değişimine etki ediyor olabilir. Eğer nemli bir ortam skrapinin bulaşmasında rol oynayan ajanın ortamdaki hızla uzaklaşmasına katkıda bulunuyorsa skrapinin daha seyrek görüleceği bir ortam (VRQ nun daha az negatif seçilime maruz kalacağı bir ortam) yaratarak VRQ artışı ile ilgili sonucu yaratabilir.
- 2) İlk bakışta VRQ allelinin verim özellikleri ile ilgili olması heyecan vericidir. O zaman skrapie hassasiyet ırkın verim yönü keskinleştikçe artıyor anlamına gelebilir. Ancak tüm verim yönleri ile artıyor olması verim yönü bilinen ve bilinmeyenler arkasındaki başka bir değişkenin düşünülmesini de gerektirmektedir. Gerçekten verim yönü bilinmeyen lkeler (Moğolistan, Vietnam ve Burma) gibi Asya lkeleridir. Asya'da VRQ alleli hiç görülmemektedir (Babar ve ark.,2009) ya da gerçekten çok düşüktür (Bkz. Tablo. 4.2.1.2). Bu ırlar skrapinin yayılması ile ilgili olduğu düşünülen Merinos (Detwiler ve Baylis 2003) katkısına maruz kalmamış ve hiç VRQ bulaştırılmamış olabilir. Ya da ekonomik yönden önemli ırlar (tüm verim parametreleri ile ilişkili olarak) seçilim esnasında genelde kaybettikleri evre etmenlerine direnç gibi, PrP de de VRQ artışı ile ilişkili olabilir. PrP haplotiplerinde skrapie yatkınlığın hangi etmenlere ve nasıl bağlı olabileceği sorusuna cevap aramak için ilk defa lojistik regresyon metodunun kullanılması ve yaklaşımın sonuçları projenin konuya özgün katkısını oluşturmaktadır.

4.2.11. Gen Bankasında spermaları ve dokuları saklanan bireylerin kullanımı ile ilgili olarak öneriler

Hemen hemen tamamı TÜRKHAYGEN-I örneklerinden oluşan koyunların dokuları Lalahan Hayvancılık Merkez Araştırma Enstitüsü ve TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezi'nde gen bankalarında saklanmaktadır. İlerde bu koyunlar ırkın başlatılmasında ya da güçlendirilmesinde kullanılacak olursa Avrupa Birliğinin 727/2007 düzenleme kararına göre skrapı açısından risksiz olan erkeklerin listesi ve kullanılmaması tavsiye edilen dişilerin listesi Tablo 4.2.11. 1' de ve Tablo 4.2.11. 2' de da verilmiştir.

Tablo 4.2.11.1.Klasik skrapı riskini azaltmak için kullanılması tavsiye edilen erkekler ve banka kodları

ARR/ARR Genotipli Erkek Bireyler	
Birey	Birey Kodu
Norduz	
NOR 12	Ovis-Nor-01-03-2009-65-275E-01
Çine Çaparı	
ÇİÇ 14	Ovis-Çiç-01-03-2008-09-961E-03
ÇİÇ 17	Ovis-Çiç-01-03-2008-09-968E-03
ÇİÇ 21	Ovis-Çiç-01-03-2008-09-976E-03
Dağlıç	
DAG 44	Ovis-Dağ-01-03-2007-03-44E-10
DAG 49	Ovis-Dağ-01-03-2007-03-49E-03
Herik	
HER 33	Ovis-Her-01-03-2009-05-33E-05
Kıvırcık	
KIV2	Ovis-Kiv-03-03-2008-39-02E-03
KIV7	Ovis-Kiv-03-03-2008-39-07E-05
KIV13	Ovis-Kiv-03-03-2008-39-13E-05
KIV16	Ovis-Kiv-03-03-2008-39-16E-09
KIV17	Ovis-Kiv-03-03-2008-39-17E-09
KIV21	Ovis-Kiv-03-03-2008-39-21E-03
Akkaraman	
AKK 34	Ovis-Akk-01-03-2007-42-34E-09
AKK 37	Ovis-Akk-01-03-2007-42-37E-12
AKK 41	Ovis-Akk-01-03-2007-42-41E-16
AKK 49	Ovis-Akk-01-03-2007-42-49E-24
Karagül	
KRG 43	Ovis-Krg-01-03-2009-60 43E-02
Morkaraman	

MRK 14	Ovis-Mrk-04-03-2008-25-265E-05
Hemşin	
HEM 26	Ovis-Hem-01-03-2008-08-TR084359E-16
HEM 31	Ovis-Hem-01-03-2008-08-TR085737E-03
Karayaka	
KRY 34	Ovis-Kry-01-03-2007-60-34E-09
KRY 44	Ovis-Kry-01-03-2007-52-44E-19
Gökçeada	
GOK 2	Ovis-Gökça-04-03-2007-17-02E-02
GOK 7	Ovis-Gökça-04-03-2007-17-07E-02
GOK 13	Ovis-Gökça-04-03-2007-17-13E-04
GOK 14	Ovis-Gökça-04-03-2007-17-14E-04
GOK 17	Ovis-Gökça-04-03-2007-17-17E-04
GOK 19	Ovis-Gökça-04-03-2007-17-19E-04
GOK 21	Ovis-Gökça-04-03-2007-17-21E-04
GOK 22	Ovis-Gökça-04-03-2007-17-22E-04
GOK 23	Ovis-Gökça-04-03-2007-17-23E-04
GOK 24	Ovis-Gökça-04-03-2007-17-24E-04
Güney Karaman	
GK 7	Ovis-GK-05-03-2011-TR42-9893E-01
GK 17	Ovis-GK-05-03-2011-TR42-9950E-01
GK 31	Ovis-GK-05-03-2011-TR42-8734E-01

Güney Karaman örneklerinin dokuları bankada değildir ancak Bahri Dağdaş Uluslar Arası Tarımsal Araştırma Enstitüsü koyunculuk işletmesinden bu bireyler bulunabilir.

Tablo 4.2.11.2. Klasik skrapi riskini azaltmak için kullanılmaması tavsiye edilen dişiler ve banka kodları

VRQ Alelini taşıyan (ARQ/VRQ, ARR/VRQ, VRR/VRQ, VRQ/VRQ Genotipli) Dişi Bireyler	
Birey	Birey Kodu
Çine Çapanı	
ÇİÇ 2	Ovis-Çiç-01-03-2008-09-585-01
ÇİÇ 28	Ovis-Çiç-01-03-2008-09-536-01
Kıvırcık	
KIV 38	Ovis-Kiv-03-03-2008-39-38-06
KIV 44	Ovis-Kiv-03-03-2008-39-44-08
Karayaka	
KRY 6	Ovis-Kry-01-03-2007-60-06-42
KRY 14	Ovis-Kry-01-03-2007-60-14-35
KRY 18	Ovis-Kry-01-03-2007-60-18-39
KRY 23	Ovis-Kry-01-03-2007-60-23-16
Dağlıç	
DAG 15	Ovis-Dağ-01-03-2007-03-38-15

DNA bankası örnekleri ile ilgili yapılan öneriler mutlak suretle baknadan sorumlu otoriteye ve kurumlara iletilecektir. Bu şekilde banka materyali ile yapılacak her türlü sürü yönetimi faaliyetinde skrapi riskinin azaltılmasına katkıda bulunulacağı düşünülmektedir.

5. Çalışmanın Bütünleştirilmiş Sonuçları

- 1) Çalışılan populasyonlardaki gözlenen varyasyonların sonuçları incelendiğinde, farklı ülkelerde çeşitli koyun ırklarıyla yapılmış olan araştırmalarda klasik ve atipik skrapide yaygın olarak gözlemlenen varyantların (ALRQ, ALRH, ALRR, AFRQ, ALHQ ve VLRQ) tümü bu araştırmada da 136, 141, 154 ve 171. kodonlarda görüldüğü saptanmıştır. Bu allellerin dışında nadir olarak görülen ALRK, TLRQ, TLRH, TLHQ, ALHH, ALHR, AFRH, VLRR ve VLRH haplotip alleleri yine bu çalışmada düşük frekanslarda da olsa gözlemlenmiştir.
- 2) Klasik skrapi direnci ile ilgili olduğu kabul edilen 136, 154 ve 171. kodonlarla saptanan haplotipler içinde Türk koyun ırklarında en sık rastlanan haplotip ARQ (0.609) dur. Sonra sırasıyla ARR (0.194), ve ARH (0.124) alleleri en sık rastlanan haplotiplerdir. Çalışmada gözlenmiş olan diğer 10 allelin frekansları 0.05 den azdır. Sonuçlar en sık rastlanan allellerin sıklık sıralaması açısından Türkiye'den koyunlarla ilgili yapılmış önceki yayınlarla örtüşmektedir. Ancak, gözlenen allel sayıları (sunulan çalışmada 13 – bundan önceki 5 yayında toplam 7) açısından çalışmaların sonuçları oldukça farklıdır.
- 3) Aynı ırkın bağımsız örnekleri örneğin Akkaraman (Alvarez ve ark. 2011, sunulan çalışmada AKK-1 ve AKK-2) için en sık rastlanan allel (ARQ) frekansı çalışmalar arasında çok farklılık (0.500-0.786) göstermektedir. Kayıtlı yetiştiricilik yapılmayan, ırklar arasında izolasyon olmayan ülkemizde, ırklar homojen bir yapıya sahip olmadıklarından farklı örnekler için farklı gözlemler beklenmelidir.
- 4) Ayrıca 2000 yıllarında örneklenmiş AKK-2 örneğinin 2007 den bu yana örneklenmiş çalışma örneklerinin neredeyse hepsinden (ırk öbeğinden) Çok Boyutlu Ölçekleme

Analizinde ayrı durması ırkların yıllar içinde pazar ekonomisinin ya da rastlantısal sürüklenmenin etkisinde önemli genetik yapı değişikliğine uğradığına işaret etmektedir.

- 5) Yukarıda sunulan bilgi ve düşünceler ışığında Türkiye'den yapılan çalışmalarda en sık rastlanan alleller ve göreceli sıralamaları en güvenilir değerlerdir. Buna göre Türkiye'de klasik skrapi açısından ağırlıklı olarak ARQ homozigot ve ARQ heterozigot genotipleri çoğunlukta ve Türkiye için koyunlar klasik skrapi açısından 3. risk (5 skalasında) seviyesindedir.
- 6) Türkiye, koyun evcilleşme merkezini topraklarında barındıran, göçlerle gen havuzları zenginleşen ve koyun ırkları üzerinde yoğun seleksiyon baskısı olmayan bir ülkeden bekleneceği gibi klasik skrapi ile ilgili gözlenen haplotipleri sayısı (13) açısından dünyada en zengin ülke konumundadır.
- 7) PrP bölgesinin geri kalan kısmı için yayınlanmış yaygın bilgi olmadığından kesin birşey söylenemezse de, sadece 3 kodona göre yapılan yukarıdaki karşılaştırma sonucu, bölgenin gerisi için de geçerli olabilir. Buna göre, dünyada koyunda PrP genetik çeşitliliğinin gözleneceği sıcak nokta (hot spot) Türkiye ve civarıdır.
- 8) Risk durumları bilinmeyen çok sayıda genotipin (klasik ya da atipik skrapi için) biriktiği çalışmada gözlenmiştir. Farklı genotiplerde koyunları farklı PrP soylarına maruz bırakarak yaşarlılıkları ve genotipleri ile olan ilişkilerine bakmak için en zengin genotip varlığı Türkiye'de mevcuttur.
- 9) Irklar için yorumların, örnekleme farklarında değişebileceği için, dikkatle yapılması gerekliliği vurgulanmış olsa bile bölgesel gruplar için çıkarımlar yapılabilir.
 - a) Türkiye'de klasik skrapi açısından en riskli genotipleri (VRQ/VRQ) içeren ırklar Kıvırcık, Çineçaparı ve Karayaka olarak gözlenmiştir. VRQ heterozigotları da (ikinci olarak en fazla risk içeren grup) düşünüldüğünde Gökçeada ve Dağlıç da ilk üçlü gruba eklenebilir. Aslında ırklar arasında gen alışverişinin yüksek olduğu (mikrosatellitlere bağlı laboratuvarımızda yapılmış yeni bir hesaplamayla bir ırk için

her generasyonda 5 den fazla birey alışverişi olduğu hesaplanmıştır) ülkemizde bu 5 ırk yaygın bir bölge olarak kuzey batı Türkiye'yi işaret etmektedir.

- b)** Sentetik haritalarda da (sekanslar için de) aynı yaygın Kuzeydoğu bölgesi koyu gölgeler olarak işaretlemektedir.
- c)** Geniş çaplı mikrosatellit çalışması (Peter et al., 2007) Türkiye'den çalışılmış Kıvırcık ve Dağlıç ırklarını Avrupa ırkları öbeğine koymuştur.
- d)** Türkiye'de sadece Karayaka'da bulunan VRR allelinin ilk defa Texel, Nolano, Suffolk gibi Avrupa'dan ırklarda (Kutzer ve ark., 2002) aynı şekilde Gökçeada da bulunan AHR allelinin de Avrupa'dan koyunlarda bulunmuş olması (Kutzer ve ark., 2002) bu ırkların Avrupa ırkları ile benzeştiğini ve bölge olarak koyunların (farklı dozlarda da olsa) Türkiye'deki diğer ırklardan ayrıldığı savını güçlendirmektedir.
- e)** Ağırlıklı olarak yağlı kuyruklu olan (Akkaraman, Morkaraman, İvesi, Norduz, Güney Karaman, Karagül ve hatta Hemşin) ırkların hiç birinde Pakistan'da da görülmemiş olan Asya'da genelde düşük frekansda gözlenen VRQ alleleline rastlanmamıştır. Bu grup da sentetik haritalarda (sekanslarla da) açık renkli gölgelerle ifade edilmiştir.
- f)** Sonuç olarak, Türkiye'de kökeni ayrı, ama kesin çizgilerle ayrılmayan, kuyruk yapısı ile oldukça örtüşen, iki koyun grubunun varlığı (Sakız ırkı bu eğilime VRQ açısından uymamakla beraber) PrP gen çeşitliliği ile de genel olarak desteklenmiştir. Bu iki gruptan ilki VRQ allelini içermesi nedeniyle ikinci gruptan daha fazla klasik skrapie riski içermektedir.

10) Klasik skrapieye dirençle ilgili olduğu kabul edilen haplotiplerinin dışındaki kodonlara: 137, 141, 146, 177 (Vaccari ve ark. 2007; Frootan ve ark., 2011) ait direnç yarattığı düşünülen polimorfizmler skrapinin rapor edilmediği Türkiye ve Pakistan'da hiç görülmediği ya da seyrek görüldüğünden direnç ile ilgili olma olasılıkları düşüktür.

11) Çalışmalar arttıkça yeni bir haplotipin gözlenme olasılığı düşmesine rağmen çalışmada sadece Sakız ırkında klasik skrapie haplotipleri açısından yeni bir haplotip: THQ

gözlenmiştir. Bu da çeşitli çalışmalarda (örn. Meadows ve Kijas, 2009) Sakız'ın farklı daha izole bir ırk olduğu savını desteklemektedir.

12) Gökçeada ırkı da Çok Değişkenli Ölçekleme Analizinde daima diğer ırklardan farklı olarak gözlenmiştir bu farklılığın diğer ırklarda değil de Gökçeada'da görülmesinin nedeninin onun genetik açıdan, bir ada popülasyonu olarak, rastlantısal sürüklenmeden etkilenmiş olmasıyla açıklanabilir.

13) Projenin uygulamalı bir çıktısı olmuştur. doku örnekleri TURKHAYGEN-I çerçevesinde kurulmuş DNA bankasında bulunan (Güney Karaman ırkı hariç) koyun örnekleri, Avrupa Birliği düzenleme kararları çerçevesinde klasik skrapiye dirençli sürü yaratma esnasında kullanılmaları istenen erkekler ve kullanılmaması istenen dişiler olarak belirlenmiştir.

14) Literatürde atipik skrapi genotipleri ile ilgili bilgiler henüz birikmemiştir. Sunulan çalışma atipik genotip frekanslarını rapor etmek açısından belki de önde gelen çalışmalardandır.

15) Türkiye koyunları atipik skrapiye dirençlilik açısından 0 ve 1. risk grubundadır (4 uzerinden ve en riskli grup 4 tür).

16) Türkiye'de bulunan koyunlarda atipik skrapi açısından görülen en riskli genotipleri içeren ırklar Sakız, Kıvırcık, Dağlıç Gökçeada ve Norduz ırklarıdır.

17) Atipik ve Klasik skrapi açısından en az riskli ırklar Akkaraman, Güney Karaman, Karagül, Hemşin ve İvesi olarak gözlenmektedir. Atipik skrapinin seyrek görülmesi nedeniyle Avrupa Birliğinde uygulanan klasik skarapiye dirençli sürü geliştirme kuralları Kıvırcık, Karayaka, Çine Çaparı, Gökçeada ve Dağlıç için uygulanabilir.

18) PrP bölgesinin, sergilediği özellikler (mutasyonların çoğunun aminoasit değişimine sebep olmuş olması) ve ilk nötralite testleri sonuçlarına göre amino asit çeşitliliğini arttırıcı bir seleksiyon altında olduğu anlaşılmaktadır. Bu durum PrP bölgesinin hala tam bilinmeyen fonksiyonu (hücreler arası sinyal ve uzun dönemli hafızada rol oynadığı önerilmektedir) ile ilgili çalışmalarda yardımcı olabilir.

19) Önceki çalışmalardan elde edilen verilerle yapılan lojistik regresyon analizlerinde klasik skrapinin hastalık riskiyle en yüksek ilişkisi olduğu düşünülen VRQ allelinin ırkların et, süt gibi çeşitli verim özellikleri ile ilişkili olduğunun bu çalışma ile gözlenmesi yeni sorulara yol açmaktadır. Ekonomik olarak önemli ırklar Avrupa'da geliştirilmiş ırklardır. Hepsi ortak bir gen havuzundan gelmiştir. Gene ortak özellikleri olarak zorlu çevre koşullarına (marjinal) dayanıklılıkları azdır. Bu çerçevede skrapkiye de hassas olmaları beklenebilir.

a) Bir olasılık, VRQ allelinin verimle ilişkili olmadan havuzda var olup, ekonomik olarak seçilmiş direnci düşük ırkları işaretlemesi ve skrapki hassasiyetiyle ilişkili olmasıdır.

b) Bu durumda genellikle skrapinin rapor edilmediği gelişmekte olan ülkelerin ırkları VRQ içermeyen ikinci bir gen havuzunun ürünleri olup, genetik çeşitliliğin genelde yüksek olması ile genelde hastalıklara dirençli ve VRQ nun olmaması ile de ayrıca korunmakta olup gerçekten skrapisiz ırklar olabilir. Yani skrapinin görülmemesi belki de gerçek bir olgudur.

c) Lojistik regresyon bize VRQ ile ayrılan iki farklı koyun gen havuzunun varlığına (Avrupa ve Asya) işaret ediyor olabilir. Bu iki gen havuzunun bir kavuşma yerinin de Türkiye olmuş olması kuvvetle olasıdır.

20) Sunulan çalışma esnasında PrP bölgesi genetik profilinin; i) bir taraftan bilinmeyen görev(ler) nedeniyle amino asit çeşitliliğini artırma yönünde pozitif bir seleksiyon etkisinde ii) diğer taraftan klasik skrapinin var olduğu durumda ARR allelini artırma VRQ allelini azaltma (daha nadir görülen atipik skrapki varlığında başka alleler için) yönünde arıtma yapan bir doğal seleksiyon, iii) skrapkiye dirençli sürüler oluşturmak için Avrupa (ve bir ölçüde de Amerika'da (Alvarez ve ark., 2011)) insan eliyle yürütülen arıtma yapan seleksiyon, iv) rastlantısal sürüklenme ve v) en az iki (Asya ve Avrupa) gen havuzu ürünlerinin (ırklarının) birbiri ile karışımı (göç) sonunda ortaya çıkmış olacağı anlaşılmıştır.

21) PrP geninin fonksiyonunun ve skrapieyle ilişkisinin anlaşılmasında protein modellemelerinin, yanı sıra tüm genomu tarayan tek nükleotid polimorfizmleri (TNP)'nden elde edilmiş verilerin rol oynayacağı öngörülebilir.

KAYNAKLAR

ACÍN, C., Burriel, I. M., Goldmann, W., Lyahyai, J., Monzo´ n, M., Bolea, R., Smith, A., Rodellar, C., Badiola, J. J. and Zaragoza, P. (2004) Prion protein gene polymorphisms in healthy and scrapie-affected Spanish sheep. *J. Gen. Virol.* 85, 2103-2110 U

ACUTÍS P.L., Sbaiz L., Verburg F., Riina M.V., Ru G., Moda G., ve ark., 2004. Low frequency of the scrapie resistance-associated allele and presence of lysine-171 allele of the prion protein gene in Italian Biellese ovine breed, *J. Gen. Virol.* 85:3165–3172

ALEXANDER B.M., Stobart RçHç, Russel W.C. ve ark., (2005) The influence of Genotypes at codon 171 of the prion protein gene (PRNP) in five breeds of sheep and production traits of ewes associated with those genotypes. *Journal of Animal Science*, 83: 455-459

ALLENDORF F.W., Luikart G. (2007) *Conservation and the Genetics of Populations*. First Edition, Wiley-Blackwell, MA, US

ALVAREZ, L., Arranz, J. J. and San Primitivo, F. (2006) Identification of a new leucine haplotype (ALQ) at codon 154 in the ovine prion protein gene in Spanish sheep. *J Anim Sci*, 84:259-265

ÁLVAREZ, I., Royo, J. , Gutiérrez, J.P. , Fernández, I., Arranz, J.J., Goyache F. (2007) Genetic diversity loss due to selection for scrapie resistance in the rare Spanish Xalda sheep breed. *Livestock Science* 111, 204–212

ÁLVAREZ, I., Gutiérrez, J.P. , Royo, J. ,Fernández, I., Goyache F. (2009) Quantifying diversity losses due to selection for scrapie resistance in three endangered Spanish sheep breeds using microsatellite information. *Preventive Veterinary Medicine* 91, 172–178

ALVAREZ, L., Gutierrez-Gil, B., Uzun, M., Primitivo, F. S., Arranz, J. J. (2011) Genetic variability in the prion protein gene in five indigenous Turkish sheep breeds. *Small Ruminant Res.* 3985; 6

ANONİM (2004). Bovine spongiform encephalopathy. In *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (Mammals, Birds and Bees)*, vol. 2, chapter 2.3.13, pp. 642–653. Paris: World Organisation for Animal Health (OIE).

ArcGIS Desktop 10, Esri yazılımları (www.esri.com), Programın lisansı Orta Doğu Teknik Üniversitesi adına alınmıştır.

ARNOLD, J. E., Tipler, C., Laszlo, L., Hope, J., Landon, M. and Mayer, R. J. (1995). The abnormal isoform of the prion protein accumulates in late endosome-like organelles in scrapie-infected mouse-brain. *J. Pathol.* 176, 403-411.

ARSAC J-N, Betemps D, Morignat E, Feraudet C, Bencsik A, ve ark., (2009) Transmissibility of Atypical Scrapie in Ovine Transgenic Mice: Major Effects of Host Prion Protein Expression and Donor Prion Genotype. *PLoS ONE* 4(10): e7300

BABAR, M.E., Farid, A., Benkel, B.F., Ahmad, Sajid I.A., Imran, M A, Hussain, T., and A. Nadeem (2008) Genetic variability at seven codons of the prion protein gene in nine Pakistani sheep breeds. *Journal of Genetics*, Vol. 87, No. 2.

BABAR, M.E., Farid, A., Benkel, B.F., Ahmad, J., Imran, M A. Nadeem (2009) Frequencies of PrP genotypes and their implication for breeding against scrapie susceptibility in nine Pakistani sheep breeds. *Mol Biol Rep.* 36:561–565

BENESTAD SL, Sarradin P, Thu B, Schönheit J, Tranulis MA, Bratberg B. (2003) Cases of scrapie with unusual features in Norway and designation of a new type, Nor98. *Vet Rec*, 153:202-208.

BENESTAD, S. L., Arsac, J.-N., Goldmann, W. & Noremark, M. (2008) Atypical/Nor98 scrapie: properties of the agent, genetics and epidemiology. *Vet Res* 39, 19.

BENKEL B.F., Valle E., Bissonnette N., Farid A.H. (2007) Simultaneous detection of eight single nucleotide polymorphisms in the ovine prion protein gene. *Molecular and Cellular Probes.* 21:363-367.

BORCHELT, D.R., Scott, M., Taraboulos, A., Stahl, N., and Prusiner, S.B. (1990). Scrapie and cellular prion proteins differ in their kinetics of synthesis and topology in cultured cells. *J. Cell Biol.* 110, 743-752.

BORCHELT, D.R., Taraboulos, A., ve Prusiner, S.B. (1992). Evidence for synthesis of scrapie prion proteins in the endocytic pathway. *J. Biol. Chem.* (in press).

BOSSERS, A., Harders, F.L., Smits, M.A., (1999) PrP genotype frequencies of the most dominant sheep breed in a country free from scrapie. *Arch. Virol.* 144, 829–834

BOULTON, K., Moore, R.C., Bishop, S.C. (2010) Associations of PrP genotype with lamb production traits in four commercial breeds of British upland and crossing sheep. *Livestock Science* 127, 155–163

BROWN DR, Qin K, Herms JW, ve ark. (1997) The cellular prion protein binds copper in vivo. *Nature* 390 (6661): 684–7.

BROWN, D. R., B.-S. Wong, F. Hafiz, C. Clive, S. J. Haswell, and I. M. Jones. 1999. Normal prion protein has an activity like that of superoxide dismutase. *Biochem. J.* 344:1–5.

BUSCHMANN, A., Biacabe, A., Ziegler, U., Bencsik, A., Madec, J. Y., Erhardt, G., Luñken, G., Baron, T. & Groschup, M. H. (2004) Atypical scrapie cases in Germany and France are identified by discrepant reaction patterns in BSE rapid tests. *J Virol Methods* 117, 27–36.

CAUGHEY, B. and G.S. Baron (2006) Prions and their partners in crime. *Nature*.443 : 803-810.

CHEN Xin, HE San-Gang, LIU Ming-Jun. (2010) Polymorphism at codons 136, 141 and 154 in the ovine prion protein gene in the state of Xinjiang, *Hereditas*, 32(11) 1159-1165 .

CHESSA, B., Pereira, F., Arnauld, F., Amorim, A., Goyache, F. ve ark. (2009) Revealing the History of Sheep Domestication Using Retrovirus Integrations. *Science* 324: 532-536.

CLOUSCARD C., Beaudry P., Elsen J.M., Milan D., Dussaucy M., Bounneau C., Schelcher R., Chatelain J., Launay V., Laplanche J.L. (1995) Different allelic effects of the codons 136 and 171 of the prion protein gene in sheep with natural scrapie. *J.Gen.Virol.* 76, 2097–2101

COLLINGE J. (2001) Prion diseases of humans and animals: their causes and molecular basis. *Annu Rev Neurosci.*; 24:519-50.

COȘIER, V., Vlaic, A., Vioara M., Constantinescu R. (2011) The genetic resistance of rams from Turcana breed to Ovine Transmissible Spongiform Encephalopathy (scrapie). Romanian Biotechnological Letters Vol. 16, No. 4.

CONSTANTINESCU R., Coșier V., Vlaic A., Mireșan V., Raducu C., Cocan D., Feștilă I.(2009). Genetic structure of turcana breed, Sibian ecotype at ovine PRN-P locus. *Lucrări Științifice USAMV Iasi, Seria Zootehnie.* **53**(15):16-19 (2009).

DAWSON M, Hoinville LJ, Hosie BD, Hunter N. (1998) Guidance on the use of PrP genotyping as an aid to the control of clinical Scrapie. *Vet Rec*, 142:623-625

DE BOSSCHERE, H., Roels, S., Benestad, S. L. & Vanopdenbosch, E. (2004). Scrapie case similar to Nor98 diagnosed in Belgium via active surveillance. *Vet Rec* 155, 707–708.

DEL CASTILLO FJ, ve ark., (2005) I. A novel deletion involving the connexin-30 gene, del(GJB6-d13s1854), found in trans with mutations in the GJB2 gene (connexin-26) in subjects with DFNB1 non-syndromic hearing impairment. *J Med Genet.*; 42:588–94.

DESILVA, U., Guo, X., Kupfer, D.M., Fernando, S.C., Pillai, A.T.V., Najar, F.Z., So, S., Fitch G.Q., and Roeb, B.A. (2003). Allelic variants of ovine prion protein gene (PRNP) in Oklahoma sheep. *Cytogenet Genome Res* 102:89–94.

DETWILER, L. A. 1992 Scrapie. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 11,491-537.

DETWILER LA, Baylis M. (2003) The epidemiology of scrapie. *Rev Sci Tech.*, 22(1):121-43.
Dickinson, A. G., Stamp, J. T. & Renwick, C. C. (1974). Maternal and lateral transmission of scrapie in sheep. *Journal of Comparative Pathology* 84, 19±25.

DEVRIES F., Borchers N., Hammann H. ve ark., (2004) Associations between the prion protein genotype and performance traits of meat breeds of sheep. *Veterinary. Record*, 155:140-143.

DÎNÇ, H. (2003). Alu insertion polymorphisms in Anatolian Turks. Master Thesis, Middle East Technical University, Ankara, Turkey.

DRÖGEMÜLLER, C., Leeb, T., Distl, O., 2001. PrP genotype frequencies in German breeding sheep and the potential to breed for resistance to scrapie. *Vet. Rec.* 149, 349–35

EKATERINIADOU, L.V., Kanata, E., Panagiotidis, C., Nikolaou, A., Koutsoukou, E., Lymberopoulos, A.G., Sklaviadis, T., (2007) PrP genotypes in scrapie-affected sheep in Greece. The contribution of the AHQ polymorphism. *Small Rum. Res.* 73, 142–149

ELMACI, C., Öner, Y. Yeşilbağ, K., Erdoğan T. (2009). Türkiye Koyun Irklarında Prion Proteini Geni (PrP) Polimorfizmi. TOVAG – 106 O 718 nolu proje raporu

EVEREST, S. J., Thorne, L., Barnicle, D. A., Edwards, J. C., Elliott, H., Jackman, R. & Hope, J. (2006). Atypical prion protein in sheep brain collected during the British scrapie-surveillance programme. *J Gen Virol* 87, 471–477.

EXCOFFIER, L. G. Laval, and S. Schneider, 2005 Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online* 1:47-50.

FEDIAEVSKY A. Tongue SC, Nöremark M, Calavas D, Ru G, Hopp P. (2008) A descriptive study of the prevalence of atypical and classical scrapie in sheep in 20 European countries. *BMC Veterinary Research*, 4:19

FEDIAEVSKY A, Morignat E, Ducrot C, Calavas D. (2009) A case-control study on the origin of atypical scrapie in sheep, France. *Emerging Infectious Diseases*, 15:710-718

FEDIAEVSKY, A., C. Maurella, M. Nöremark, F. Ingravalle, S. Thorgeirsdottir, L. Orge, R. Poizat, M. Hautaniemi, B. Liam, D. Calavas, G. Ru, P. Hopp (2010) The prevalence of atypical scrapie in sheep from positive flocks is not higher than in the general sheep population in 11 European countries. *BMC Veterinary Research*, 6:9

FEDIAEVSKY, A., Calavas, D., Gasqui, P., Moazami-Goudarzi, K., Laurent, P., Arsac, J-N., Ducrot C., and Moreno C. (2010) Quantitative estimation of genetic risk for atypical scrapie in French sheep and potential consequences of the current breeding programme for resistance to scrapie on the risk of atypical scrapie. *Genetics Selection Evolution*, 42:14

FITZMAURICE ve ark., (2008) The stability and aggregation of ovine prion protein associated with classical and atypical scrapie correlates with the ease of unwinding of helix-2. *Biochem. J.* 409, 367–375

FROOTAN, F., Nikbakht, G., Özdemir Özgentürk, N., and Ün, C. (2011) Prion Protein Coding Gene (PRNP) Variability in Sheep from Turkey and Iran. *Biochem Genet.* 011-9470-4

FROOTAN, F.(2009) Türkiye ve İran Yerli Koyun Irklarında Prion Geni Analizi. Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi. İstanbul. 2009

FOSTER, J. D., Parnham, D., Chong, A., Goldmann, W. & Hunter, N. (2001). Clinical signs, histopathology and genetics of experimental transmission of BSE and natural scrapie to sheep and goats. *Vet Rec* 148, 165–171.

FRANÇOIS, D., Elsen, J.M., Barillet, F., Lajous, D., Eychenne, F. And Palhiere, I. (2003) Breeding Sheep for scrapie resistance.

FU, Y.X. (1997) Statistical Tests of Neutrality of Mutations Against Population Growth, Hitchhiking and Background Selection. *Genetics* 147:915-925.

GAMA, L.T., Carolino, M.I., Santos-Silva, M.F., Pimenta, J.A., Costa, M.S. (2006) Prion protein genetic polymorphisms and breeding strategies in Portuguese breeds of sheep. *Livestock Science* 99, 175– 184

GAVIER-WIDEN, D., Noëremark, M., Benestad, S., Simmons, M., Renström, L., Bratberg, B., Elvander, M. & Segerstad, C. H. (2004). Recognition of the Nor98 variant of scrapie in the Swedish sheep population. *J Vet Diagn Invest* 16, 562–567.

GIBBS, C.J., Jr., Safar, J., Sulima, M.P., Bacote, A.E., and San Martin, R.A. (1996) Transmission of sheep and goat strains of scrapie from experimentally infected cattle to hamsters and mice. In *Bovine spongiform encephalopathy: The BSE dilemma* (ed. C.J. Gibbs, Jr.), pp. 84–91. Springer, New York.

GOLDMANN W, Hunter N, Foster JD, Salbaum JM, Beyreuther K, Hope J (1990) Two alleles of a neural protein gene linked to scrapie in sheep. *Proc Natl Acad Sci USA* 87(7):2476–2480

GOMBOJAV A, Ishiguro N, Horiuchi M, Serjmyadag D, Byambaa B, Shinagawa M. (2003) Amino acid polymorphisms of PrP gene in Mongolian sheep. *J Vet Med Sci.*;65(1):75-81

GORJANC, G., Kovač, M., Kompan, D. (2010) Inference of genotype probabilities and derived statistics for PrP locus in the Jezersko–Solcava sheep. *Livestock Science* 129, 232–236

GREEN, D. M., del Rio Vilas, V. J., Birch, C. P. D., Johnson, J., Kiss, I. Z., McCarthy, N. D. & Kao, R. R. (2007). Demographic risk factors for classical and atypical scrapie in Great Britain. *J Gen Virol* 88, 3486–3492.

GUAN, F., Pan, L., Li, J., Tang, H., Zhu, C., Shi, G. (2011) Polymorphisms of the prion protein gene and their effects on litter size and risk evaluation for scrapie in Chinese Hu sheep. *Virus Genes* 43:147–152

HAGENAARS, T.J., Melchior, M.B., Bossers, A., Davidse, A., Engel, B. and van Zijderveld, F.G. (2010) Scrapie prevalence in sheep of susceptible genotype is declining in a population subject to breeding for resistance. *BMC Veterinary Research* 2010, 6:25

HAN, C.X. , Liu, H.X., Lu, Y.X., Song, M.X., Zhao, D.M., Zhou, X.M., Yang, L.F., Li, X.Y. (2011) Polymorphism of prion protein gene in sheep of Inner Mongolian, China. *Virus Genes* 42(1), 153–155

HAYASHI, H. K., Yokoyama, T., Takata, M., Iwamaru, Y., Imamura, M., Ushiki, Y. K. & Shinagawa, M. (2005). The N-terminal cleavage site of PrP^{Sc} from BSE differs from that of PrP^{Sc} from scrapie. *Biochem Biophys Res Commun* 328, 1024–1027.

HOPE, J., Wood, S. C., Birkett, C. R., Chong, A., Bruce, M. E., Cairns, D., Goldmann, W., Hunter, N. & Bostock, C. J. (1999). Molecular analysis of ovine prion protein identifies similarities between BSE and an experimental isolate of natural scrapie, CH1641. *J Gen Virol* 80, 1–4; corrigendum 81, 851.

HORNSHAW MP, McDermott, JR, Candy JM. (1995) Copper binding to the N-terminal tandem repeat regions of mammalian and avian prion protein. *Biochem Biophys Res Commun* 207:621– 629

HOWLETT D.R. (2003) Protein Misfolding in Disease: Cause or Response? *Curr. Med. Chem. Immun., Endoc. & Metab. Agents*, 3, 371-383

HU W, Kieseier B, Frohman E, Eagar TN, Rosenberg RN, Hartung HP, Stüve O (2008). Prion proteins: physiological functions and role in neurological disorders. *J Neurol Sci* 264, 1–8.

HUNTER, N., Goldmann, W., Foster, J., Cairns, D. & Smith, G. (1997) Natural scrapie and PrP genotype : case-control studies in British sheep. *Veterinary Record* 141, 137±140

HUNTER, N. (2007) Scrapie: uncertainties, biology and molecular approaches. *Biochim. Biophys. Acta* 1772 (6): 619–28

HURTADO, A., Garcia-Pérez, A.L., Beltrán de Heredia, I., Barandika, J., Sanz-Parra, A., Berriatua, E, Juste, R.A. (2002) Genetic susceptibility to scrapie in a population of Latxa breed sheep in the Basque Country, Spain. *Small Ruminant Research* 45, 255–259

IANELLA, P., Caetano, A.R., Mcmanus, C.M., Paiva, S.R. (2008) Evaluation of PRNP polymorphisms in Brazilian local adapted breeds. *Evaluation*.

IBEAGHA-AWEMU EM, Kgwatalala P, Ibeagha AE, Zhao X. (2008) A critical analysis of disease-associated DNA polymorphisms in the genes of cattle, goat, sheep, and pig. *Mamm. Genome.*;19(4):226–245.

JOBLING, M.A., Hurles, M.E., Tyler-Smith C. (2004) *Human Evolutionary Genetics: Origins, Peoples and Disease*. Garland Publishing, NY.

KAO, R. R., Gravenor, M. B. & McLean, A. R. (2001). Modelling the national scrapie eradication programme in the UK. *Math Biosci* 174, 61–76.

KARAMI, M., Amirinia, C., Kashan, N. E. J., Amirmozafari, N., Chamani, M. and Banabazi, M. H. (2011) Polymorphisms of the prion protein gene Arabi sheep breed in Iran. *African Journal of Biotechnology* Vol. 10(70), pp. 15819-15822

KASTELIC, M., Kompan, D. (2009) The Effect of PrP Genotype on growth of Rams on Test Station. *Biotechnology in Animal Husbandry* 25 (5-6), p 277-284

KIPANYULA, M.J. , Chuma, I.S., Brundtland, Bårdsen, K., Ulvund, M.J. (2008) Genotyping of the prion protein (PrP) gene in Red Maasai and Black Head Persian sheep in Tanzania. *Small Ruminant Research* 79, 146–151

KIPANYULA, M.J. , Chuma, I.S., Brundtland, Bårdsen, K., Ulvund, M.J. (2009) Prion protein (PrP) gene polymorphism in Red Maasai and Black Head Persian sheep breeds in Tanzania: Consistent profile regardless of locations. *Small Ruminant Research* 86, 52–55

KLINGEBORN, M., Wik, L., Simonsson, M., Renstrom, L.H., Ottinger, T. & Linne, T. (2006) Characterization of proteinase K-resistant N- and C-terminally truncated PrP in Nor98 atypical scrapie. *J Gen Virol* 87, 1751-60

Konold ve ark., (2007) Clinical findings in two cases of atypical scrapie in sheep: a case report. *BMC Veterinary Research*, 3:2

KUPFER L, Hinrichs W, Groschup M H (2009). Prion Protein Misfolding. *Current Molecular Medicine*, 9: 7, 826-835

KUTZER, T., Pfeiffer, I. & Brenig, B. (2002). Identification of new allelic variants in the ovine prion protein (PrP) gene. *J Anim Breed Genet* 119, 201–208.

L'HOMME, Y., Leboeuf, A., Cameron, J. (2008) PrP genotype frequencies of Quebec sheep breeds determined by real-time PCR and molecular beacons. *The Canadian Journal of Veterinary Research* 2008;72:320–324

LAN Z., Wang Z.L., Liu Y., Zhang X. (2006) Prion protein gene (PRNP) polymorphisms in Xinjiang local sheep breeds in China, *Arch. Virol.*151:2095–2101

LAPLANCHE J.L., Chatelain J., Westaway D., Thomas S., Dussaucy M., Brugere-picoux J. & Launay J. M. (1993). PrP polymorphisms associated with natural scrapie discovered by denaturing gradient gel electrophoresis. *Genomics* 15, 30-37

LIBRADO, P. and Rozas, J. (2009) DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 25: 1451-1452.

LIPSKY, S., H. Brandt, G. Lühken and G. Erhardt, (2008): Analysis of prion protein genotypes in relation to reproduction traits in local and cosmopolitan German sheep breeds. *Anim. Reprod. Sci.* 103, 69-77

LOIACONO ve ark., (2009) Nor98 scrapie identified in the United States. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 21 (4): 454

LÜHKEN G., Buschmann A., Brandt H, Eiden M., Groschup M.H. & Erhardt G. (2007). – Epidemiological and genetical differences between classical and atypical scrapie cases. *Veterinary Research*, 38, 65-80

LÜHKEN G., Lipsky S., Peter C., Erhardt G. (2008) Prion protein polymorphisms in autochthonous European sheep breeds in respect to scrapie eradication in affected flocks. *Small Ruminant Research* 75, 43–47.

MARDIA, K.V. (1978) Some properties of classical multidimensional scaling. *Communications Statistics -- Theory and Methods*, A7, 1233--41. Mardia, K. V., Kent, J. T. and Bibby, J. M. (1979). Chapter 14 of *Multivariate Analysis*, London: Academic Press.

MARDIA, K. V., Kent, J. T. and Bibby, J. M. (1979) Chapter 14 of *Multivariate Analysis*, London: Academic Press.

MARINO, S., Brandner, S., Isenmann, S., Raeber, A., Fischer, M., Sailer, A., Kobayashi, Y., Weissmann, C., and Aguzzi, A. (1996). Normal host prion protein necessary for scrapie-induced neurotoxicity. *Nature* 379, 339–343.

MAZZA ve ark., 2010. Co-existence of classical scrapie and Nor98 in a sheep from an Italian outbreak. *Research in Veterinary Science* 88, 478–485

MEADOWS J.R.S., Cemal I., Karaca O., Gootwine E., Kijas J.W. (2007) Five ovine mitochondrial lineages identified from sheep breeds of the Near East. *Genetics*, 175:1371-1379.

MICHEL, V. & Bakovic, M. (2007). Lipid rafts in health and disease. *Biol Cell* 99, 129–140.

MORENO ve ark., (2007) Which PrP haplotypes in a French sheep population are the most susceptible to atypical scrapie? *Arch Virol*,152: 1229–1232

MOUM T., Olsaker I, Hopp P, Moldal T, Valheim M, Moum T, Benestad SL. (2005) Polymorphisms at codons 141 and 154 in the ovine prion protein gene are associated with scrapie Nor98 cases. *Journal of General Virology*, 86, 231–235

NENTWIG, A., Oervermann, A., Heim, D., Botteron, C., Zellweger, C., Dro" gemu" ller, C., Zurbriggen, A. & Seuberlich, T. (2007). Diversity in neuroanatomical distribution of abnormal prion protein in atypical scrapie. *PLoS Pathog* 3, e82.

O'ROURKE KI, Duncan JV, Logan JR, Anderson AK, Norden DK, Williams ES, Combs BA, Stobart RH, Moss GE, Sutton DL. (2002) Active surveillance for scrapie by third eyelid biopsy and genetic susceptibility testing of flocks of sheep in Wyoming. *Clin Diagn Lab Immun* 9:966–971

OIE Terrestrial Manual (2009) Scrapie. Chapter 2.7.1 3
http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.07.13_SCRAPIE.pdf

ORGE ve ark., (2004) Identification of putative atypical scrapie in sheep in Portugal. *Journal of General Virology*, 85, 3487–3491

ORGE ve ark., (2010) Putative emergence of classical scrapie in a background of enzootic atypical scrapie. *Journal of General Virology*, 91, 1646–1650

OTELEA M. R., Zaulet M., Dudu A., Otelea F., Baraitareanu S., Danes D. (2011) The scrapie genetic susceptibility of some sheep breeds in southeast Romanian area and genotype profiles of sheep scrapie infected. *Romanian Biotechnological Letters*, 6, No. 4

ÖNER Y., Yesilbag K., Tuncel E. Elmaci C. (2011) Prion protein gene (PrP) polymorphisms in healthy sheep in Turkey. *The Animal Consortium*, 5 (11), pg. 1728-1733

ÖZDAMAR, K. (2002). Paket Programlar ile İstatistiksel Veri Analizi. Cilt 1, 2.Baskı, Kaan Kitabevi, 475-477 Eskişehir.

PAN KM, Baldwin M, Nguyen J, ve ark., (1993) Conversion of alpha-helices into beta-sheets features in the formation of the scrapie prion proteins. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 90 (23): 10962–6.

Peter, C., M. Bruford, T. Perez, S. Dalamitra, G. Hewitt, G. Erhardt, and Econogene Consortium the 2007. Genetic diversity and subdivision of 57 European and Middle-Eastern sheep breeds. *Animal Genetics* 38(1):37-44.

PHILIPPE, S., Ducrot, C., Roy, P., Remontet, L., Jarrige, N. & Calavas, D. (2005). Sheep feed and scrapie, France. *Emerg Infect Dis* 11, 1274–1279.

PALHIÈRE I, Brochard M, Astruc J-M, Barillet F, Bed'Hom B, Bibé1 B, Bouix J, Elsen O C J-M, François D, Griffon L, Jullien E, Orlianges M, Perret G, Tribon P (2011) Breeding For Scrapie Resistance In France 55th Annual meeting of the European Association for Animal Production Bled, September 5th-9th, 2004 Commission on Animal Genetics, http://www.eaap.org/Previous_Annual_Meetings/2004Bled/papers/GM2.16_Palhiere.pdf Eriřim: 22.11.2011

POLAK ve ark., (2009) Diagnosis of the first cases of scrapie in Poland. *Vet J.*2;186(1):47-52.

PONGOLINI, S., Bergamini, F., Bassi, S. (2009) A new genotyping strategy for efficient scoring of closely positioned SNPs in the ovine prion protein gene. *Veterinary Microbiology* 137, 18–23

PONZ R, Tejedor MT, Monteagudo LV, Arruga MV. (2006) Scrapie resistance alleles are not associated with lower prolificity in Rasa Aragonesa sheep. *Res Vet Sci.*; 81(1):37-9

PRUSINER S. B. (1982). Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. *Science* 216 (4542): 136–144.

PRUSINER, S. B. (1998). Prions. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95, 13363-13383.

PRUSINER, S.B., Scott, M.R., Dearmond, S.J., Cohen, F.E., 1998. Prion protein biology. *Cell* 93, 337–348.

R: A Language and Environment for Statistical Computing, <http://www.R-project.org>

REDMAN, C. A., Coen, P. G., Matthews, L., Lewis, R. M., Dingwall, W. S., Foster, J. D., Chase-Topping, M. E., Hunter, N. & Woolhouse, M. E. J. (2002). Comparative epidemiology of scrapie outbreaks in individual sheep flocks. *Epidemiol Infect* 128, 513–521.

RODRIGUEZ-MARTINEZ AB, Garrido JM, Maza S, Benedicto L, Geijo M, ve ark., (2010) Atypical/Nor98 scrapie in the Basque Country: a case report of eight outbreaks. *BMC Vet Res* 6: 17.

RODEN, J.A., Nieuwhof, G.J., Bishop, S.C., Jones, D.A, Haresign, W., Gubbins, S. (2006) Breeding programmes for TSE resistance in British sheep I. Assessing the impact on prion protein (PrP) genotype frequencies. *Preventive Veterinary Medicine* 73, 1–16

SAFAR, J., Wille, H., Itri, V., Groth, D., Serban, H., Torchia, M., Cohen, F. E. & Prusiner, S. B. (1998). Eight prion strains have PrP^{Sc} molecules with different conformations. *Nat Med* 4, 1157–1165.

SAMBROOK J., Foritsch E.F., Maniatis T. (1989) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York, USA.

SAS Institute, 2009. *SAS-User's Guide*, Statistics, SAS Institute Inc., Cary, NC., USA. SAS Windows 9.2. Programın lisansı Orta Doğu Teknik Üniversitesi adına alınmıştır.

SAUNDERS, G. C., Cawthraw, S., Mountjoy, S., Hope, J. & Windl, O. (2006). PrP genotypes of atypical scrapie cases in Great Britain. *J Gen Virol* 87, 3141–3149

SAWALHA, R.M., Brotherstone, S., Conington, J., Villanueva, B. (2007) Lambs with Scrapie Susceptible Genotypes Have Higher Postnatal Survival. *PLoS ONE* 2(11): e1236

SHORTER J, Lindquist S (2005) Prions as adaptive conduits of memory and inheritance. *Nature Reviews. Genetics* 6 (6): 435–50

SCOTT, M., Groth, D., Foster, D., Torchia, M., Yang, S. L., DeArmond, S. J. & Prusiner, S. B. (1993). Propagation of prions with artificial properties in transgenic mice expressing chimeric PrP genes. *Cell* 73, 979±988.

SIMMONS ve ark., (2009) Atypical scrapie in sheep from a UK research flock which is free from classical scrapie. BMC Veterinary Research, 5:8

SIMMONS, M.M, Konold, T., Thurston, L., Bellworthy, S. J., Chaplin, M. J., Jo Moore, S. (2010) The natural atypical scrapie phenotype is preserved on experimental transmission and sub-passage in PRNP homologous sheep. BMC Veterinary Research, 6:14.

Sipos, W., Kraus, M., Schmoll, F., Achmann, R. and Baumgartner, W. (2002) PrP Genotyping of Austrian Sheep Breeds. J. Vet. Med. A 49, 415–418

SÍRAKOV I, Peshev R, Christova L., (2011) Genetic predisposition of some Bulgarian sheep breeds to the scrapie disease. Virus Genes;43(1):153-9.

Solforosi, L., Bellon, A., Schaller, M., Cruite, J. T., Abalos, G. C. & Williamson, R. A. (2007). Toward molecular dissection of PrP^c-PrP^{Sc} interactions. J Biol Chem 282, 7465–7471.

STAHL, N., ve S. B. Prusiner. 1991. Prions and prion proteins. FASEB J. 5:2799 –2807

STAHL, W., Schwarz, W. & Sies, H. (1993) Human serum concentrations of all-trans β - and α -carotene but not 9-cis β -carotene increase upon ingestion of a natural isomer mixture obtained from *Dunaliella salina* (Belatene). J. Nutr. 123: 847-851.

STEELE, A.D., Emsley, J.G., Ozdinler, P.H., Lindquist, S. and Macklis, J.D. 2006. Prion protein (PrP^c) positively regulates neural precursor proliferation during developmental and adult mammalian neurogenesis. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 103:3416–21.

STEPHENS, M., Smith, N. and Donnelly, P. (2001) A new statistical method for haplotype reconstruction from population data. American Journal of Human Genetics 68: 978-989.

STEPHENS, M. and Donnelly, P. (2003) A comparison of bayesian methods for haplotype reconstruction from population genotype data. American Journal of Human Genetics 73:1162-1169.

SVILAND, S., Hogasen, H.R., Lyngstad, T.M., Bratberg, B., Bruheim, T. ve Moldal, T. (2006), The Surveillance and Control Programme for Bovine Spongiform Encephalopathy (BSE) in Norway, National Veterinary Institute, Annual Report.

TAJIMA, F. (1989) Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics* 123:585-595.

TAMURA K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M., and Kumar S. (2011) MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution* 28: 2731-2739.

TELLING, G. C., Scott, M., Hsiao.K.K., Foster, D., Yang, S.-L., Torchia, M., Sidle, K. C. L., Collinge, J., DeArmond, S. J. and Prusiner, S. B. (1994). Transmission of Creutzfeldt-Jakob disease from humans to transgenic mice expressing chimeric human-mouse prion protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 91, 9936-9940.

TELLING, G. C., Scott, M., Mastrianni, J., Gabizon, R., Torchia, M., Cohen, F. E., DeArmond, S. J. & Prusiner, S. B. (1995). Prion propagation in mice expressing human and chimeric PrP transgenes implicates the interaction of cellular PrP with another protein. *Cell* 83, 79±90.

THACKRAY AM, Klein MA, Bujdoso R (2003) Subclinical prion disease induced by oral inoculation. *J Virol* 77(14):7991-8

THACKRAY AM, Fitzmaurice TJ, Hopkins L, Bujdoso R (2006) Ovine plasma prion protein levels show genotypic variation detected by C-terminal epitopes not exposed in cell-surface PrPC. *Biochem J* 400(2):349-58

THOMPSON JD, Higgins DG, Gibson TJ. (1994) Clustal W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res.*, 22(22):4673-80.

THOMPSON M.K. ve Gasser C.L. (2008) Genotypic Variation at the Prion Protein Gene Among Suffolk, Rambouillet, and Targhee Sheep. *American Society of Animal Science*, Vol. 59.

TONGUE, S.C., Wilesmith, J.W., Cook, C.J. (2004) Frequencies of prion protein (PrP) genotypes and distribution of ages in 15 scrapie-affected flocks in Great Britain. *Vet. Rec.* 154, 9–16.

TRANULIS, M. A. (2002). Influence of the prion protein gene, *Prnp*, on scrapie susceptibility in sheep. *APMIS* 110, 33–43.

TSUNODA, K., Namikawa, T., Sato, K., Hasnath, M.A., Nyunt, M.M., Rajbandary, H.B., Loc, C.B., Zanchiv, Ts, Chang, H., Sun, W., Dorji, T. (2010) Prion Protein Polymorphisms and Estimation of Risk of Scrapie in East Asian Sheep. *Biochem. Genet.* 48(1–2), 13–25

ÜN, C., Oztabak, K., Ozdemir, N., Akis, I., Mengib, A. (2008) Genotyping of PrP gene in native Turkish sheep breeds. *Small Rum. Res.* 74, 260–264

VACCARI, G., Petraroli, R., Agrimi, U., Eleni, C., Perfetti, M.G., Di Bari, M.A., Morelli, L., Ligios, C., Busani, L., Nonno, R., Di Guardo, G. (2001) PrP genotype in Sarda breed sheep and its relevance to scrapie. *Arch. Virol.* 146, 2029–2037.

VACCARI G., D'Agostino C., Nonno R., Rosone F., Conte M., Di Bari M.A., ve ark. (2007) Prion protein alleles showing a protective effects on the susceptibility of sheep to scrapie and bovine spongiform encephalopathy, *J. Virol.* 81:7306–7309

VAN KAAM, J. B.C.H.M., Finocchiaro, R., Vitale, M., Pinelli, F., Scimonelli, M., Vitale, F., Portolano, B., Oltenacu, P.A., Caracappa, S. (2007) Prion protein gene frequencies in three Sicilian dairy sheep populations. *ITAL.J.ANIM.SCI.* VOL. 7, 87-94

VAN KEULEN, L. J., Schreuder, B. E., Vromans, M. E., Langeveld, J. P. & Smits, M. A. (2000). Pathogenesis of natural scrapie in sheep. *Arch Virol Suppl.* 16, 57–71.

WANG Y, Qin Z, Qiao J and Zhao D (2008) Polymorphisms of the prion protein gene in sheep of Inner Mongolia, China. *Virus Genes* 37, 128–130

WIŚNIEWSKA, E., Lühken, G., Mroczkowski, S and Erhardt, G. (2006) Prion protein (PrP) gene polymorphisms and breeding for resistance to scrapie in Polish Merino sheep. *Arch. Tierz., Dummerstorf* 49, Special Issue, 365-371

WISNIEWSKA, E. and Mroczkowski, S. (2009) Different breeding strategies for scrapie resistance depending on breed-specific PrP allele and genotype frequencies in the Polish sheep. *Züchtungskunde*, 81, (3) S. 180–189, ISSN 0044-5401

WOOLHOUSE, M. E. J., Stringer, S. M., Matthews, L., Hunter, N. & Anderson, R. M. (1998). Epidemiology and control of scrapie within a sheep flock. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 265, 1210–1215.

WOOLHOUSE M.E.J, Coen P, Matthews L, Foster J.D, Elsen J.M, Lewis R.M, Haydon D.T, Hunter N. (2001) A centuries-long epidemic of scrapie in British sheep? *Trends Microbiol.* ; 9:67–70.

ZEDER, M.A. (2008). Domestication and early agriculture in the Mediterranean Basin: Origins, diffusion, and impact. *Proceedings of the National Academy of Sciences*
DOI: 10.1073/pnas.0801317105

EK.1.

Tablo.E.1 Babar ve ark.(2009)'nın çalıştığı dış primerler kullanılarak dizi analizi yapılan farklı ırklardan 234 bireyde belirlenen klasik ve atipik skrapi genotipleri

NORDUZ:

Birey No	136	aa	141	aa	15	aa	171	aa	ATS GENOTİPLER	KS GENOTİPLER
NOR12	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CGG	R	ALRR/ALRR	ARR/ARR
NOR13	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
NOR14	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CRG	Q/R	ALRR/ALRQ	ARR/ARQ
NOR15	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
NOR17	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
NOR18	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
NOR19	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
NOR20	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
NOR23	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CRG	Q/R	ALRR/ALRQ	ARR/ARQ
NOR25	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
NOR26	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAK	H/Q	ALRH/ALRQ	ARH/ARQ
NOR27	RCC	A/T	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/TLRQ	ARQ/TRQ
NOR28	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
NOR30	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALHQ/ALHQ	AHQ/AHQ
NOR31	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAK	H/Q	ALRH/ALRQ	ARH/ARQ
NOR34	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
NOR35	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
NOR36	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
NOR37	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAT	H	ALRH/ALRH	ARH/ARH
NOR38	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
NOR39	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAT	H	ALRH/ALRH	ARH/ARH
NOR41	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
NOR43	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ

ÇİNE ÇAPARI:

Birey No	136	aa	141		154	aa	171	aa	ATS GENOTİPLER	KS GENOTİPLER
CIC1	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
CIC2	GTC	V	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	VLRQ/VLRQ	VRQ/VRQ
CIC3	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CRG	Q/R	ALRR/ALRQ	ARR/ARQ
CIC4	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CRG	Q/R	ALRR/ALRQ	ARR/ARQ
CIC5	GCC	A	CTT	L	CGT	R	MAG	K/Q	ALRQ/ALRK	ARQ/ARK
CIC6	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
CIC7	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
CIC8	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
CIC9	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
CIC10	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
CIC11	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
CIC12	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
CIC13	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CRG	Q/R	ALRR/ALRQ	ARR/ARQ
CIC14	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CGG	R	ALRR/ALRR	ARR/ARR
CIC15	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
CIC16	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ

CIC17	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CGG	R	ALRR/ALRR	ARR/ARR
CIC18	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
CIC19	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
CIC21	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CGG	R	ALRR/ALRR	ARR/ARR
CIC 23	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
CIC 24	GCC	A	CTT	L	CGT	R	MAG	K/Q	ALRQ/ALRK	ARQ/ARK
CIC25	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CRG	Q/R	ALRR/ALRQ	ARR/ARQ
CIC27	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CRG	Q/R	ALRR/ALRQ	ARR/ARQ
CIC28	GYC	A / V	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/VLRQ	ARQ/VRQ
CIC29	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
CIC30	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CGG	R	ALRR/ALRR	ARR/ARR
CIC31	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAT	H / R	ALRR/ALRH	ARR/ARH
CIC34	RCC	A / T	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/TLRQ	ARQ/TRQ
CIC39	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
CIC40	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CRG	Q/R	ALRR/ALRQ	ARR/ARQ

DAĞLIC

Birey No	136	aa	141	aa	154	aa	171	aa	ATS GENOTİPLER	KS GENOTİPLER
DAG4	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CRG	Q/R	ALRR/ALRQ	ARR/ARQ
DAG5	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
DAG6	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CGG	R	ALRR/ALRR	ARR/ARR
DAG7	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CRG	Q/R	ALRR/ALRQ	ARR/ARQ
DAG13	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
DAG14	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
DAG17	GCC	A	CTT	L	CAT	H	CAG	Q	ALHQ/ALHQ	AHQ/AHQ
DAG24	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAT	H	ALRH/ALRH	ARH/ARH
DAG27	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CRG	Q/R	ALRR/ALRQ	ARR/ARQ
DAG33	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
DAG32	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CGG	R	ALRR/ALRR	ARR/ARR
DAG34	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
DAG36	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q/R	ALRR/ALRQ	ARR/ARQ
DAG37	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CRG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
DAG38	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CRG	Q/R	ALRR/ALRQ	ARR/ARQ
DAG39	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
DAG40	GCC	A	CTT	L	CRT	R/H	CAG	Q	ALHQ/ALRQ	AHQ/ARQ
DAG41	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
DAG43	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CRG	Q/R	ALRR/ALRQ	ARR/ARQ
DAG44	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CGG	R	ALRR/ALRR	ARR/ARR
DAG45	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
DAG47	GCC	A	CTT	L	CGT	R	MAG	K/Q	ALRQ/ALRK	ARQ/ARK
DAG48	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
DAG49	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CGG	R	ALRR/ALRR	ARR/ARR
DAG55	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CRG	Q/R	ALRR/ALRQ	ARR/ARQ

HERİK:

Birey no	136	aa	141	aa	154	aa	171	aa	ATS GENOTİPLER	KS GENOTİPLER
HER1	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
HER2	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CRG	Q/R	ALRR/ALRQ	ARR/ARQ
HER3	GCC	A	CTT	L	CRT	R/H	CAG	Q	ALHQ/ALRQ	AHQ/ARQ
HER4	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CRG	Q/R	ALRR/ALRQ	ARR/ARQ
HER5	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CGG	□R	ALRR/ALRR	ARR/ARR
HER6	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRH/ALRH	ARH/ARH
HER7	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
HER8	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
HER10	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CRG	Q/R	ALRR/ALRQ	ARR/ARQ
HER11	RCC	A/T	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/TLRQ	ARQ/TRQ
HER 12	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
HER13	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CRG	Q/R	ALRR/ALRQ	ARR/ARQ
HER 14	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
HER 15	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
HER 16	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CRG	Q/R	ALRR/ALRQ	ARR/ARQ
HER 17	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CRG	Q/R	ALRR/ALRQ	ARR/ARQ
HER19	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
HER20	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
HER21	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
HER23	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CGG	R	ALRR/ALRR	ARR/ARR
HER24	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CRG	Q/R	ALRR/ALRQ	ARR/ARQ
HER26	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
HER27	RCC	A/T	CTT	L	CGT	R	CRG	Q/R	ALRR/TLRQ	ARR/TRQ
HER28	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
HER29	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
HER30	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
HER31	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAK	H/Q	ALRH/ALRQ	ARH/ARQ
HER32	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
HER33	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CGG	R	ALRR/ALRR	ARR/ARR
HER 34	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
HER 36	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
HER37	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
HER38	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
HER39	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
HER40	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAK	H/Q	ALRH/ALRQ	ARH/ARQ
HER41	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
HER42	GCC	A	CTT	L	CRT	R/H	CAG	Q	ALHQ/ALRQ	AHQ/ARQ
HER43	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
HER44	RCC	A/T	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/TLRQ	ARQ/TRQ
HER45	ACC	T	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	TLRQ/TLRQ	TRQ/TRQ
HER48	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
HER49	ACC	T	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	TLRQ/TLRQ	TRQ/TRQ

KIVIRCIK:

Birey no	136	aa	141	aa	154	aa	171	aa	ATS GENOTİPLER	KS GENOTİPLER
KIV3	GYC	A/V	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/VLRQ	ARQ/VRQ
KIV4	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAK	H/Q	ALRH/ALRQ	ARH/ARQ

KIV 7	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CGG	R	ALRR/ALRR	ARR/ARR
KIV9	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/A□Q
KIV10	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CRG	Q/R	ALRR/ALRQ	ARR/ARQ
KIV11	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CRG	Q/R	ALRR/ALRQ	ARR/ARQ
KIV12	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
KIV13	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CGG	R	ALRR/ALRR	ARR/ARR
KIV14	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
KIV15	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
KIV16	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CGG	R	ALRR/ALRR	ARR/ARR
KIV 17	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CGG	R	ALRR/ALRR	ARR/ARR
KIV18	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CRG	Q/R	ALRR/ALRQ	ARR/ARQ
KIV20	GCC	A/V	CTT	L	CGT	R	CAT	H	ALRH/VLRH	ARH/VRH
KIV21	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CGG	R	ALRR/ALRR	ARR/ARR
KIV22	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CRG	Q/R	ALRR/ALRQ	ARR/ARQ
KIV28	GCC	A	CTT	L	CRT	R/H	CAG	Q	ALRQ/ALHQ	ARQ/AHQ
KIV31	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CRG	Q/R	ALRR/ALRQ	ARR/ARQ
KIV 39	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CGG	R	ALRR/ALRR	ARR/ARR
KIV 44	GCC	A/V	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/VLRQ	ARQ/VRQ
KIV 45	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAT	H	ALRH/ALRH	ARH/ARH
KIV 47	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
KIV 50	GCC	A	CTT	L	CAT	H	CAG	Q	ALHQ/ALHQ	AHQ/AHQ

AKKARAMAN:

Birey no	136	aa	141	aa	154	aa	171	aa	ATS GENOTİPLER	KS GENOTİPLER
AKK3	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
AKK13	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
AKK 14	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CRG	Q/R	ALRR/ALRQ	ARR/ARQ
AKK 16	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CRG	Q/R	ALRR/ALRQ	ARR/ARQ
AKK 19	GCC	A	CTT	L	C□T	R	CGG	R	ALRR/ALRR	ARR/ARR
AKK25	GCC	A	CTT	L	CGT	R	AAG	Q/R	ALRR/ALRQ	ARR/ARQ
AKK27	GCC	A	CTT	L	CRT	R/H	CAG	Q	ALRQ/ALHQ	ARQ/ARH
AKK28	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
AKK30	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
AKK31	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
AKK33	GCC	A	CTT	L	CGT	R	MRG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
AKK36	GCC	A	CTT	L	CGT	R	MAK	K/R	ALRR/ALRK	ARR/ARK
AKK37	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CGG	K/H	ALRH/ALRK	ARH/ARK
AKK38	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	R	ALRR/ALRR	ARR/ARR
AKK39	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
AKK41	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CGG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
AKK48	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CRG	R	ALRR/ALRR	ARR/ARR

SAKIZ:

Birey no	136	aa	141	aa	154	aa	171	aa	ATS GENOTİPLER	KS GENOTİPLER
SAK2	GCC	A	CTT	L	CRT	R/H	CAG	Q	ALHQ/ALRQ	AHQ/ARQ
SAK6	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CRG	Q/R	ALRR/ALRQ	ARR/ARQ
SAK7	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
SAK8	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
SAK9	GCC	A	CTT	L	CRT	R/H	CAG	Q	ALHQ/ALRQ	AHQ/ARQ
SAK11	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
SAK12	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
SAK14	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
SAK15	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
SAK 16	GCC	A	CTT	L	CGT	R	MAG	K/Q	ALRQ/ALRK	ARQ/ARK
SAK 18	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CRG	Q/R	ALRR/ALRQ	ARR/ARQ
SAK19	GCC	A	CTT	L	CAT	H	CAG	Q	ALHQ/ALHQ	AHQ/AHQ
SAK20	RCC	A/T	CTT	L	CGT	R	CRG	Q/R	ALRR/TLRQ	ARR/TRQ
SAK22	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
SAK23	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
SAK24	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
SAK25	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
SAK28	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CRG	Q/R	ALRR/ALRQ	ARR/ARQ
SAK 0	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
SAK 4	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CGG	R	ALRR/ALRR	ARR/ARR
SAK 8	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CRG	Q/R	ALRR/ALRQ	ARR/ARQ
SAK49	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ

KARAGÜL:

Birey no	136	aa	141	aa	154	aa	171	aa	ATS GENOTİPLER	KS GENOTİPLER
KRG4	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
KRG5	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
KRG6	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CRG	Q/R	ALRR/ALRQ	ARR/ARQ
KRG13	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
KRG16	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
KRG17	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CGT	R	ALRR/ALRR	ARR/ARR
KRG18	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
KRG19	ACC	T	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	TLRQ/TLRQ	TRQ/TRQ
KRG20	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAT	H	ALRH/ALRH	ARH/ARH
KRG21	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
KRG22	ACC	T	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	TLRQ/TLRQ	TRQ/TRQ
KRG 25	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CRG	Q/R	ALRQ/ALRR	ARQ/ARR
KRG32	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAT	H	ALRH/ALRH	ARH/ARH
KRG34	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
KRG35	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ

KRG36	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
KRG37	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
KRG38	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
KRG41	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CGG	R	ALRR/ALRR	ARR/ARR
KRG42	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
KRG45	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
KRG46	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
KRG49	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CRG	Q/R	ALRR/ALRQ	ARR/ARQ

İVESİ:

Birey no	136	aa	141	aa	154	aa	171	aa	ATS GENOTİPLER	KS GENOTİPLER
IVE5	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
IVE7	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAT	H	ALRH/ALRH	ARR/ARR
IVE9	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
IVE12	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CRG	Q/R	ALRR/ALRQ	ARR/ARQ
IVE13	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
IVE16	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
IVE19	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
IVE21	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAT	H	ALRH/ALRH	ARR/ARR
IVE24	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAT	H	ALRH/ALRH	ARR/ARR
IVE34	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CRG	Q/R	ALRR/ALRQ	ARR/ARQ
IVE37	RCC	A/T	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/TLRQ	ARQ/TRQ
IVE38	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
IVE42	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
IVE43	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CGG	R	ALRR/ALRR	ARR/ARR

MORKARAMAN:

Birey no	136	aa	141	aa	154	aa	171	aa	ATS GENOTİPLER	KS GENOTİPLER
MOR1	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
MOR2	GCC	A	TTT	F	CGT	R	CAG	Q	AFRH/AFRQ	ARR/ARR
MOR3	GCC	A	CTT	L	CRT	R/H	CAG	Q	ALHQ/ALRQ	AHQ/ARQ
MOR4	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
MOR5	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ
MOR6	ACC	T	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/TLRQ	ARQ/TRQ
MOR11	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CRG	Q/R	ALRR/ALRQ	ARR/ARQ
MOR12	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CRG	Q/R	ALRR/ALRQ	ARR/ARQ
MOR13	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAT	H	ALRH/ALRH	ARR/ARR
MOR15	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CRG	Q/R	ALRR/ALRH	ARR/ARR
MOR25	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAT	H	ALRH/ALRH	ARR/ARR
MOR 46	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ

HEMŞİN:

Birey no	136	aa	141	aa	154	aa	171	aa	ATS GENOTİPLER	KS GENOTİPLER
HEM 36	GCC	A	CTT	L	CGT	R	CAG	Q	ALRQ/ALRQ	ARQ/ARQ

n=birey sayısı, NOR= Norduz, CIC= Çineçaparı, DAG=Dağlıç, HER= Herik, KIV=Kıvırcık,

AKK= Akkaraman, SAK=Sakız, İVE= İvesi, MOR= Morkaraman, HEM=Hemşin,

EK.2.



Avrupa



Hollanda

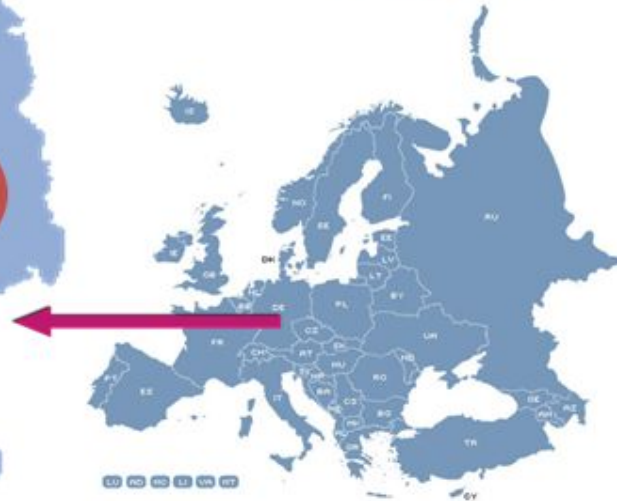
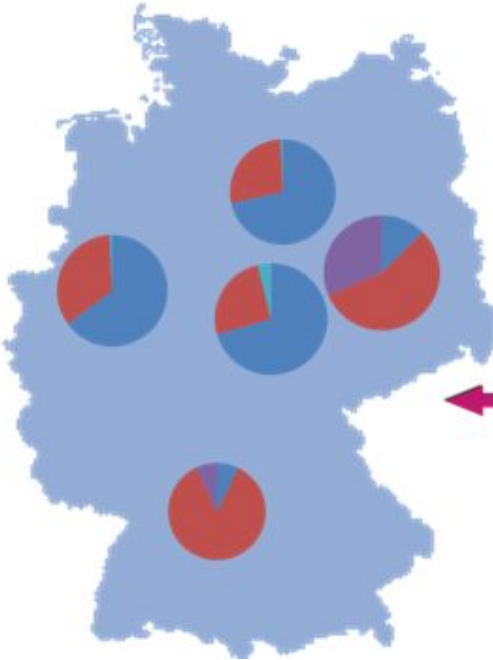
- Koyu mavi → ARR
- Kırmızı → ARQ
- Yeşil → ARH
- Mor → AHQ
- Açık mavi → VRQ



Hagenaars ve ark., 2010

Almanya

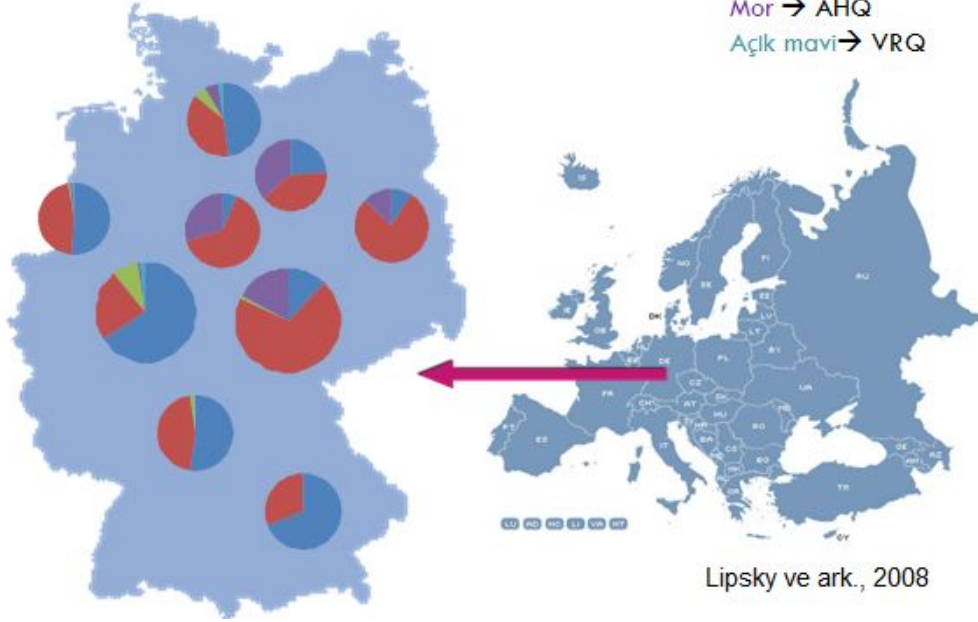
- Koyu mavi → ARR
- Kırmızı → ARQ
- Yeşil → ARH
- Mor → AHQ
- Açık mavi → VRQ



Drögemüller ve ark., 2001

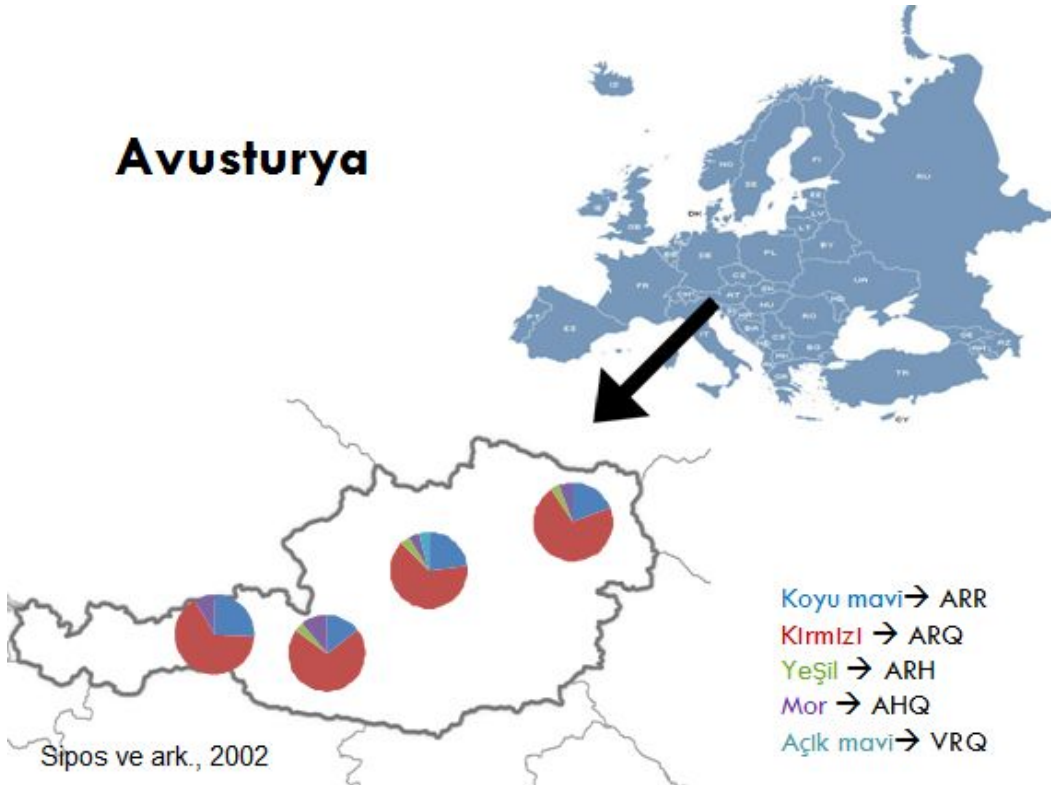
Almanya

Koyu mavi → ARR
Kırmızı → ARQ
Yeşil → ARH
Mor → AHQ
Açık mavi → VRQ



Avusturya

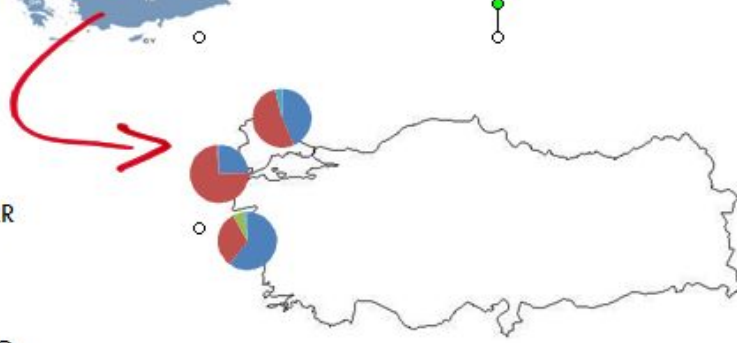
Koyu mavi → ARR
Kırmızı → ARQ
Yeşil → ARH
Mor → AHQ
Açık mavi → VRQ





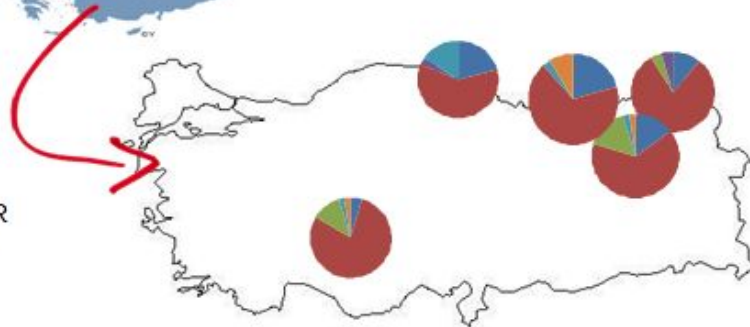
Türkiye (Ün ve ark., 2008)

Koyu mavi → ARR
Kırmızı → ARQ
Yeşil → ARH
Mor → AHQ
Açık mavi → VRQ

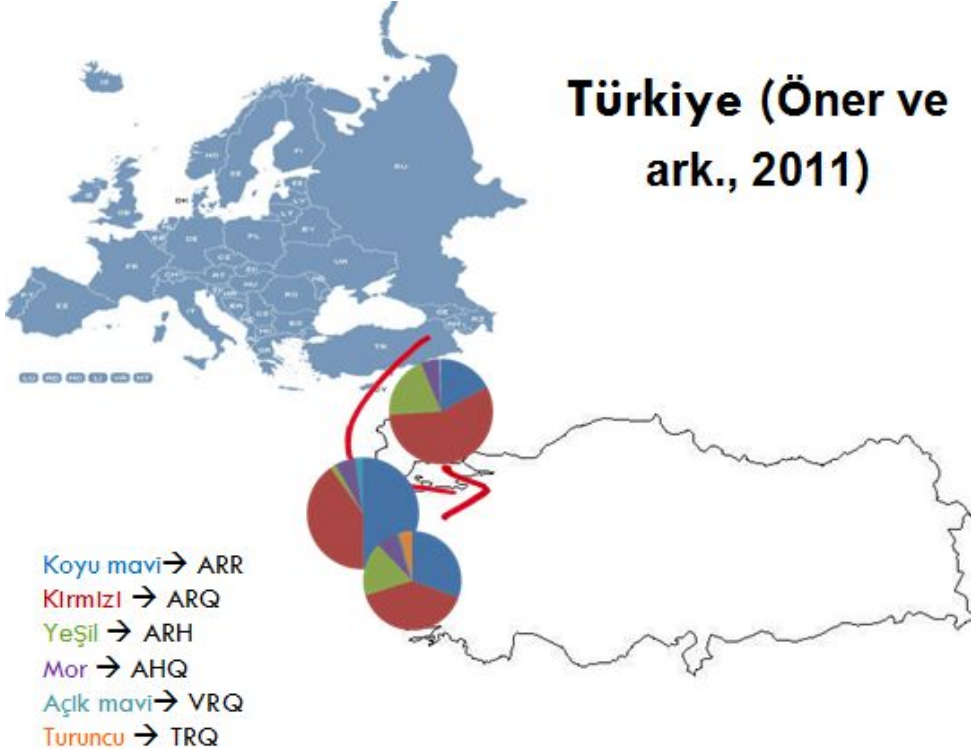


Türkiye (Alvarez ve ark., 2011)

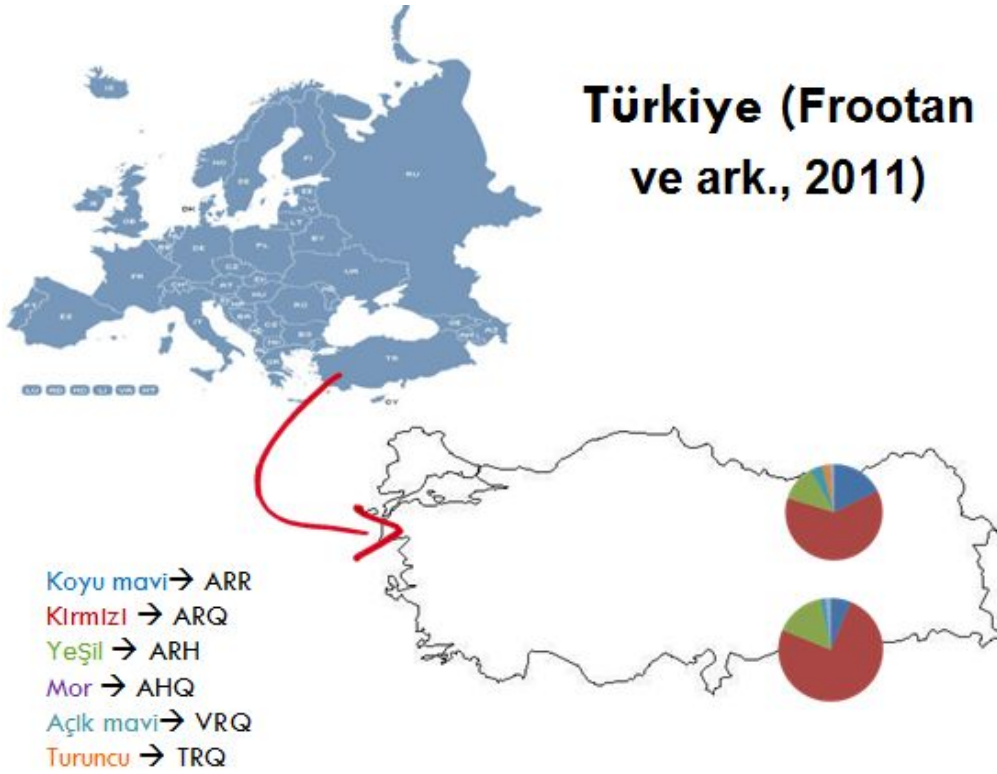
Koyu mavi → ARR
Kırmızı → ARQ
Yeşil → ARH
Mor → AHQ
Açık mavi → VRQ
Turuncu → TRQ



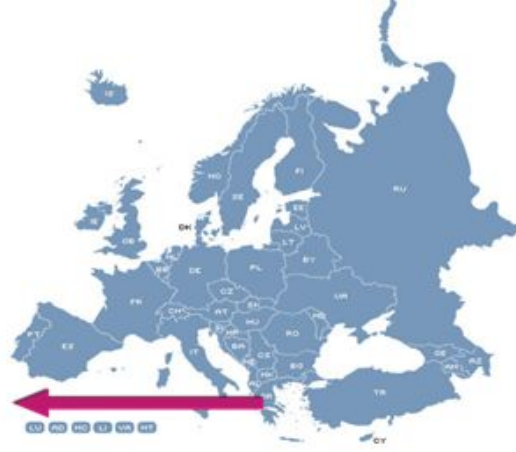
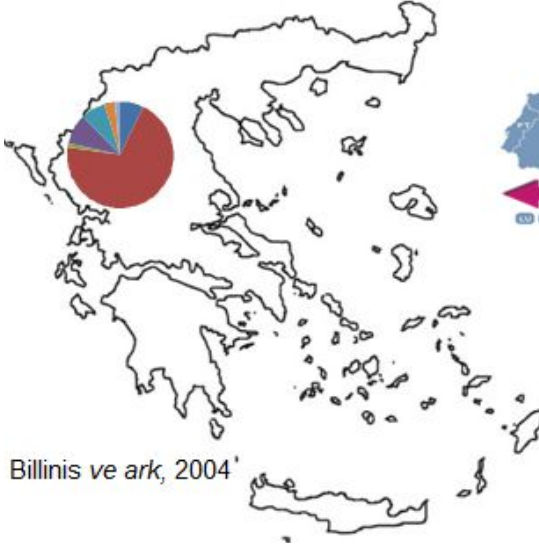
Türkiye (Öner ve ark., 2011)



Türkiye (Frootan ve ark., 2011)

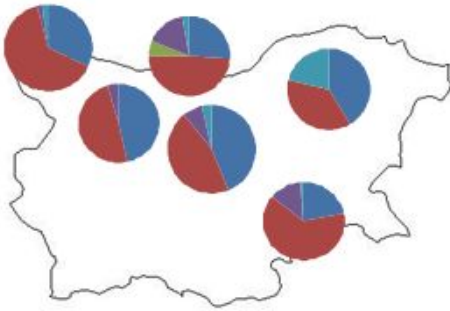


Yunanistan



- Koyu mavi → ARR
- Kırmızı → ARQ
- Yeşil → ARH
- Mor → AHQ
- Açık mavi → VRQ
- Turuncu → TRQ
- En açık mavi → ARK

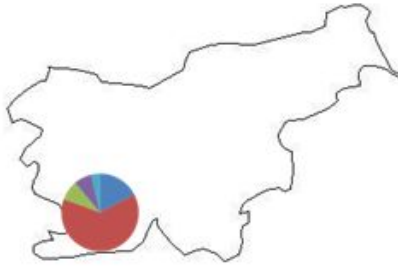
Bulgaristan



- Koyu mavi → ARR
- Kırmızı → ARQ
- Yeşil → ARH
- Mor → AHQ
- Açık mavi → VRQ

Slovenya

Gorjanc ve ark., 2010



- Koyu mavi → ARR
- Kırmızı → ARQ
- Yeşil → ARH
- Mor → AHQ
- Açık mavi → VRQ



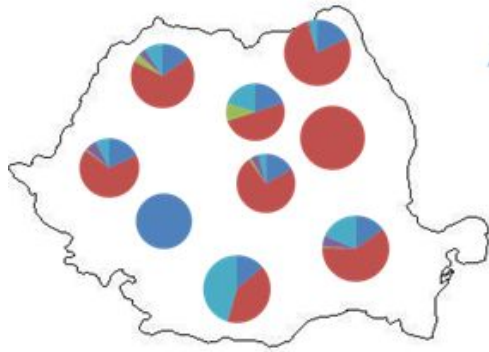
Wisniewska ve ark., 2009

Polonya

- Koyu mavi → ARR
- Kırmızı → ARQ
- Yeşil → ARH
- Mor → AHQ
- Açık mavi → VRQ



Romanya



Otelea ve ark., 2011



Acutis ve ark., 2004

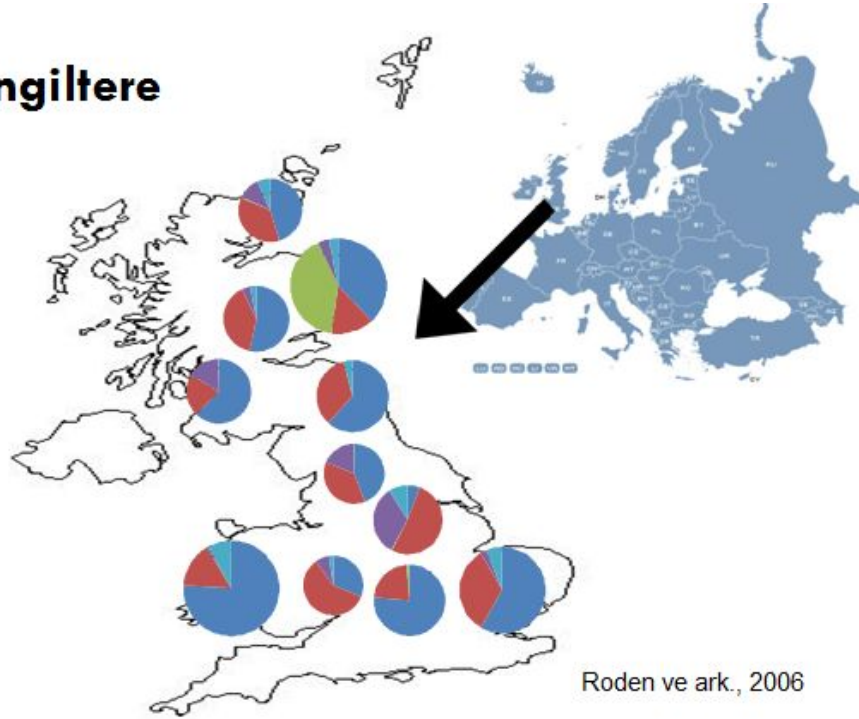
İtalya



Van Kaam ve ark., 2008

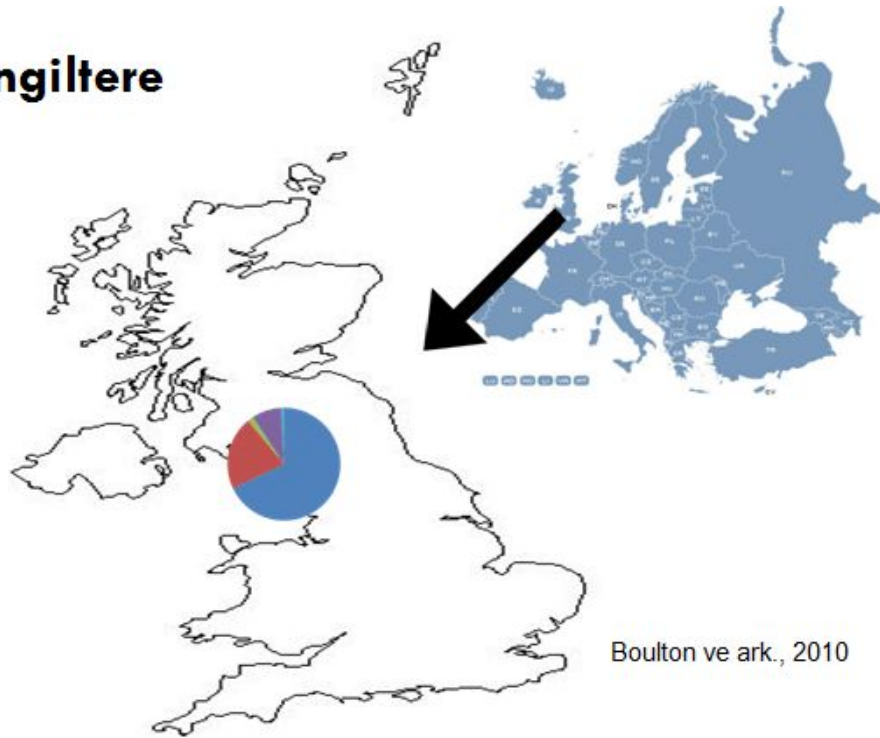


İngiltere



Roden ve ark., 2006

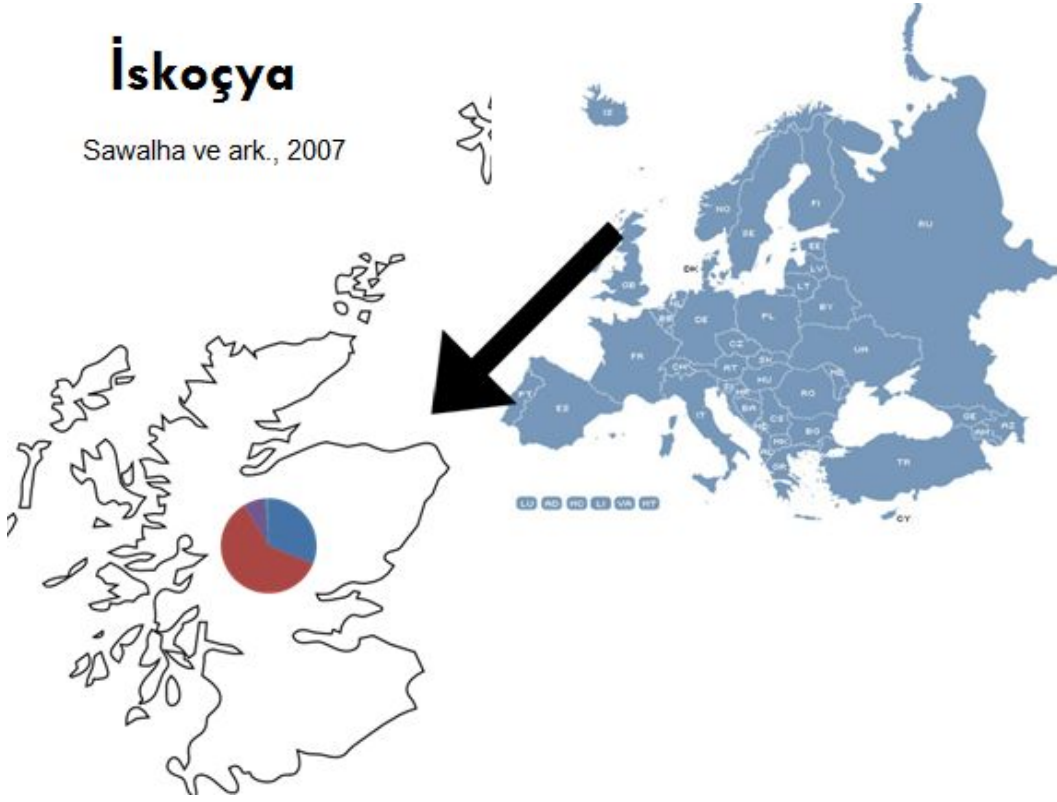
İngiltere



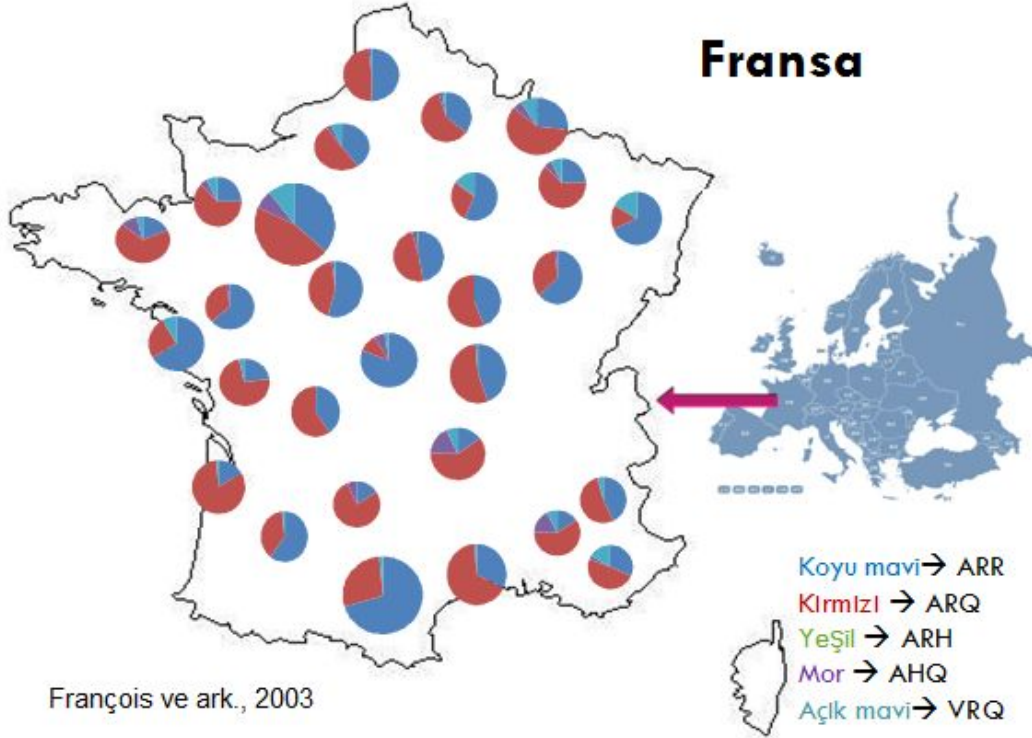
Boulton ve ark., 2010

İskoçya

Sawalha ve ark., 2007

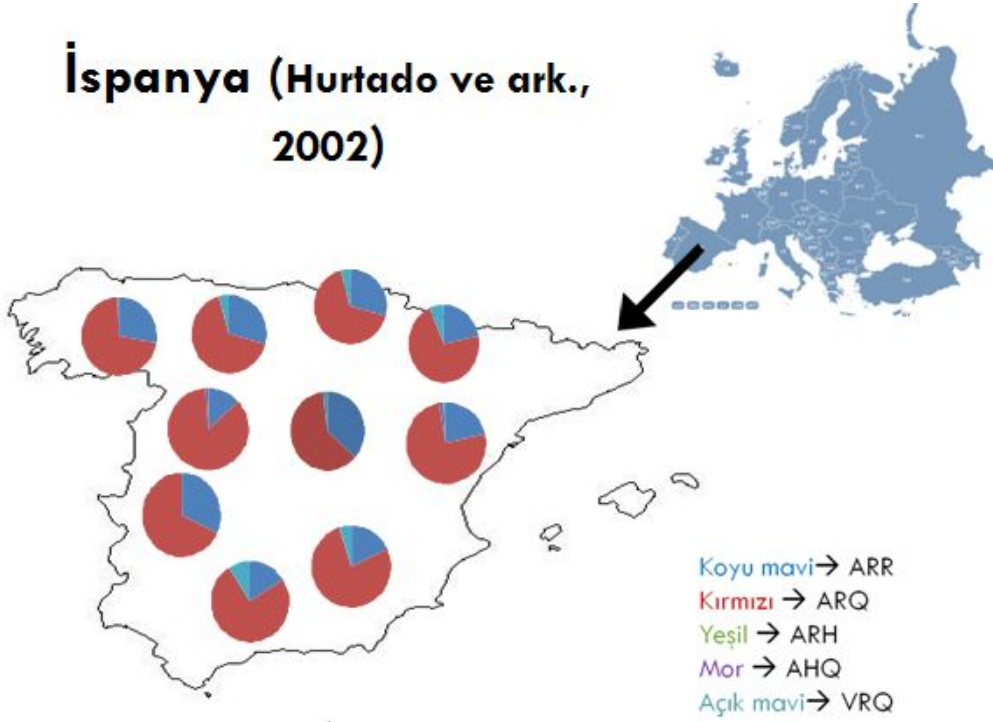


Fransa

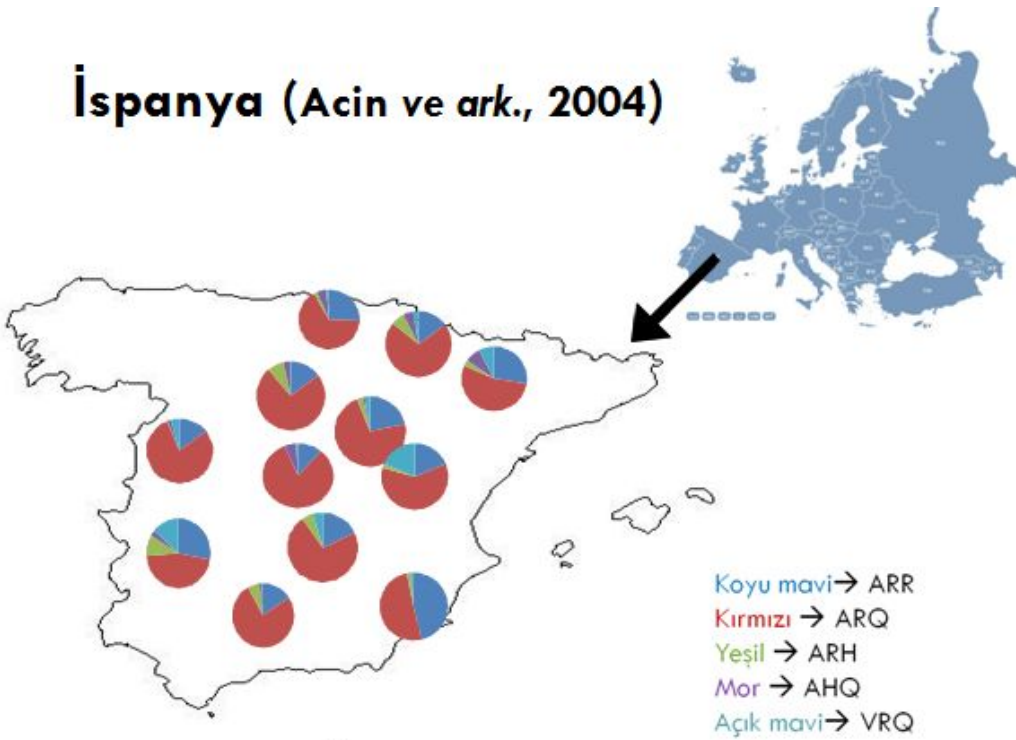


François ve ark., 2003

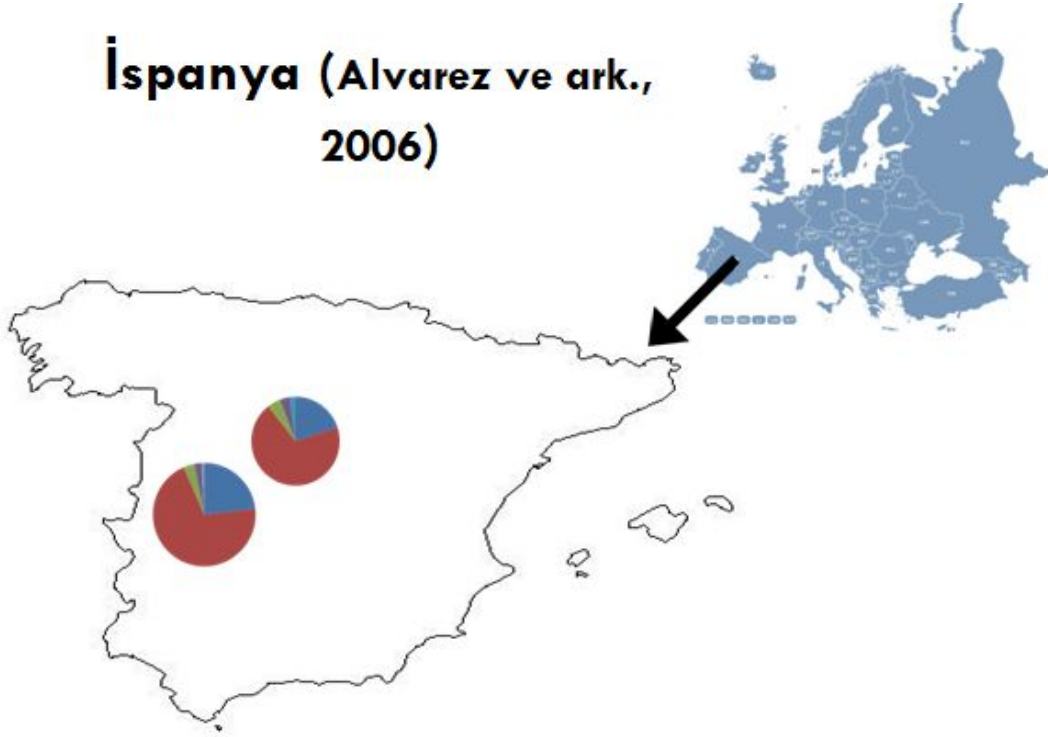
İspanya (Hurtado ve ark., 2002)



İspanya (Acin ve ark., 2004)

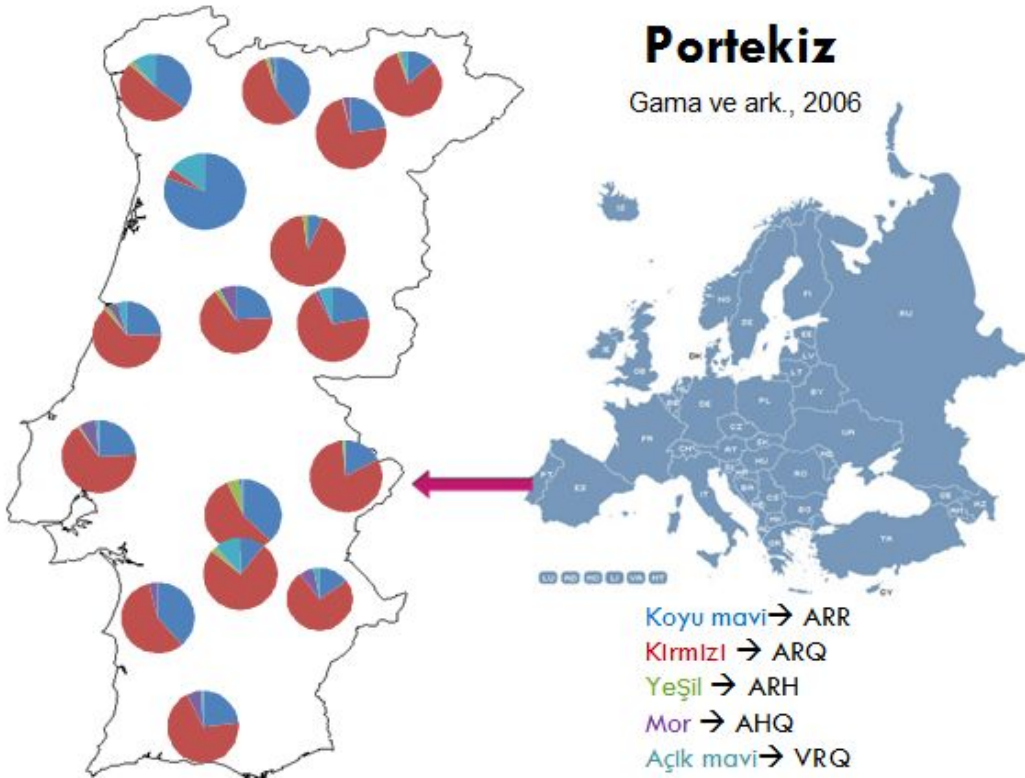


İspanya (Alvarez ve ark., 2006)



Portekiz

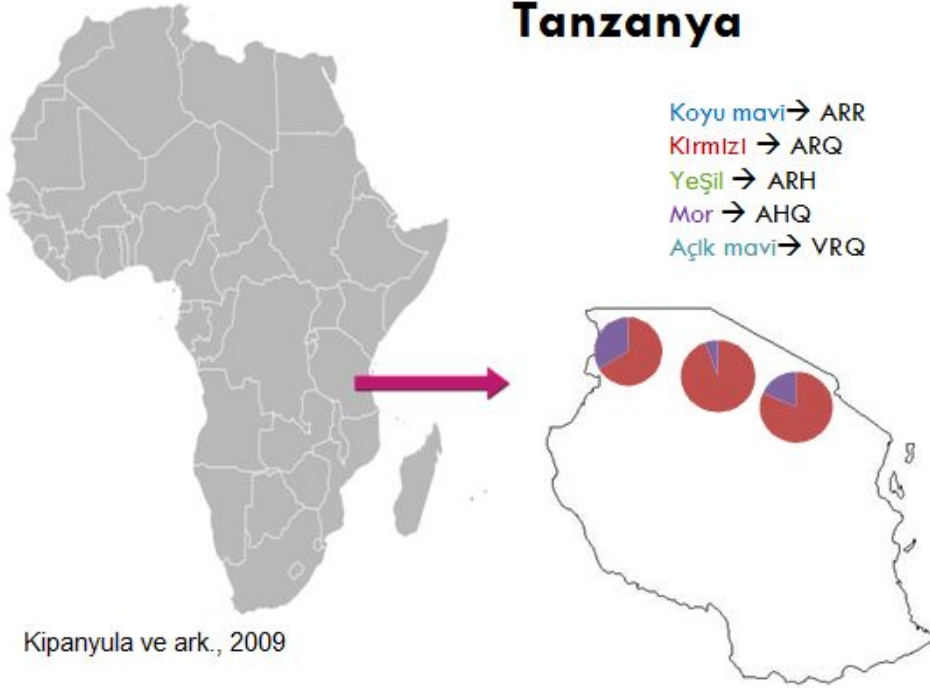
Gama ve ark., 2006



- Koyu mavi → ARR
- Kırmızı → ARQ
- Yeşil → ARH
- Mor → AHQ
- Açık mavi → VRQ

Afrika

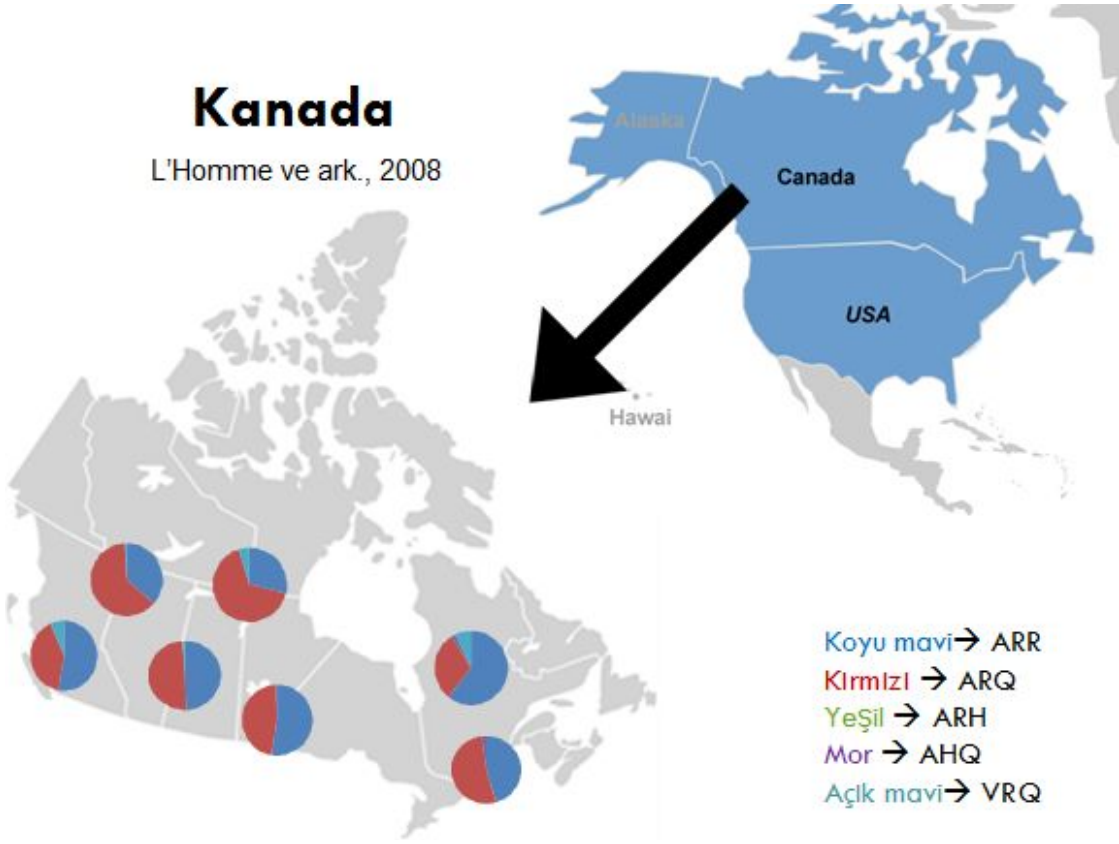
Tanzanya



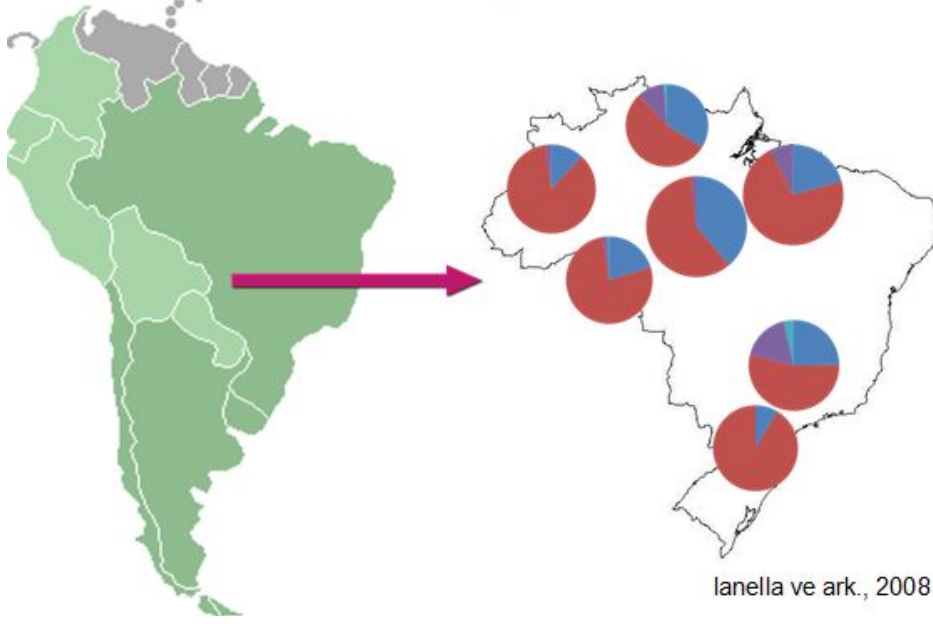
Güney Amerika

Kanada

L'Homme ve ark., 2008



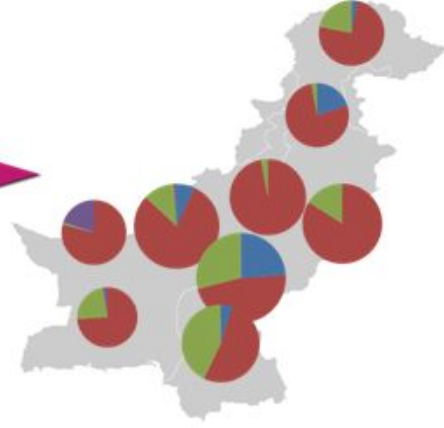
Brezilya



Orta Asya



Pakistan



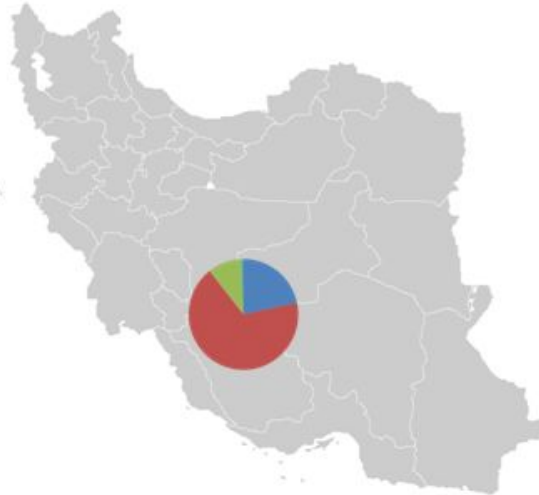
Koyu mavi → ARR
Kırmızı → ARQ
Yeşil → ARH
Mor → AHQ
Açık mavi → VRQ

Babar ve ark., 2008



İran

Karami ve ark., 2011

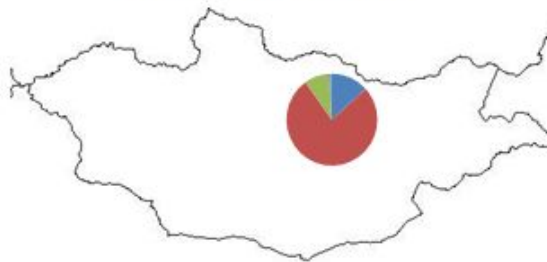


Koyu mavi → ARR
Kırmızı → ARQ
Yeşil → ARH
Mor → AHQ
Açık mavi → VRQ

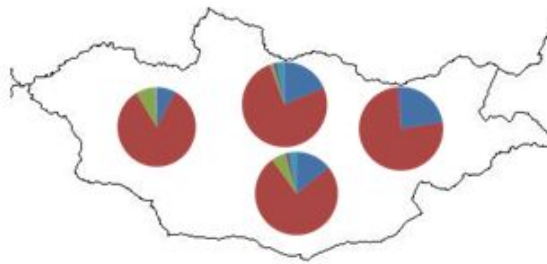
Asya



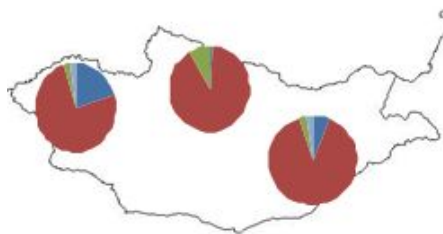
Tsunoda ve ark., 2010



Gombojav ve ark., 2003

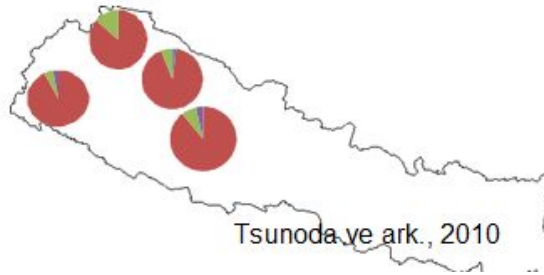


Wang ve ark., 2008



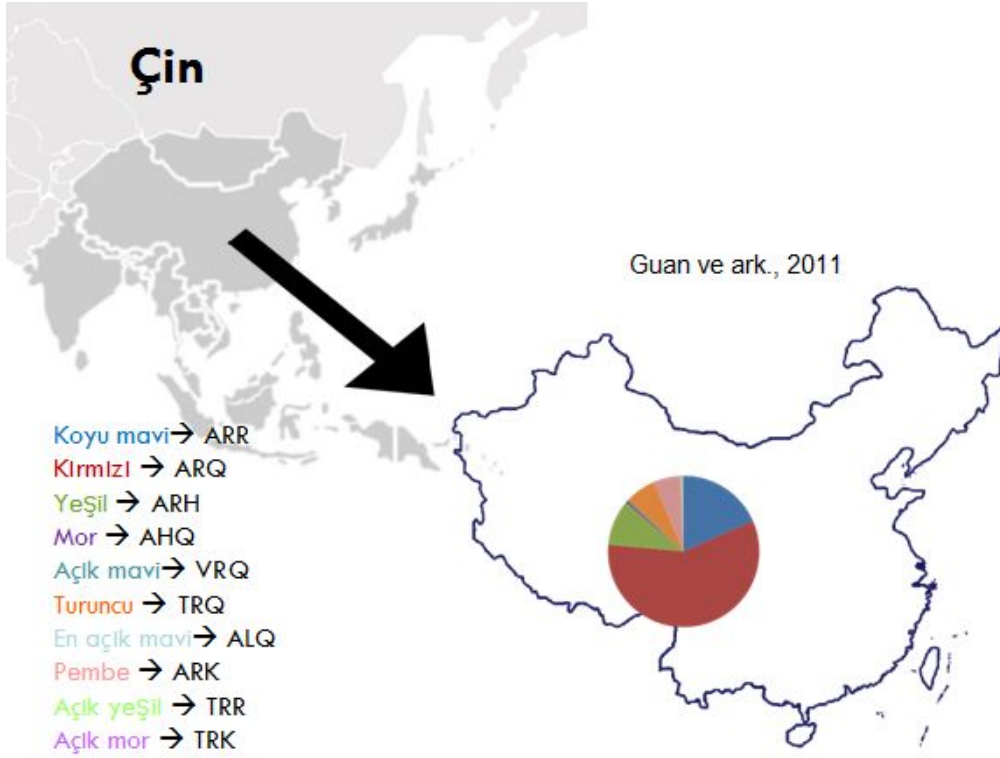
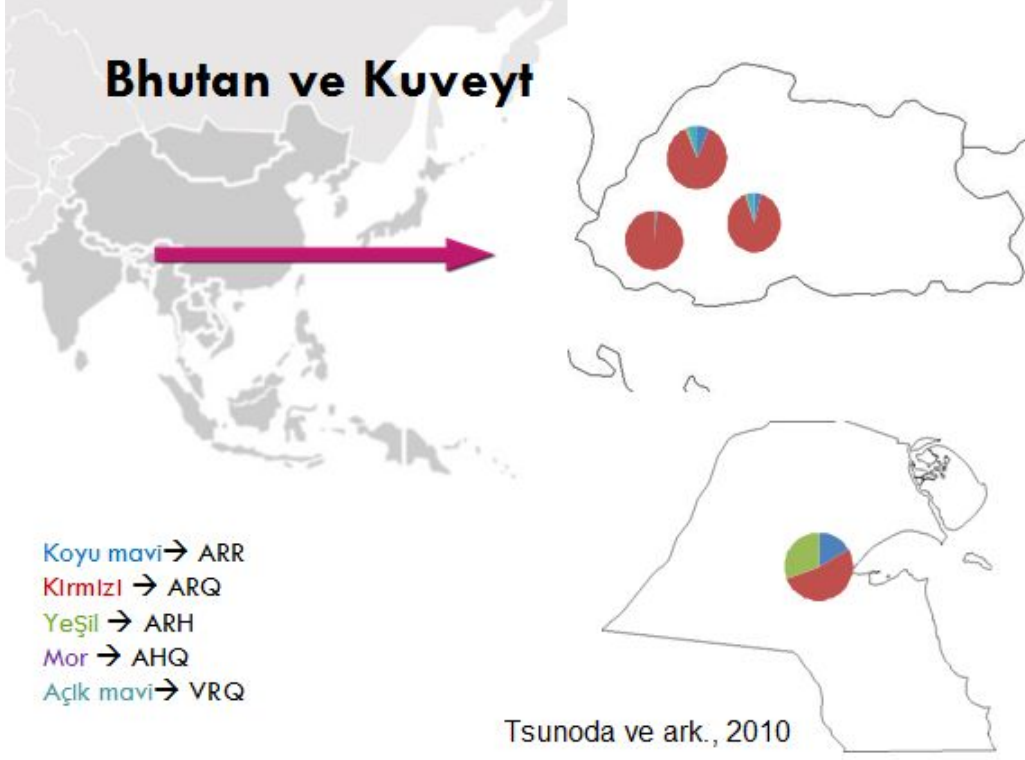


- Koyu mavi → ARR
- Kırmızı → ARQ
- Yeşil → ARH
- Mor → AHQ
- Açık mavi → VRQ



- Koyu mavi → ARR
- Kırmızı → ARQ
- Yeşil → ARH
- Mor → AHQ
- Açık mavi → VRQ

Tsunoda ve ark., 2010

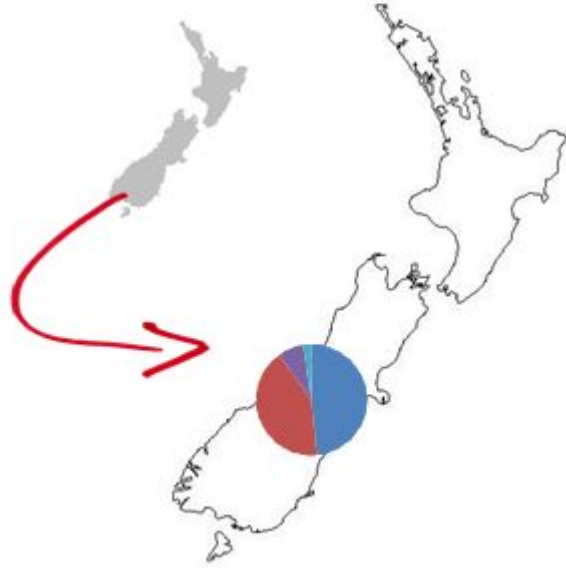




Yeni Zelandada

Bossers ve ark., 1999

Koyu mavi → ARR
Kırmızı → ARQ
Yeşil → ARH
Mor → AHQ
Açık mavi → VRQ



EK.3

Tablo.EK.3.1. Çalışmada 136, 141, 154 ve 171 kodonların dışında gözlenen polimorfik nükleotidler, aminoasit kompozisyonuna yansımaları polimorfizmlerin ırk ve bireylerdeki (parantez içindeki sayılar) dağılımı (frekans olarak).

IRK	n	G7S	L11P	L13F	A16T	D20D	R40Q	G81G	Q101R	M112T
		(GGC /AGC) (G) / (S)	(CTG/CCG) (L) / (P)	(CTC/TTC) (L) / (F)	(GCC/ACC) (A) / (T)	(GAC/GAT) (D) / (D)	CRA (CGA/CAA) (R) / (P)	Sessiz (GGT/GGA) (G) / (G)	CRG (CAG/CGG) (Q)/(R)	AYG (ATG/ACG) (M) / (T)
NOR	42	-	-	-	-	0.0238 (1)	-	-	-	0.0238 (1)
ÇİÇ	44	-	-	-	-	-	-	-	-	0.0223(1)
DAĞ	47	-	-	-	0.0213(1)	-	-	-	-	0.0425(2)
HER	45	-	-	-	0.0222 (1)	-	-	-	-	-
KIV	42	-	-	-	-	-	0.0238(1)	-	0.0238 (1)	0.0476(2)
AKK-1	48	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AKK-2	31	-	0.0127 (1)	0.0127 (1)	0.0127 (1)	-	-	-	0.0253 (2)	-
SAK	40	-	-	-	-	-	-	-	-	-
İVE	47	-	-	0.0426 (2)	-	-	-	-	-	0.0425 (2)
KRG	43	0.0930 (4)	-	-	-	-	-	-	-	-
MOR	49	-	-	-	-	-	-	-	-	0.0408(2)
HEM	42	-	-	-	-	-	-	-	-	-
KRY	43	-	-	-	-	-	-	0.0233(1)	-	-
GÖK	47	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GK	45	-	0.0222 (1)	-	0.0222 (1)	-	-	-	-	0.0667(3)
TOPLAM	683									
		4	2	3	4	1	1	1	3	13

Tablo.EK.3.1. devamı

IRK	n	H114R	G127S	G127V	127(RKC)	M132I	L133M	S138N	S138Y
		CRT (CAT / CGT) (H) / (R)	RGC (GGC/ AGC) (G) / (S)	GKC (GGC/ GTC) (G) / (V)	RKC* (AGC / GTC) (S) / (V) (GGC / ATC) (G) / (I)	ATK (ATG/ ATT) (M) / (I)	MTG (CTG / ATG) (L) / (M)	ARC (AGC/ AAC) (S) / (N)	(AGC / TAC) (S) / (Y)
NOR	42	-	0.0476 (2)	0.0238(1)	-	-	-	0.0238 (1)	-
ÇİÇ	44	-	0.1136 (5)	-	-	-	-	-	-
DAĞ	47	-	0.0425 (2)	-	-	-	-	-	-
HER	45	-	-	-	-	-	-	-	-
KIV	42	-	-	-	-	-	-	0.0238 (1)	-
AKK-1	48	-	-	0.0253(2)	-	-	-	0.0208 (1)	-
AKK-2	31	-	-	-	-	-	-	-	-
SAK	40	-	-	-	-	-	-	-	-
İVE	47	0.0213(1)	0.0851 (4)	-	-	-	-	0.0213 (1)	-
KRG	43	-	0.0697 (3)	-	-	0.0233 (1)	0.0697 (3)	0.0930 (4)	0.0233 (1)
MOR	49	-	-	0.0408(2)	0.0204(1)	-	-	0.0816 (4)	-
HEM	42	-	0.0476 (2)	0.0238(1)	-	-	-	0.0952 (4)	-
KRY	43	-	-	0.0233(1)	-	-	-	-	-
GÖK	47	-	-	-	-	-	0.1489 (7)	-	-
GK	45	-	0.1333 (6)	0.0222(1)	-	0.0222(1)	0.0222 (1)	-	-
TOPLAM	683	1	24	8	1	2	11	16	1

Tablo.EK.3.1. devamı

IRK	n	P140H	H143R	G145V	N146S	R151R	Y158S	Y172D	S173I
		CMT (CCT/CAT) (P) / (H)	CRT (CAT/CGT) (H) / (R)	GKC (GGC/GTC) (G) / (V)	ART (AAT/AGT) (N) / (S)	CGW (CGT/CGA) (R) / (R)	(TAC/TCC) (Y)/(S)	KAT (TAT/GAT) (Y) / (D)	(AGT/ATT) (S) / (I)
NOR	42	-	0.0238 (1)	-	0.0238 (1)	-	-	-	-
ÇİÇ	44	-	-	-	-	-	-	-	-
DAĞ	47	-	0.0213 (1)	-	0.0638 (3)	-	-	0.0213(1)	-
HER	45	-	0.0222 (1)	-	0.2000(9)	-	-	-	-
KIV	42	-	0.0238 (1)	-	0.0238 (1)	-	-	-	-
AKK-1	48	-	-	0.0126 (1)	0.0379(3)	-	-	-	-
AKK-2	31	-	0.0379 (3)	-	-	-	-	0.0506 (4)	-
SAK	40	-	-	-	0.0250(1)	-	-	-	-
İVE	47	-	0.0213 (1)	-	0.0426(2)	-	-	0.0213 (1)	-
KRG	43	-	-	-	0.0233 (1)	-	-	-	-
MOR	49	-	-	-	0.0612(3)	-	-	-	-
HEM	42	-	-	-	0.0952(4)	-	-	-	-
KRY	43	-	-	0.0465 (2)	0.0233(1)	-	0.0233 (1)	-	0.0233(1)
GÖK	47	0.1276 (6)	-	-	-	0.0213(1)	-	0.0213(1)	-
GK	45	-	-	-	0.0444(2)	-	-	-	-
TOPLAM	683	6	8	3	31	1	1	7	1

Tablo.EK.3.1. devamı

IRK	n	H180Q	I185T	I185F	V187A	Q189L	T193I	T196P	T204A	I208L	V213G
		CAK (CAT/ CAG) (H) / (Q)	AYC (ATC/ ACC) (I) / (T)	WTC (ATC / TTC) (I) / (F)	GYC (GTC/ GCC) (V) / (A)	CWA (CAA/ CTA) (Q) / (L)	AYC (ACC / ATC) (T) / (I)	MCC (ACC/ CCC) (T) / (P)	(ACT/ GCT) (T) / (A)	(ATA / TTA) (I) / (L)	(GTG/ GGG) (V) / (G)
NOR	42	-	-	0.0238(1)	-	0.0238(1)	-	-	-	-	-
ÇİÇ	44	-	-	-	-	-	0.0455 (2)	-	-	-	-
DAĞ	47	-	-	-	0.0213(1)	0.0213(1)	-	-	-	-	0.0213(1)
HER	45	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
KIV	42	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AKK-1	48	-	-	-	-	0.0208 (1)	-	-	-	-	-
AKK-2	31	-	-	0.0126(1)	-	0.0967(3)	-	-	-	-	-
SAK	40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
İVE	47	-	-	-	-	0.0213 (1)	-	-	-	-	-
KRG	43	0.0233(1)	-	-	-	-	-	-	-	-	0.0233(1)
MOR	49	-	-	-	-	-	-	0.0204 (1)	-	-	-
HEM	42	-	0.0238 (1)	-	-	-	-	-	0.0476 (2)	-	-
KRY	43	-	-	-	-	-	-	0.0233(1)	-	-	-
GÖK	47	0.0638(3)	-	-	-	-	-	-	-	0.0426 (2)	-
GK	45	-	-	-	0.0444(2)	-	-	0.0222(1)	-	-	-
TOPLAM	655	4	1	2	3	7	2	3	2	2	2

Tablo.EK.3.1. devamı

IRK	n	I218N	T219I	T219A	Y221D	S222E	R223K	R231R	R231G	R231W
		(ATC/ AAC) (I) / (N)	(ACC/ ATC) (T) / (I)	(ACC / GCC) (T) / (A)	(TAC/ GAC) (Y) / (D)	(CAG/GAG) (S) / (E)	(AGA/AAA) (R) / (K)	MGG (AGG/ CGG) (R) / (R)	SGG (AGG/ GGG) (R) / (G)	(AGG/TGG) (R) / (W)
NOR	42	-	-	-	-	0.0238 (1)	0.0476 (2)	0.1667(7)	-	-
ÇİÇ	44	-	-	-	-	-	-	0.0454(2)	-	-
DAĞ	47	0.0213(1)	-	-	-	-	-	0.2553(12)	-	-
HER	45	-	-	-	-	-	-	0.1778(8)	-	-
KIV	42	-	-	-	-	-	-	0.1905(8)	0.0238(1)	-
AKK-1	48	-	-	-	-	-	-	0.229(11)	-	0.0126 (1)
AKK-2	31	-	-	-	-	-	-	0.516(16)	-	-
SAK	40	-	-	-	-	-	-	0.4750(19)	0.0250(1)	-
İVE	47	-	-	-	-	-	-	0.2127(10)	-	0.0638 (3)
KRG	43	-	0.0233(1)	-	-	-	-	0.2093(9)	-	-
MOR	49	-	-	-	-	-	-	0.2653(13)	0.0204(1)	-
HEM	42	0.0238(1)	-	-	-	-	-	0.1428(6)	-	-
KRY	43	-	-	-	-	-	-	0.0697(3)	-	-
GÖK	47	0.0851(4)	-	-	-	-	0.0213(1)	0.0851(4)	-	-
GK	45	-	-	0.0222(1)	0.0667(3)	-	-	0.1333(6)	-	-
TOPLAM	683	6	1	1	3	1	3	134	2	4

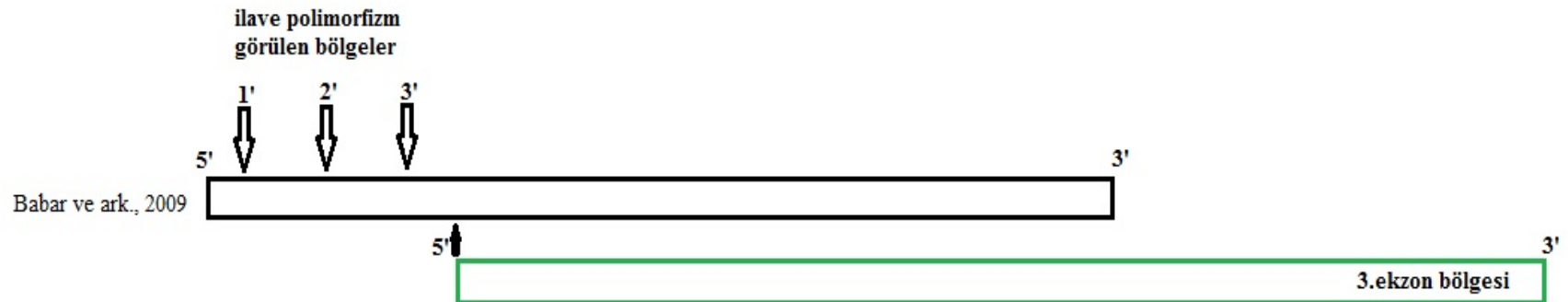
Tablo.EK.3.1. devamı

IRK	n	A233E	S234C	V235V	L237L	S239F	V243G	S248P
		(GCA/GAA) (A) / (E)	(AGT/ TGT) (S) / (C)	(GTG/GTT) (V) / (V)	CTS (CTC/CTG) (L) / (L)	TYT (TCT/ TTT) (S) / (F)	(GTG/ GGG) (V) / (G)	(TCT/ CCT) (S) / (P)
NOR	42	-	-	-	0.261(11)	0.0238 (1)	0.0476(2)	-
ÇİÇ	44	-	-	-	0.114 (5)	0.0682 (3)	-	-
DAĞ	47	-	-	-	0.297(14)	-	-	-
HER	45	-	-	-	0.222(10)	-	-	-
KIV	42	-	-	0.0714(3)	0.357(15)	-	-	0.0238 (1)
AKK-1	48	-	-	-	0.292(14)	-	-	-
AKK-2	31	0.0126 (1)	-	-	0.677(21)	-	-	-
SAK	40	-	-	-	0.525(21)	-	-	-
İVE	47	-	-	-	0.382(18)	0.0426 (2)	-	-
KRG	43	-	0.0465 (2)	-	0.256(11)	-	0.0465 (2)	-
MOR	49	-	-	0.0408(2)	0.286(14)	0.0204(1)	-	-
HEM	42	-	-	-	0.214(9)	-	0.0238 (1)	0.0714 (3)
KRY	43	-	-	-	0.163(7)	-	0.0465 (2)	0.0233 (1)
GÖK	47	-	-	-	0.085(4)	-	0.1064(5)	-
GK	45	-	-	-	0.200(9)	-	-	-
TOPLAM	683	1	2	5	183	7	12	5

EK.4

Tablo.EK 4.1._Babar Primerleri İle Çalışılan 224 Bireyin Ek Polimorfizmleri ve Frekansları

IRK	n	1' (silent) TTY (TTC / TTT) (F / F) Fenilalanin	2' WTG (TTG / ATG) L (Lösin) / M (Methionin)	3' ARA (AGA / AAA) R(Arginin) /K(Lisin)
NOR	23	0,6087	-	-
ÇİÇ	32	0,5625	0,0937	0,0937
DAĞ	24	0,4583	-	-
HER	42	0,6428	-	-
KIV	22	0,7272	-	-
AKK1	17	0,4117	-	-
SAK	22	0,5454	-	-
İVE	14	0,8571	-	-
KRG	16	0,6250	-	-
MOR	11	0,6363	-	0,1818
HEM	1	1	-	-
TOPLAM	224			



Tablo.EK 4.1. devamı: (3.ekzon ilave polimorfizmleri ve frekansları)

IRK	n	V2L	R40Q	Q101R	M112T	H114R	G127S	G127V	127	S138N
		STG (GTG/CTG) (V) / (L)	CRA (CGA/CAA) (R) / (Q)	CRG (CAG/CGG) (Q) / (R)	AYG (ATG/ACT) (M) / (T)	CRT (CAT/CGT) (H) / (R)	RGC (GGC/AGC) (G) / (S)	GKC (GGC/GTC) (G) / (V)	RKC (GGC/ATC) (G) / (I) (AGC /GTC) (S) / (V)	ARC (AGC/AAC) (S) / (N)
NORDUZ	23	-	-	-	0,0435	-	0,0435	0,0435	0,0434**	-
ÇİNEÇAPARI	32	-	-	-	0,0313	-	0,1563	-	-	-
DAĞLIÇ	24	-	-	-	0,0833	-	-	-	-	-
HERİK	42	-	-	-	-	-	-	-	-	-
KIVIRCIK	22	-	0,0455	0,0455	0,0455	-	-	-	-	0,0455
AKKARAMAN	17	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SAKIZ	22	0,1363	-	-	-	-	-	-	-	-
İVESİ	14	-	-	-	0,0714	0,0714	-	-	-	-
KARAGÜL	16	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MORKARAMAN	11	-	-	-	0,091	-	-	0,1818	0,091*	-
HEMŞİN	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TOPLAM	224									
IRK	n	H143R	N146S	T193I	R231R	R231G	V235V	L237L	L237L	S239F
		CRT (CAT/CGT) (H) / (R)	ART (AAT/AGT) (N) / (S)	AYC (ACC/ ATC) (T) / (I)	MGG (AGG/CGG) (R) / (R)	SGG (CGG/GGG) (R) / (G)	(Silent) (GTG/GTT) (V) / (V)	CTS (Silent) (CTC/CTG) (L) / (L)	(CTC/ CTA) (L) / (L)	TYT (TCT/TTT) (S) / (F)
NORDUZ	23	0,0435	0,0435	-	0,2608	-	-	0,3478	-	0,0435
ÇİNEÇAPARI	32	-	-	0,0625	0,0625	-	-	0,1250	-	0,0937
DAĞLIÇ	24	-	0,0416	-	0,2083	-	-	0,2500	-	-
HERİK	42	0,0238	0,2143	-	0,1905	-	-	0,2381	-	-
KIVIRCIK	22	-	0,0455	-	0,2727	0,0455	0,1364	0,4091	0,0910	-
AKKARAMAN	17	-	0,1765	-	0,2352	-	-	0,2353	-	-
SAKIZ	22	-	-	-	0,4091	-	-	0,4545	-	-
İVESİ	14	-	0,0714	-	0,3571	-	-	0,3571	-	0,0714
KARAGÜL	16	-	0,0625	-	0,2500	-	-	0,2500	-	-
MORKARAMAN	11	-	0,091	-	0,0909	-	0,1818	0,0909	-	0,0909
HEMŞİN	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-
TOPLAM	224									

TÜBİTAK
PROJE ÖZET BİLGİ FORMU

Proje No: 108O708
Proje Başlığı: "Türkiye ve Pakistan Yerli Koyun Irklarında Prion Protein Geni Polimorfizmleri Taranması"
Proje Yürütücüsü ve Araştırmacılar: Prof. Dr. İnci Z. TOGAN, Prof. Dr. M. İhsan SOYSAL, Prof. Dr. Muhittin ÖZDER, Yrd. Doç. Dr. Emel ÖZKAN, Begüm UZUN, Sevgin DEMİRCİ
Projenin Yürütüldüğü Kuruluş ve Adresi: Orta Doğu Teknik Üniversitesi. Fen Edebiyat Fakültesi. Biyoloji Bölümü. ODTÜ Üniversiteler Mah., Dumlupınar Blv., No:1. 06800 Çankaya Ankara/TÜRKİYE
Destekleyen Kuruluş(ların) Adı ve Adresi: TÜBİTAK.
Projenin Başlangıç ve Bitiş Tarihleri: 01.07.2010 / 01.01.2012
Öz <p>Çalışmada Türkiye'nin yerli ırklarından 14 ırk 655 bireyle temsil edilmiştir. Her birey için, prion protein (PrP) bölgesinin 248 aminoasit (aa) kodlayan kısmının dizi analizi yapılmıştır. Klasik ve atipik skrapie açısından Akkaraman, Güney Karaman, Hemşin, İvesi ve Karagül koyunlarının en az risk taşıyan ırklar olduğu anlaşılmıştır. Testler, fonksiyonu tam bilinmeyen PrP bölgesinin amino asit çeşitliliğini artırımı yönünde bir seçim baskısı altında olabileceğini, karşılaştırmalı analizler de dünyada skrapinin görülmediği koyun ırklarının ortak ayrı bir gen havuzundan gelmiş olabileceğini göstermektedir</p>
Anahtar Kelimeler: Koyun, klasik skrapie, atipik skrapie, PrP geni, polimorfizm, duyarlılık, nötralite testleri, evrimsel etmenler
Fikri Ürün Bildirim Formu Sunuldu mu? Evet <input type="checkbox"/> Gerekli Değil <input checked="" type="checkbox"/> Fikri Ürün Bildirim Formu'nun tesliminden sonra 3 ay içerisinde patent başvurusu yapılmalıdır.
Projeden Yapılan Yayınlar: 2 farklı kongrede Yrd. Doç. Dr. Emel Özkan tarafından sözlü sunum yapılmış olup isimler aşağıda verilmiştir. Sonuçların değerlendirilmesi tamamlanmış makale hazırlanmaya başlanmıştır.
Ekte Bulunan "ARDEB Başarı Öyküsü Formu". "Kazanımlar" Bölümünde Belirtilen Kriterlere Göre Proje Çıktılarınızın Başarı Öyküsü Niteliği Taşıdığını Düşünüyorsanız "ARDEB Başarı Öyküsü Formu"nu doldurunuz.

Proje Adı: "Türkiye ve Pakistan Yerli Koyun Irklarında Prion Protein Geni Polimorfizmleri Taranması"	Proje Yürütücüsü. İnci Z. TOGAN,
<p align="center">(PROJE ŞEKİL/GRAFIK/ FOTOĞRAF) (En fazla 4 tane – jpg formatında. 35 x 35 cm (300 dpi)): İsimleriyle ve şekil altı açıklamalarıyla birlikte sıralanmış olarak formda belirtilmesi ve 300 dpi çözünürlükte ayrı jpeg dosyaları halinde formun ekleri olarak gönderilmesi gerekmektedir.</p>	Proje No: 1080708
	Destek Miktarı (TL): 287.000 TL
	Proje Başlama-Bitiş Tarihi : 01.07.2010 / 01.01.2012
	Yürütücü Kuruluş: ODTÜ
	<p align="center">(PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ FOTOĞRAF) 300 dpi çözünürlükte ayrı jpeg dosyası olarak forma eklenmelidir.</p>

Projenin Amacı ve Önemi

Skrapi, koyunculukta ekonomik maliyeti yüksek yıkıma yol açan dolaylı bulasımı ile insan sağlığını da tehdit eden bir hastalıktır. Önceki çalışmalar koyun sürülerinde prion proteinine (PrP) bağlı genotiplerin yönetilmesi ile hastalığın koyunlarda oluşmasının engelleneceğini göstermiştir.

Projenin amaçları şu şekilde sıralanabilir:

- 1) Türkiye’de görüldüğü bildirilmemiş olan ve en az iki tipi bulunan bu hastalığa karşı koyunlarımızın ne kadar yatkın olduğunun saptanmasına çok sayıda ırk, birey ve PrP gen bölgesi sekansları kullanarak katkıda bulunmak
- 2) Sonuçların farklı örneklerle yinelenebilirliğini görmek
- 3) En fazla risk altında olan ırkları saptamak
- 4) Türkiye dahil bazı ülkelerde görülmemiş olmasının nedeni için öneride bulunmak
- 5) Gerçek fonksiyonu tam anlaşılmamış prion proteinin üstünde nasıl bir seçim baskısı olduğunu anlamaya çalışmak

Projenin önemi de şu şekilde özetlenebilir:

- 1) Özellikle daha nadir görülen, atipik diye adlandırılan skrapi formu için yaygın bilgi oluşturması
- 2) Elde edilecek verilerin;
 - i) Türkiye’deki skrapi idare politikaları için altlık oluşturacak olması
 - ii) Genin hangi evrimsel etmenler altında olduğu sorusuna, Türkiye’den, genetik bir sıcak noktadan, dizi analizleriyle katkıda bulunacak olması

Proje ile Elde Edilen veya Beklenen Bilimsel. Teknolojik. Ekonomik ve Sosyal Kazanımlar

Bilim insanı donanımına katkılar:

Proje ile Türkiye’de 3 üniversitenin (Namık Kemal Üniversitesi, Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Yıldırım Beyazıt Üniversitesi) elemanları (Dr. Emel Özkan, Dr. Ebru Gökalp, Sevgin Demirci ve Begüm Uzun) otozomal bölge dizilemesi, redaksiyonu ve analizini öğrendi ve

pekiştirdi. Sentetik Harita elde edilmesi öğrenildi (Sevgin Demirci). Sekans dizileri üzerinde nötralite testi yapımı öğrenildi (Dr. Emel Özkan, Sevgin Demirci). Lojistik Regresyon analizi öğrenildi (Dr. Emel Özkan)

Ekonomik kazanım olarak; DNA bankasında ileride kayıp ırkı başlatmak ya da ırkı güçlendirmek için saklanan dokular skrapiye direnç sağlayacak şekilde sınıflandırıldı, ayrıca skrapi yönetiminin özellikle Türkiye'nin Kuzeybatı bölgesindeki ırklarda uygulanmasının gerekliliği vurgulanarak, yönetim planında bir öncelik oluşturuldu (skrapi riski var ama henüz yönetim planı yok).

Bilimsel olarak PrP proteinin tıpkı MHC gibi amino asit çeşitliliğinin artması yönünde bir seçim baskısı altında olabileceği ilk analizlerde gözlemlendi. Detaylı çalışmalar devam etmekte. Özellikle bu bulgunun etki parametresi yüksek bir dergide yayını için çalışmalara başlandı.

Proje için TÜBİTAK Desteğinin Önemi (En fazla 150 kelime)

TÜBİTAK tarafından desteklenen projeler yurt içi projeler arasında 'saygınlığı yüksek' olarak kabul edildiği için Namık Kemal Üniversitesi genç araştırmacısının 18 ay süreyle ODTÜ de çalışmasına müsaade etti/ teşvik etti.

Projenin sağladığı imkanlar ile her iki üniversitede bulunan araştırmacılar bilgi alışverişinde bulundu, şu anda manda ile ilgili geliştirilmekte olan proje için aynı ekip olarak çalışmalara başladılar.

Projenin sağladığı imkanlar ile RBI'nin 8inci küresel toplantısına katılındı, sunum yapıldı ve toplantının tüm katılımcıları nezdinde iyi bir izlenim yaratıldı.

RBI toplantısı vesilesiyle Türkiye'ye davet ettiğimiz TÜBİTAK proje partnerimiz Dr. Masroor Babar ile denk, bilimsel olarak tamamlayıcı bir ortaklığın var olduğu anlaşıldı.

Türkiye'deki toplantılarımızda ve Pakistan ziyaretimizde:

- 1) Verilerimizi nötralite testleri ile inceleme fikri (Dr. Babar tarafından verildi) gelişti
- 2) Verilerimizin zenginliği ve bulunmazlığı (ülke konumu ve sekans sayısının çok olması, sekans redüksiyonlarının özenli yapılmış olması nedenleriyle) partnerlerimiz tarafından onaylandı.
- 3) Pakistan ekibi TNP (Tek Nükleotid Polimorfizmi) çalışma cihazına sahiptir (Illumina). Koyun için 200 tane seçilmiş TNP ile oluşturulmuş çipleri de hazır (maliyeti 20.000 dolar). Yazılımları kullanmayı çözüp ortak olarak kullanmayı önermektedirler.
- 4) Pakistan Manda yetiştiriciliğinde en önde olan ülkedir. Türkiye'de başlatılan çalışmalarda birlikte çalışılması planlandı.
- 5) PrP nin insanlarda ve diğer canlılarda iki ülke ekiplerinin çalışılmalarına devam etmesi, bu konuda söz sahibi ekip olma hedefi belirlendi.
Tüm bu ortaklıklar TÜBİTAK-MoST desteğiyle başladı.

ARDEB BAŞARI ÖYKÜSÜ

1. Proje yürütücüsü iletişim bilgileri:

Adı – Soyadı : İnci Z. TOGAN
Unvanı : Prof. Dr.
Telefon : 0.312.210.5167
E-posta adresi : togan@metu.edu.tr

PROJE SONUÇLARI

Proje’de Pakistan ve Türkiye yerli koyun ırklarından özenli örnekleme ile seçilmiş olan bireylerin PrP geninde DNA dizi analizine dayalı polimorfizm taramasının yapılacağı, bu ırklarda PrP haplotip frekans dağılımlarının saptanacağı öngörülmüştür.

Projede Türkiye’nin farklı coğrafi bölgelerinin çevre koşullarına uyum sağlamış, farklı verim özellikleri açısından yetiştiriciliği yapılan 14 yerli koyun ırklarından (Norduz, Çineçaparı, Dağlıç, Herik, Kıvırcık, Akkaraman (AKK-1, AKK-2), Sakız, İvesi, Morkaraman, Hemşin, Karagül, Karayaka, Gökçeada ve Güney Karaman) toplam 655 bireyde çalışılmıştır. Çalışmada 745 bç uzunluktaki PrP gen bölgesinin dizilimi yapılmış, klasik ve atipik skrapiye direnç ya da hassasiyet göstermesi açısından önemli olan kodonlar (136, 141, 154 ve 171) dikkate alınarak ırkların haplotip frekans dağılımları ortaya konulmuştur. Çalışmada elde edilen tüm sonuçlar, Avrupa, Asya, Güney Amerika, Yeni Zellanda, İzlanda ve proje ortağı Pakistan yerli koyun ırklarında elde edilen sonuçlar ile karşılaştırılmıştır.

Çalışma sonrası elde edilen verilerden yararlanarak ırk içi alt gruplarda PrP genotipi açısından gözlenebilecek farka yaklaşık bir ölçüt oluşturulacağı ve ırkın ayrı zamanlarda toplanmış örneklerinin sonuçları nasıl etkilediğinin araştırılacağı belirtilmiştir

Aynı ırkın bağımsız örnekleri örneğin Akaraman (Alvarez ve ark. 2011, sunulan çalışmada AKK-1 ve AKK-2) için en sık rastlanan allel (ARQ) frekansı çalışmalar arasında çok farklılık (0.500-0.786) göstermektedir. Kayıtlı yetiştiricilik yapılmayan, ırklar arasında izolasyon olmayan ülkemizde, ırklar homojen bir yapıya sahip olmadıklarından farklı örnekler için farklı gözlemler beklenmelidir. Ayrıca 2000 yıllarında örneklenmiş AKK-2 örneğinin 2007 den bu yana örneklenmiş çalışma örneklerinin neredeyse hepsinden (ırk öbeğinden) Çok Boyutlu Ölçekleme Analizinde ayrı durması ırkların yıllar içinde pazar ekonomisinin ya da

rastlantısal sürüklenmenin etkisinde önemli genetik yapı değişikliğine uğradığına işaret etmektedir.

Proje sonucunda oluşturulacak detaylı verilerin; her iki ülke otoritelerinin, yetiştirme birliklerinin, üniversite araştırma birimlerinin kullanımına sunulacağı amaçlar kısmında bildirilmiştir.

Türkiye ekibi olarak projenin ön sonuçları 2 farklı bilimsel toplantıda sunulmuştur. Projenin rapor aşamasının tamamlanması sonrasında, Pakistan ve Türkiye'ye ait tüm sonuçların birlikte değerlendirildiği bir araştırma makalesinin hazırlanmasına başlanmış olup bu makalenin uluslararası saygın bir dergide basılması planlanmaktadır.

Çalışmanın ortak olarak yapılmasının yararları ve Pakistan ile işbirliğinin Türkiye ekibine sağladığı kazançlar

Proje sonucunda Orta Doğu ve Pakistan'a ait yerli koyun ırklarında fazla sayıda bireyde PrP gen bölgesi dizi analizine dayalı polimorfizm taraması yapılmış ve oldukça kapsamlı veri oluşturulmuştur. Bu verilerden yararlanarak ırkların seçilimi ve nörtalitesi açısından değerlendirilmesi yapılacaktır. Pakistan ekibinin Türkiye ekibine kazandırdığı yeni ve olumlu bir katkı nörtalite ve seçim açısından ırkların anlamlandırılması olmuştur. Diğer bir önemli katkı ise skrapiye direnç kazandırabilecek farklı polimorfizmlerin görülmesi nedeni ile Pakistan ve Türkiye' de skrapi hastalığının gözlemlenmemiş olabileceği fikri olmuştur. Pakistan'a yapılan ziyarette Prof. Babar ve ekibinin yerli koyun ırklarında bir TNP (Tek nükleotid polimorfizmi) -çip kullanımını oluşturmayı planladığı ve bu konuda önemli bir aşamayı kat ettikleri görülmüştür. Türkiye'de de koyunlarda TNP çalışmasına hız verilmesi gerektiği ve bu konuda ekibimizi ortak kabul edeceklerini belirtmişlerdir. Ayrıca yapılan ziyaret sonrası Pakistan'da manda yetiştiriciliğine oldukça önem verildiği gözlemlenmiştir. Türkiye'de de manda yetiştiriciliği, konusunda ortak çalışmalarının yapılmasının doğru olacağı düşünülmektedir. Son olarak PrP çalışmalarının insan ve keçide de yapılması ve

PrP alışmaları açısından bilinen bir grup (iki ülkenin ortaklığında tek grup) olunması hedef olarak kabul edilmiştir.

Proje yürütücüsü iletifim bilgileri:

Adı – Soyadı : İnci Z. TOGAN

Unvanı :Prof. Dr.

Telefon :0.312.210.5167

E-posta adresi :togan@metu.edu.tr