



T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KİLİS KEÇİLERİNDE POU1F1, PRLR, β -LG, GH GEN
POLİMORFİZMLERİ ve SÜT VERİM ÖZELLİKLERİ ile İLİŞKİSİ**

ZÜHAL GÜNDÜZ

ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

HATAY
KASIM-2020



T.C.

HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KİLİS KEÇİLERİNDE POU1F1, PRLR, β -LG, GH GEN
POLİMORFİZMLERİ ve SÜT VERİM ÖZELLİKLERİ ile İLİŞKİSİ**

Zühal GÜNDÜZ
ORCID:0000-0002-1427-1501

ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

Danışman
Prof. Dr. Osman BİÇER
ORCID:0000-0001-5760-9026

HATAY
KASIM-2020

13.11.2020

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını ve tez üzerinde Yükseköğretim Kurulu tarafından hiçbir değişiklik yapılamayacağı için tezin bilgisayar ekranında görüntülendiğinde asıl nüsha ile aynı olması sorumluluğunun tarafıma ait olduğunu beyan ederim.

Zühal GÜNDÜZ

ÖZET

KİLİS KEÇİLERİNDE POU1F1, PRLR, β -LG, GH GEN POLİMORFİZMLERİ ve SÜT VERİM ÖZELLİKLERİ İLE İLİŞKİSİ

Bu çalışmada Kilis keçilerinde POU1F1, PRLR, β -LG ve GH gen polimorfizmlerinin belirlenmesi ve genotipler ile laktasyon süt verimi, laktasyon süresi ve ortalama günlük süt verimleri arasındaki ilişkinin ortaya konulması amaçlanmıştır. Çalışmanın hayvan materyalini T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü tarafından yürütülen “Kilis Keçilerinin Halk Elinde Islahı” projesi kapsamında yetiştirilen dört farklı elit sürüdeki hayvanlar oluşturmuştur. Bu doğrultuda toplamda 227 baş dişi keçiden kan örneği alınmış ve PCR-RFLP yöntemi kullanılarak genotipler belirlenmiştir.

POU1F1 intron 5, ekzon 6 ve 3' flanking bölgesinde AluI restriksiyon endonükleaz enzim kesimi sonucu T ve C allel frekansları sırasıyla %67.08 ve %32.92, TT, TC ve CC genotip frekansları ise %40.83, %52.50 ve %6.67; PRLR 3' UTR bölgesinde RsaI lokusu için C ve T allel frekansları sırasıyla %86.80 ve %13.20; CC, CT ve TT genotip frekansları ise %75.42, %22.35 ve %2.23; β -LG ekzon 7 ve 3' UTR bölgesinde SacII lokusu için A ve B allel frekansları sırasıyla %59.04 ve %40.96, AA, AB ve BB genotip frekansları ise %30.34, %57.86 ve %11.80; GH1 ekzon 2, intron 2 ve ekzon 3 bölgesinde HaeII lokusu için A ve B allel frekansları sırasıyla %55.08 ve %44.92, AA, AB, BB genotip frekansları ise %10.17 ve %89.83, %0.00; GH2 ekzon 4 bölgesinde HaeIII lokusu için C ve D allel frekansları sırasıyla %0.83 ve %99.17, CC, CD ve DD genotip frekanslarının ise %0.00, %1.66 ve %98.34 olduğu tespit edilmiştir. POU1F1, β -LG ve GH1 genleri için popülasyonun Hardy Weinberg dengesinden sapma gösterdiği ($P<0.05$, $P<0.01$, $P<0.001$), ancak PRLR lokusu bakımından popülasyon dengede olup, GH2 lokusunda homozigotluğun arttığı saptanmıştır.

Laktasyon süt verimi üzerine POU1F1, PRLR ve β -LG gen bölgelerinde elde edilen genotipler arasındaki farklılığın önemli olduğu ve sırasıyla TC, TT ve AB genotiplerine sahip hayvanların süt verimlerinin diğer genotiplere göre yüksek olduğu tespit edilmiş ($P<0.05$, $P\leq 0.05$, $P\leq 0.001$) ancak GH1'in herhangi bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Laktasyon süresi incelendiğinde ise POU1F1 lokusu üzerinde elde edilen genotipler arasındaki farklılığın önemli ve TC genotipine sahip hayvanların laktasyon süresinin diğer genotiplere göre uzun olduğu ($P<0.05$) ve PRLR, β -LG ve GH1 lokuslarının herhangi bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Ortalama günlük süt verimleri incelendiğinde POU1F1, PRLR ve β -LG genleri için elde edilen genotipler arasındaki farklılık istatistiksel anlamda önemli ve TC, TT ve AB genotiplerine sahip hayvanların süt verimlerinin yüksek olduğu tespit edilmiş ($P<0.05$, $P\leq 0.05$, $P\leq 0.001$) ancak GH1 in herhangi bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir.

Yapılan bu çalışma ile Kilis keçi popülasyonlarında POU1F1, PRLR ve β -LG genlerinin çalışmada üzerinde durulan özellikler bakımından Markör Destekli Seleksiyon için kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

2020, 189 sayfa

Anahtar kelimeler: Kilis keçisi, POU1F1, PRLR, β -LG, GH, süt verimi

ABSTRACT

POU1F1, PRLR, β -LG, GH GENE POLYMORPHISMS in KİLİS GOATS and ITS RELATIONSHIP with MILK YIELD TRAITS

The aim of this study was to determine POU1F1, PRLR, β -LG and GH gene polymorphisms in Kilis goats and to reveal the relationship between genotypes and lactation milk yield, lactation length and average daily milk yields. Totally four elite flocks were obtained for animal material in “The National Breeding Project of Kilis Goats under Farm Conditions” which was supported by General Directory of Agricultural Research and Policy, Republic of Turkey Ministry of Agriculture and Forestry. Accordingly, blood samples were taken from 227 head goats in total and genotypes were determined using PCR-RFLP method.

T and C allele frequencies were 67.08% and 32.92%, TT, TC and CC genotype frequencies were 40.83%, 52.50% and 6.67% as a result of restriction endonuclease enzyme AluI for intron 5, exon 6 and 3' flanking region in POU1F1; C and T allele frequencies were 86.80 % and 13.20%, TT, TC and CC genotype frequencies were 75.42%, 22.35% and 2.23% for RsaI loci 3'UTR region in PRLR; A and B allele frequencies were 59.04% and 40.96%, AA, AB and BB genotype frequencies were 30.34%, 57.86% and 11.80% for SacII loci exon 7 and 3'UTR region in β -LG; A and B allele frequencies were 55.08% and 44.92%, AA, AB and BB genotype frequencies were 10.17%, 89.83% and 0.00% for HaeIII loci exon 2, intron 2 and exon 3 region in GH1; C and D allele frequency were 0.83% and 99.17%, CC, CD and DD genotype frequencies were 0.00%, 1.66% and 98.34% for HaeIII loci exon 4 in GH2, respectively. In terms of POU1F1, β -LG and GH1 loci, flocks were not found in Hardy-Weinberg equilibrium ($P < 0.05$), but PRLR loci were found in Hardy-Weinberg equilibrium and the homozygosity increased in GH2 loci.

Differences between genotypes obtained in POU1F1, PRLR and β -LG gene regions on lactation milk yield were significant and milk yields of TC, TT and AB genotypes were higher than other genotypes, respectively ($P < 0.05$, $P \leq 0.05$, $P \leq 0.001$), but GH1 had no effect on lactation milk yield. When the lactation length was examined, it was found that the differences between the genotypes on POU1F1 locus were significant and the lactation length of the TC genotype was longer than the other genotypes ($P < 0.05$) and PRLR, β -LG and GH1 loci had no effect on lactation length. The difference between the genotypes obtained for POU1F1, PRLR and β -LG genes was statistically significant and the milk yield of TC, TT and AB genotypes were found to be high ($P < 0.05$, $P \leq 0.05$, $P \leq 0.001$), but GH1 had no effect on average daily milk yield.

In this study, it is concluded that POU1F1, PRLR and β -LG genes can be used for Marker Assisted Selection in Kilis goat populations.

2020, 189 pages

Keywords: Kilis goats, POU1F1, PRLR, β -LG, GH, milk yield

TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitim sürecinde bilimsel vizyonu ile bana daima ışık tutan, insani ve ahlaki değerleri ile kendime örnek edindiğim, yaşama dair kendisinden çok şey öğrendiğim ve birlikte çalışmaktan onur duyduğum danışman hocam Sayın Prof. Dr. Osman BİÇER'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Yaşama dair tecrübelerinden kendi payıma çıkarımlarımla hayatta "iyi ki" yollarımız kesişmiş dediğim bu kıymetli insanla tanışmış olmaktan dolayı kendimi çok şanslı hissediyorum. Birlikte çalıştığımız süre boyunca akademik danışmandan öte bir baba gibi verdiği bütün manevi destekten dolayı kabul buyurmaları durumunda bu tezi kendilerine ithaf ediyorum.

Doktora Tez İzleme Komitesi üyeleri Sayın Prof. Dr. Mahmut KESKİN ve Prof. Dr. İbrahim CEMAL'e çalışmanın tüm aşamalarındaki değerli katkılarından dolayı teşekkür ederim. Doktora Tezi jüri üyelerinden Sayın Prof. Dr. Osman TORUN ve Doç. Dr. Sabri GÜL'e olumlu eleştiri ve yönlendirici fikirleriyle katkı sağladıklarından dolayı teşekkür ederim. Çalışmanın istatistik analizlerinin yapılması ve değerlendirilmesinde desteğini esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Onur YILMAZ'a teşekkür ederim. Çalışmanın laboratuvar analizlerini gerçekleştirdiğim Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tarımsal Biyoteknoloji ve Gıda Güvenliği Uygulama ve Araştırma Merkezi'ndeki (ADÜ-TARBİYOMER) bütün olanakları kullanmamı sağlayan Sayın Prof. Dr. İbrahim CEMAL, Prof. Dr. Zeynel DALKILIÇ ve çalışma sürecinde her türlü desteği sağlayan Arş. Gör. Dr. Nezih ATA'ya teşekkür ederim.

Tezin saha çalışmaları esnasında desteğini esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Süleyman Ercüment ÖNEL, Kilis Keçisi Halk Elinde Islah Projesi Proje Teknik Elemanı Sinan KIZILKAYA ve sürü sahipleri olan Abdi SÜRÜCÜ, Ökkaş DOĞANYILMAZ, Cemil KAYA ve Osman ÇOBAN'a teşekkür ederim.

Çalışmaya maddi destek sağlayan Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne, T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü'ne, çalışmanın yürütülmesi için tanıdığı imkânlardan dolayı Kilis Damızlık Koyun Keçi Yetiştiricileri Birliği Başkanı Mehmet CIRNAVUK'a teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca, bugüne gelmemde üzerimde büyük emekleri olan aileme ve varlıklarını her zaman yanımda hissettiğim dostlarıma minnetle...

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	I
ABSTRACT.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VII
SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	VIII
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	14
2.1. POU1F1 Geni	14
2.1.1. Transkripsiyon Faktörleri.....	14
2.1.2. Transkripsiyon Faktörleri Mekanizması.....	14
2.1.3. POU1F1 Gen Yapısı ve İşlevi	17
2.1.4. POU1F1 Geninin Süt Verim Özellikleri Üzerine Etkisi	21
2.2. PRL ve PRLR Geni	29
2.2.1. PRL Gen Yapısı ve İşlevi	29
2.2.1.1. PRL Geni Birincil Yapısı.....	29
2.2.1.2. PRL Geni İkincil ve Üçüncül Yapısı	30
2.2.1.3. PRL Varyantları.....	30
2.2.1.4. PRL Sentezi ve Salgılanması.....	31
2.2.1.5. Prolaktinin Biyolojik Fonksiyonu.....	35
2.2.2. PRLR Gen Yapısı ve İşlevi	39
2.2.2.1. PRLR Geni Birincil Yapısı	39
2.2.2.1.1. Ekstraselüler Alan (ECD, The Extracellular Domain)	41
2.2.2.1.2. Transmembran Alan (TMD, The Transmembrane Domain)	41
2.2.2.1.3. İntraselüler Alan (ICD, The Intracellular Domain)	42
2.2.2.2. PRLR Geni Tersiyer Yapısı.....	42
2.2.2.3. Prolaktin Reseptörünün Bağlanması ve Aktivasyonu	43
2.2.2.4. PRLR Sinyal İletim Yolakları	45
2.2.2.4.1. JAK-STAT İletim Yolağı	45
2.2.2.4.2. The Ras/Raf/MAP İletim Yolağı	46
2.2.2.4.3. Diğer İletim Yolakları.....	47
2.2.3. PRLR Geninin Süt Verim Özellikleri Üzerine Etkisi.....	49
2.3. β -LAKTOGLOBULİN Geni	54
2.3.1. β -laktoglobulin Gen Yapısı ve İşlevi.....	54
2.3.2. β -laktoglobulin Geni Süt Verim Özellikleri Üzerine Etkisi	58
2.4. GH Geni.....	70
2.4.1. GH Yapısı ve İşlevi	70
2.4.2. Koyun ve Keçilerde GH Gen Duplikasyonu	73
2.4.3. GH Biyolojik Fonksiyonları	75
2.4.4. GH Geni Süt Verim Özellikleri Üzerine Etkisi	78
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	84
3.1. Materyal.....	84
3.1.1. Çalışmanın Yürütüldüğü Bölgeye Ait Bilgiler.....	84
3.1.2. Hayvan Materyali	85
3.2. Yöntem	88

3.2.1. Kilis Keçilerine Ait Fenotipik Verilerin Toplanması	88
3.2.2. Kan Örneklerinin Toplanması ve Muhafaza Edilmesi	89
3.2.3. DNA İzolasyonu	90
3.2.4. Kalite ve Miktar Tayini	91
3.2.5. PCR ile DNA Çoğaltımı	92
3.2.6. PCR Ürünlerinin Restriksiyon Endonükleaz Enzimi ile Kesimi	99
3.2.7. Agaroz Jel Elektrophorez	101
3.2.8. Genotipleme	104
3.2.9. Verilere Yönelik İstatistik Analizler	108
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA	109
4.1. POU1F1	109
4.1.1. POU1F1/AluI Genotipleme Sonuçları	109
4.1.2. POU1F1 Gen Polimorfizmi ve Süt Verim Özellikleri Arasındaki İlişki	111
4.2. PRLR	113
4.2.1. PRLR/RsaI Genotipleme Sonuçları	113
4.2.2. PRLR Gen Polimorfizmi ve Süt Verim Özellikleri Arasındaki İlişki	115
4.3. β -LG	116
4.3.1. β -LG/SacII Genotipleme Sonuçları	116
4.3.2. β -LG Gen Polimorfizmi ve Süt Verim Özellikleri Arasındaki İlişki	119
4.4. GH Geni GH1 Bölgesi	120
4.4.1. GH1/HaeIII Genotipleme Sonuçları	120
4.4.2. GH1 Gen Polimorfizmi ve Süt Verim Özellikleri Arasındaki İlişki	123
4.5. GH Geni GH2 Bölgesi	124
4.5.1. GH2/HaeIII Genotipleme Sonuçları	124
4.5.2. GH2 Gen Polimorfizmi ve Süt Verim Özellikleri Arasındaki İlişki	126
4.5.3. 126	
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	128
KAYNAKLAR	131
ÖZGEÇMİŞ	180
EKLER	181
Ek-1. DNA İzolasyonunda Kullanılan Çözeltiler	181
Ek-2. DNA İzolasyonu İçin Kullanılan Protokol	182
Ek-3. Elektrophorez Aşamasında Kullanılan Çözeltiler	183
Ek-4 Keçi (Capra Hircus) POU1F1 Geni Nükleotid Dizisi	184
Ek-5 Keçi (Capra Hircus) PRLR Geni Nükleotid Dizisi	185
Ek-6 Keçi (Capra Hircus) β -LG Geni Nükleotid Dizisi	186
Ek-7 Keçi (Capra Hircus) GH Geni Nükleotid Dizisi	189

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Dünya’da keçi varlığı ve süt üretim miktarları	2
Çizelge 1.2. Avrupa ülkelerinde keçi varlığı ve süt üretim miktarları.....	3
Çizelge 3.1. Denemede kullanılan sürülere ait bilgiler	87
Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan primerlerin baz dizilimleri	94
Çizelge 3.3. PCR reaksiyonu bileşenleri.....	98
Çizelge 3.4. Termal döngüleyici koşulları	98
Çizelge 3.5. Kullanılan restriksiyon enzimleri ve tanıma dizileri.....	100
Çizelge 3.6. Kesim enzimleri için kullanılan reaksiyon bileşenleri	100
Çizelge 4.1. POUF1/AluI lokusuna ait allel ve genotip frekansları.....	110
Çizelge 4.2. POU1F1 genotipleri ve süt verim özellikleri arasındaki ilişki	111
Çizelge 4.3. PRLR/RsaI lokusuna ait allel ve genotip frekansları	114
Çizelge 4.4. PRLR genotipleri ve süt verim özellikleri arasındaki ilişki.....	115
Çizelge 4.5. β -LG/SacII lokusuna ait allel ve genotip frekansları	118
Çizelge 4.6. β -LG genotipleri ve süt verim özellikleri arasındaki ilişki	119
Çizelge 4.7. GH1/HaeIII lokusuna ait allel ve genotip frekansları	122
Çizelge 4.8. GH1 genotipleri ve süt verim özellikleri arasındaki ilişki	123
Çizelge 4.9. GH2/HaeIII lokusuna ait allel ve genotip frekansları	125
Çizelge 4.10. GH2 genotipleri ve süt verim özellikleri arasındaki ilişki	127

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Ülkelere göre hayvan başına düşen yıllık ortalama süt üretimi	4
Şekil 1.2. Türkiye'de yıllara göre keçi varlığı ve süt üretim miktarları	6
Şekil 2.1. POU1F1 proteini domain yapısı	19
Şekil 2.2. POU1F1 proteini üç boyutlu yapısı	19
Şekil 2.3. POU1F1 geni kromozom yeri ve gen yapısı.....	21
Şekil 2.4. PRLR izoformları.....	40
Şekil 2.5. PRLR ekstraselüler alanının 3D yapısı	43
Şekil 2.6. Prolaktin reseptörünün aktivasyon şeması.....	44
Şekil 2.7. Jak/STAT iletim yolağı.....	46
Şekil 2.8. PRLR geni kromozom yeri ve gen yapısı	49
Şekil 2.9. β -laktoglobulinin monomer yapısı.....	55
Şekil 2.10. β -laktoglobulin geni kromozom yeri ve gen yapısı	58
Şekil 2.11. Somatotrop-spesifik gen ekspresyonu ve sinyal iletimi	72
Şekil 2.12. GH geni kromozom yeri ve gen yapısı	78
Şekil 3.1. Kilis ilinin coğrafi konumu	84
Şekil 3.2. Kilis keçisi sürüsünden bir görünüm	87
Şekil 3.3. Kilis keçilerinden kan örneği alınırken bir görünüm	89
Şekil 3.4. Çalışmada kullanılan kan örnekleri ve elde edilen genomik DNA.....	91
Şekil 3.5. NanoDrop Spektrofotometre cihazı	92
Şekil 3.6. PCR döngüsü	93
Şekil 3.7. POU1F1 geni üzerinde çoğaltılan bölge	95
Şekil 3.8. PRLR geni üzerinde çoğaltılan bölge	95
Şekil 3.9. β -LG geni üzerinde çoğaltılan bölge	96
Şekil 3.10. GH geni üzerinde çoğaltılan GH1 bölgesi	97
Şekil 3.11. GH geni üzerinde çoğaltılan GH2 bölgesi	98
Şekil 3.12. Çalışmada kullanılan termal döngüleyici.....	99
Şekil 3.13. Çalışmada kullanılan 50 bp (a) ve low range (b) DNA ladder	103
Şekil 3.14. Çalışmada kullanılan agaroz jel elektroforez düzeneği	104
Şekil 3.15. POU1F1/AluI restriksiyon enzimi ile kesim sonucu oluşan genotipler.....	104
Şekil 3.16. PRLR/RsaI restriksiyon enzimi ile kesim sonucu oluşan genotipler.....	105
Şekil 3.17. β -LG/SacII restriksiyon enzimi ile kesim sonucu oluşan genotipler.....	106
Şekil 3.18. GH1/HaeIII restriksiyon enzimi ile kesim sonucu oluşan genotipler.....	106
Şekil 3.19. GH2/HaeIII restriksiyon enzimi ile kesim sonucu oluşan genotipler.....	107
Şekil 3.20. Çalışmada kullanılan jel görüntüleme sistemi	108
Şekil 4.1. POU1F1/AluI lokusunda elde edilen genotipler.....	109
Şekil 4.2. Sürüler bazında POU1F1/AluI lokusuna ait allel frekansları	109
Şekil 4.3. PRLR/RsaI lokusunda elde edilen genotipler	113
Şekil 4.4. Sürüler bazında PRLR/RsaI lokusuna ait allel frekansları	113
Şekil 4.5. β -LG/SacII lokusunda elde edilen genotipler	117
Şekil 4.6. Sürüler bazında β -LG/SacII lokusuna ait allel frekansları.....	117
Şekil 4.7. GH1/HaeIII lokusunda elde edilen genotipler	121
Şekil 4.8. Sürüler bazında GH1/HaeIII lokusuna ait allel frekansları.....	121
Şekil 4.9. GH2/HaeIII lokusunda elde edilen genotipler	125
Şekil 4.10. Sürüler bazında GH2/HaeIII lokusuna ait allel frekansları	125

SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ

SİMGELER

°C	: Celsius
HCl	: Hydrochloric Acid, Hidroklorik Asit
KCl	: Potassium Chloride, Potasyum Klorür
MgCl ₂	: Magnesium Chloride, Magnezyum Klorür
NaCl	: Sodium Chloride, Sodyum Klorür
NaOH	: Sodium Hydroxide, Sodyum Hidroksit
(NH ₄) ₂ SO ₄	: Ammonium Sulfate, Amonyum Sülfat
Zn	: Zinc, Çinko

KISALTMALAR

A	: Adenine, Adenin
aa	: Aminoacid, Aminoasit
Ad4BP	: Adrenal 4 Binding Protein/Steroidogenic Factor 1 Adrenal 4 Bağlayıcı Protein/Steroidogenik Faktör 1
ADFP	: Adipose Differentiation-Related Protein Adipoz Farklılaşma ile İlgili Protein
AGPAT6	: 1-Acylglycerol-3-Phosphate O-Acyltransferase 1-Asilgliserol-3-Fosfat O-Asiltransferaz
Ala	: Alanine, Alanin
ALP	: Alkaline Phosphatase, Alkalen Fosfataz
AluI	: Arthrobacter luteus
AP	: Adaptor Protein Complex, Bağdaştırıcı Protein Kompleksi
Arg	: Arginine, Arjinin
AvaI	: Anabaena variabilis
B-LG/β-LG	: Beta-lactoglobulin, Beta-laktoglobulin
bç	: Base Pairs, Baz Çifti
BLUP	: Best Linear Unbiased Prediction, En İyi Doğrusal Yansız Tahmin
BSA	: Bovine Serum Albumin, Sığır Serum Albumini
BTN1A1	: Butyrophilin Subfamily 1 Member A1 Butirofilin Alt Ailesi 1 Üye A1
C	: Cytosine, Sitozin
c-src	: Proto-Oncogene Tyrosine-Protein Kinase Src
cAMP	: Cyclic Adenosine Monophosphate, Siklik Adenozin Monofosfat
CAPS	: Cleaved Amplified Polymorphic Sequence Bölünmüş Büyütülmüş Polimorfik Dizi
cDNA	: Complementary DNA, Tamamlayıcı DNA
cm	: Centimeter, Santimetre
CRH	: Cytokine Receptor Homology, Sitokin Reseptörü Homolojisi
CS	: Chorionic Somatomammotropins
CSN1S1	: Alpha-S1-Casein, Alfa-S1-Kazein
CSN2	: Beta-Casein, Beta Kazein
CSN3	: Kappa Casein, Kappa Kazein
Cys	: Cysteine, Sistein
ÇKS	: Çiftçi Kayıt Sistemi

Da	: Dalton
DdeI	: Helicobacter pylori
ddH ₂ O	: Double-Distilled Water, Çift Distile Su
dk	: Minute, Dakika
DGAT1	: Diacylglycerol O-Acyltransferase 1, Diasilgliserol O-Asiltransferaz 1
DNA	: Deoxyribonucleic Acid, Deoksiribonükleik Asit
DNaseI	: Deoxyribonuclease I, Deoksiribonükleaz I
dNTP	: Deoxynucleotide Triphosphates, Deoksinükleotit Trifosfatlar
E	: Estrogen, Östrojen
ECD	: The Extracellular Domain, Ekstraselüler Alan
EcoRI	: Escherichia coli
EDTA	: Ethylene Diamine Tetraacetic Acid, Etilen Diamin Tetraasetik Asit
Ets	: Erythroblast Transformation-Specific, Eritroblast Dönüşümü-Spesifik
F	: Forward, İleri
FAO	: Food and Agriculture Organization of the United Nations Gıda ve Tarım Örgütü
FOLR	: Folate Receptor 1, Folat Reseptörü 1
FSH	: Follicle Stimulating Hormone, Folikül Uyarıcı Hormon
G	: Guanine, Guanin
g	: gram
GAS	: G-İnterferon Activated Sequence, g-İnterferon Aktifleştirilmiş Sekans
GC	: Glucocorticoids, Glukokortikoid
GH	: Growth Hormone, Büyüme Hormonu
GHF1	: Growth Hormone Factor-1, Büyüme Hormonu Faktörü-1
GHR	: Growth Hormone Receptor, Büyüme Hormonu Reseptörü
GHRHR	: Growth Hormone Releasing Hormone Receptor Büyüme Hormonu Salgılatıcı Hormon Reseptörü
GLM	: Genel Lineer Model, Genel Lineer Model
Gln	: Glutamine, Glutamin
Glu	: Glutamic Acid, Glutamik Asit
GNRH	: Gonadotropin-Releasing Hormone, Gonadotropin Salgılatıcı Hormon
GRE	: Glucocorticoid Response Element, Glukokortikoid Tepki Elemanı
HaeIII(BsuRI)	: Haemophilus aegyptius
He	: Expected Heterozygosity, Beklenen Heterozigotluk
HinfI	: Haemophilus influenzae Rf
His	: Histidine, Histidin
Ho	: Observed Heterozygosity, Gözlenen Heterozigotluk
HSE	: Heat Shock Element, Isı Şok Elemanı
HTH	: Helix-Turn-Helix, Sarmal-Dönüş-Sarmal
HWE	: Hardy Weinberg Equilibrium, Hardy Weinberg Dengesi
ICAR	: International Committee for Animal Recording Uluslararası Hayvan Kayıt Komitesi
ICC	: Caprine Combined Index, Keçi Bileşik İndeksi
IGF-I	: Insulin-Like Growth Factor-I, İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-I
IGF-IR	: Insulin-Like Growth Factor 1 Receptor İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-I Reseptörü
IMC	: Composite Type Index, Bileşik Tip İndeksi
InDel	: Insertion and Deletion, Ekleme ve Çıkarma

IRS-1	: Insulin Receptor Substrate 1, İnsülin Reseptörü Substrat-1
ISSR	: Inter Simple Sequence Repeat, Kısa Dizi Tekrarları Arası
Jak2	: Janus kinaz 2
Kb	: Kilobase, Kilobaz
kDa	: Kilodaltons, Kilodalton
kg	: Kilogram
km ²	: Square Kilometer, Kilometrekare
l	: Liter, Litre
LEP	: Leptin
LEPR	: Leptin Receptor, Leptin Reseptör
Leu	: Leucine, Lösin
LH	: Luteinizing Hormone, Lüteinleştirici Hormon
Lys	: Lysine, Lizin
M	: Molar
MAPK	: Mitogen-Activated Protein Kinase, Mitojen-Aktive Eden Protein Kinaz
MAS	: Marker Assisted Selection, Markör Destekli Seleksiyon
Met	: Methionine, Metiyonin
MGF	: Mammary Gland Factor, Meme Bezi Faktörü
mg	: Miligram
mM	: Milimolar
µM	: Micromolar, Mikromolar
ml	: Mililitre
µL	: Microlitre, Mikrolitre
MlyI	: Staphylococcus cohnii
mRNA	: Messenger RNA, Mesenger RNA
MspI	: Moraxella species
MTHFR	: MethyleneTetraHydroFolate Reductase MetilenTetra Hidro Folat Redüktaz
NCBI	: National Center for Biotechnology Information Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi
NcoI	: Nocardia corallina
NF-I	: Neurofibromatosis Type I, Nörofibromatozis Tip I
ng	: nanogram
nm	: nanometre
OCT-1	: Octamer-Binding Transcription Factor 1 Oktamer-Bağlanma Transkripsiyon Faktörü 1
OCT-2	: Octamer-Binding Transcription Factor 2 Oktamer-Bağlanma Transkripsiyon Faktörü 1
OD	: Optik Dansite
OMIM	: Online Mendelian Inheritance in Man
ORF	: Open Reading Frame, Açık Okuma Çerçevesi
P	: Progsterone, Progesteron
PCR	: Polymerase Chain Reaction, Polimeraz Zincir Reaksiyonu
pH	: Power of Hydrogen
PI	: Phosphatidylinositol, Fosfatidilinositol
PIC	: The Polymorphism Information Content, Polimorfik Bilgi İçeriği
PIRA	: Primer-Introduced Restriction Analysis
PIT-1	: Pituitary-Specific Transcription Factor-1

	Hipofiz-Spesifik Transkripsiyon Faktör-1
PITX2	: Paired-Like Homeodomain Transcription Factor 2 Eş Benzeri Homeodomain Transkripsiyon Faktörü 2
PKC	: Protein kinase C, Protein kinaz C
PL	: Placental lactogen, plasental laktojen
PLP	: Prolactin Like Protein, prolaktin benzeri protein
POU-HD	: POU-homeodomain
POU-S	: POU-specific
POU1F1	: POU class 1 homeobox 1
PRL	: Prolactin, Prolaktin
PRLR	: Prolactin Receptor, Prolaktin Reseptör
PRAP	: Prolactin Receptor Associated Protein Prolaktin Reseptör İle İlişkili Protein
PRNP	: Prion Protein
PROP1	: PROP Paired-Like Homeobox 1
PstI	: Providencia stuartii
PTHrP	: Parathyroid Hormone-Related Peptide Paratiroid Hormon İlişkili Peptid
q(RT)PCR	: Quantitative Polymerase Chain Reaction Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu
QTL	: Quantitative Trait Loci, Kantitatif Özellik Lokusu
R	: Reverse, Geri
RA	: Retinoic Acid, Retinoik Asit
RAPD	: Random Amplified Polymorphic DNA Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA
REML	: Restricted Maximum Likelihood, Kısıtlanmış En Çok Olabilirlik
RFLP	: Restriction Fragment Length Polymorphism Kesilmiş Parça Uzunluk Polimorfizmi
RNA	: Ribonucleic Acid, Ribonükleik Asit
RsaI	: Rhodopseudomonas sphaeroides
SacII (Cfr42I)	: Citrobacter freundii
Sau3AI	: Bacillus species
SCAR	: Sequence Characterized Amplified Region Dizisi Karakterize Edilmiş Çoğaltılmış Bölgeler
SDS	: Sodium Dodecyl Sulfate, Sodyum Dodesil Sülfat
SDS-PAGE	: Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis Sodyum Dodesil Sülfat–Poliakrilamid Jel Elektrophorez
Ser	: Serine, Serin
SF-1	: Steroidogenic Factor-1, Steroidojenik Faktör-1
SH2	: Src Homology 2
SH3	: Src Homology 3
Sn	: Second, Saniye
SNP	: Single-Nucleotide Polymorphism, Tek Nükleotid Polimorfizmi
SRAP	: Sequence-Related Amplified Polymorphism Sekansla İlgili Amplifiye Polimorfizm
SSCP	: Single-Strand Conformational Polymorphism Tek İplik Konformasyonel Polimorfizmi
STAT	: Signal Transducer and Activator of Transcription

	Sinyal Dönüştürücü ve Transkripsiyon Aktivatörü
STS	: Sequence-Tagged Site, Sekans Etiketli Bölge
StuI	: Escherichia coli
T	: Tymine, Timin
TAGEM	: Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü
TaqI	: Thermus aquaticus
TBE	: Tris/Borate/EDTA
TFIIB	: Transcription factor II B, Transkripsiyon faktörü II B
TFIID	: Transcription factor II D, Transkripsiyon faktörü II D
TH	: Triiodothyronine, Triiyodotironin
TRAP	: Target Region Amplification Polymorphism Hedef Bölge Amplifikasyon Polimorfizmi
TR β	: Thyroid Hormone Receptor- β , Tiroid Hormon Reseptörü- β
TRH	: Thyrotropin-Releasing Hormone, Tirotropin Salgılatıcı Hormon
Tris	: (Hydroxymethyl) Aminomethane, (Hidroksimetil) Aminometan
TSH β	: Thyroid Stimulating Hormone β - Subunit Tiroid Uyarıcı Hormonun β Alt Ünitesi
Trp	: Tryptophan, Triptofan
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
U	: Unit, Ünite
UV	: Ultraviole, Morötesi
UNC-86	: Transcription Factor UNC-86
UTR	: Untranslated Region, Translasyonu Yapılmayan Bölge
V	: Volt
Val	: Valine, Valin
VNTR	: Variable Number Tandem Repeat, Değişken Sayılı Ardışık Tekrarlar

1. GİRİŞ

Hayvansal üretim içerisinde önemli bir yere sahip olan keçi yetiştiriciliği Anadolu kültüründe ekonomik olduğu kadar manevi bir role de sahiptir. Evcilleştirildiği M.Ö. 7000’li yıllardan bu yana keçiler insanı eğlendiren ve düşündüren bir tür olmakla birlikte kimi zamanlar kutsallaştırılmış kimi zamanlarda ise şeytani değerlerle özdeşleştirilmiştir (Çıkın ve Kaymakçı, 2005).

Güneyde Arabistan Çölü ile kuzeyde Türkiye’nin Güneydoğu ve Doğu Anadolu’nun dağlık bölgeleri arasında kalan, sınırı Dicle ve Fırat nehirleri ile Basra körfezine kadar uzanan ve Bereketli Hilal (Münbit Hilal) olarak adlandırılan bölge günümüzün temel tarım ürünleri ve özellikle hayvancılık açısından bir evciltme merkezi olduğu bilinmektedir. Birçok canlı türünde olduğu gibi keçi de bu bölgeden köken almaktadır. Keçilerin, 10.000 yıl öncesine dayanan bu süreçte İran ve Irak topraklarında bulunan ve çok geniş bir alana yayılan Zagros Dağları’nda evcilleştirildiği ve zaman içerisinde farklı alt türlere ayrıldığı düşünülmektedir (Zeder ve Hesse, 2000). Keçiler, hayvanlar âleminin (Animalia) kordalılar (Chordata) şubesinin memeliler (Mammalia) sınıfında yer almaktadır. Boynuzlugiller (Boviae) familyasından olan keçiler, Capra cinsi olup “*Capra aegagrus*” olan yaban keçisinden evcilleştirilerek bugünkü evcil keçi olan “*Capra aegagrus hircus*” olarak sınıflandırılmıştır.

Türkiye, evciltme sürecinde Bereketli Hilal’in bir parçası olması sonucu yerli koyun, keçi ve sığır popülasyonlarında farklı ırklara ve geniş varyasyona sahip olması nedeni ile genetik çeşitlilik açısından önemli bir potansiyele sahiptir (Karaca ve Cemal, 1998). Günümüzde, tarıma ve gıda üretimine katkıda bulunan çiftlik hayvanları ve ırklar bakımından sahip olduğu çeşitlilik tarihsel süreçte bugünkü şeklini almıştır (Cemal ve ark., 2013a).

Keçi, hayvansal üretim içerisinde özellikle gelişmekte olan ülkelerde zayıf mera ve bitkisel üretime uygun olmayan alanları etkin bir şekilde değerlendirebilmesi, bakım beslemenin kolay olması, değişik ve zor çevre koşullarına uyum yeteneklerinin yüksek olması, girdi maliyetinin az olması, keçi sütünün besin değerinin yüksek olması gibi nedenlerle genellikle küçük aile işletmelerinde yetiştiriciliği yapılan önemli bir hayvan türüdür.

Dünya’da keçi sütü toplam üretilen sütler içerisinde %2.3’lük bir paya sahiptir (FAO, 2018). Keçi sütü, genellikle gelişmekte olan ülkelerde temel besin kaynağı olur

iken, gelişmiş ülkelerde ise ürün çeşitliliği ile sağlık ve kozmetik sektöründe alternatif bir ürün olarak dikkat çekmektedir. Özellikle sağlık ve kozmetik sektörüne dayalı keçi sütü ürünleri bazı Avrupa ülkelerinde özel fiyatlara satılmaktadır. Son yıllarda, Amerika Birleşik Devletleri ve bazı Avrupa ülkelerinde inek sütü yeteri miktarda üretilmesine rağmen, keçi yetiştiriciliği için yeni ve modern çiftliklerin kurulduğu bilinmektedir.

Dünya’da keçi popülasyonlarının yaygın olduğu ülkeler göz önüne alındığında ülkelere göre hayvan varlığı ve süt üretim miktarlarına ilişkin bazı bilgiler Çizelge 1.1.’de sunulmuştur.

Çizelge 1.1. Dünya’da keçi varlığı ve süt üretim miktarları

Ülkeler	Hayvan sayısı (baş)	Sağılan hayvan sayısı (baş)	Süt üretimi (ton)	Süt verimi* (kg/baş)
1 Çin	138,383,129	1,285,381	237,109	184
2 Hindistan	132,749,780	36,834,310	6,098,730	166
3 Pakistan	74,134,000	8,549,374	915,000	107
4 Bangladeş	60,074,080	30,096,753	1,122,646	37
5 Çad	36,524,515	2,386,834	152,325	64
6 Etiyopya	33,048,456	1,224,216	82,707	68
7 Sudan	31,837,000	17,979,000	1,151,000	64
8 Moğolistan	27,124,703	4,207,670	149,837	36
9 Kenya	26,710,775	4,049,403	227,797	56
10 Mali	25,224,990	18,918,743	526,130	28
11 Endonezya	18,721,000	7,342,391	365,922	50
12 Tanzanya	18,385,463	3,634,453	210,211	58
13 Nijer	17,411,659	6,094,081	365,645	60
14 Burkina Faso	15,586,023	2,002,284	117,805	59
15 İran	14,992,396	5,454,425	271,302	50
16 Güney Sudan	13,547,848	6,904,497	459,343	67
17 Nepal	11,647,319	1,950,524	128,704	66
18 Somali	11,536,738	6,281,256	374,869	60
19 Türkiye	10,634,672	5,327,166	561,826	105

*Sağılan hayvan başına elde edilen ortalama süt verimi FAO (2018) verileri ile hesaplanmıştır.

Keçi yetiştiriciliğinin girdi maliyetinin az olması sebebi ile özellikle Asya ve Afrika gibi gelişmekte olan veya az gelişmiş ülkelerde “fakirin ineği” olarak adlandırılmaktadır. Bu tip ülkelerde sağılan hayvan başına üretilen süt miktarları incelendiğinde ise oldukça düşük rakamlar karşımıza çıkmaktadır. Ülkelerin yapısal dinamikleri göz önüne alındığında keçi yetiştiriciliğinin ekstansif şartlarda yapıldığı, üretim sistemlerinin yeteri düzeyde gelişmediği ve ıslah programlarının etkin olmadığını söylemek olasıdır. Ancak,

keçi popülasyonlarının az gelişmiş veya gelişmekte olan ülkelerde yaygın olmasının diğer bir nedeninin ise söz konusu ülkelerin coğrafi yapıları ile keçi türünün dağlık alanlarda ormanlık bölgeleri ve zayıf arazileri kendine has otlama biçimiyle iyi bir şekilde değerlendirmesinden kaynaklandığını da göz ardı etmemek gerekir.

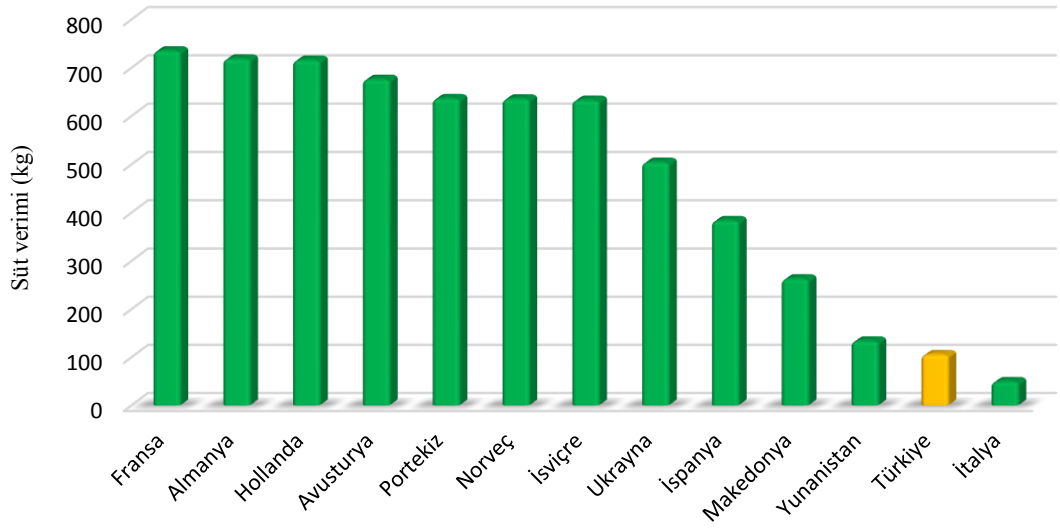
Keçi yetiştiriciliği konusunda modern süt keçiciliği yetiştirme sistemlerine sahip olarak anılan Fransa, Hollanda ve Almanya gibi gelişmiş ülkeleri de içerisinde barındıran ve keçi popülasyonunun yoğun olduğu Avrupa ülkelerinde, ülkelere göre hayvan varlığı ve süt üretim miktarlarına ilişkin bazı bilgiler Çizelge 1.2.'de sunulmuştur.

Çizelge 1.2. Avrupa ülkelerinde keçi varlığı ve süt üretim miktarları

Ülkeler	Hayvan sayısı (baş)	Sağılan hayvan sayısı (baş)	Süt üretimi (ton)	Süt verimi* (kg/baş)
1 Türkiye	10,634,672	5,327,166	561,826	105
2 Yunanistan	3,997,519	2,973,646	397,785	134
3 İspanya	2,764,790	1,202,746	461,375	384
4 Fransa	1,298,656	887,426	652,327	735
5 İtalya	986,255	577,141	28,497	49
6 Ukrayna	582,100	437,100	220,495	504
7 Hollanda	561,357	361,202	258,547	716
8 Portekiz	333,000	42,595	27,098	636
9 Almanya	146,000	40,718	29,247	718
10 Makedonya	117,447	86,865	22,846	263
11 Avusturya	91,134	38,613	26,106	676
12 İsviçre	80,552	36,821	23,300	633
13 Norveç	65,706	34,469	21,905	635

*Sağılan hayvan başına elde edilen ortalama süt verimi FAO (2018) verileri ile hesaplanmıştır.

Çizelge 1.2. incelendiğinde Türkiye, Avrupa ülkeleri arasında sayısal olarak keçi popülasyonu ve sağılan hayvan sayısı bakımından en üst sırada olmasına rağmen sağılan hayvan başına düşen yıllık ortalama süt üretimi göz önüne alındığında ise Şekil 1.1.'den de görüleceği üzere son sıralara gerilediğimiz üzücü bir gerçek olarak karşımıza çıkmaktadır.



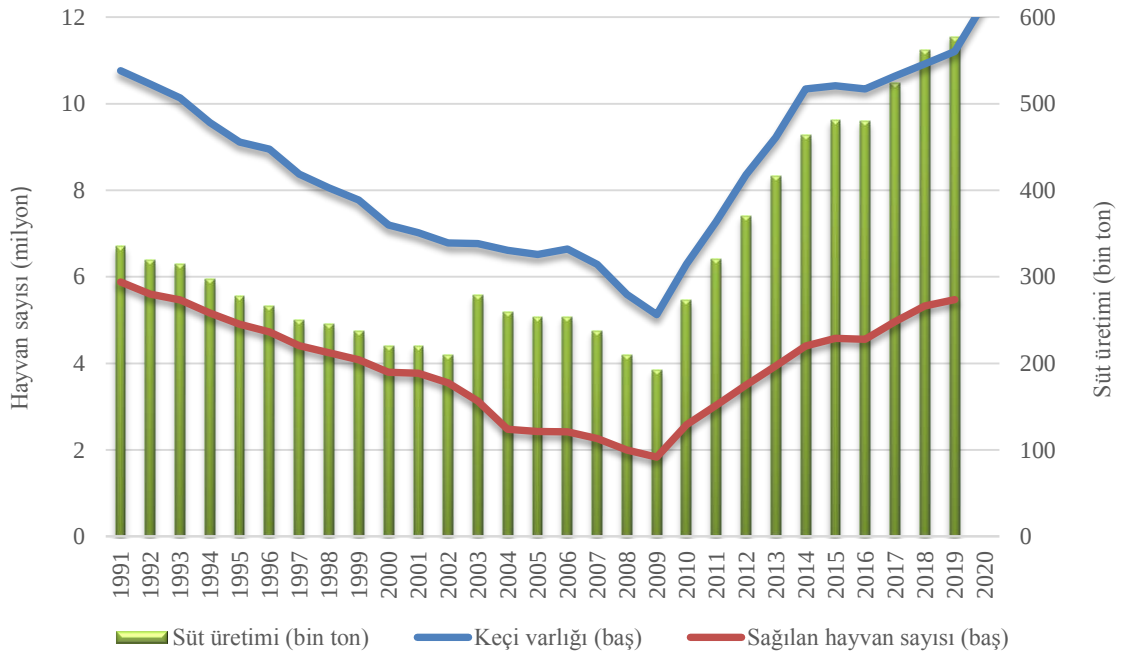
Şekil 1.1. Ülkelere göre hayvan başına düşen yıllık ortalama süt üretimi

Fransa, keçi yetiştiriciliğinde seleksiyonun etkin bir şekilde yapılması sonucu ıslah programlarının başarısı ile modern yetiştirme sistemleri bakımından Dünya’da lider konumdadır. Uygulanan ıslah programı Progeny Test temelli olup dünya çapında en verimli ve en güvenilir program olarak kabul edilmektedir. Fransa, başarılı ıslah programlarına sahip olmasına rağmen literatürde bu programların nasıl uygulandığı ve ıslah altındaki popülasyonların genetik çeşitliliği hakkında bilgi çok azdır (Burge ve ark., 2012). Fransa’da süt üretimi için performans kayıtlarının tutulması 1960’lı yıllarda başlamıştır. Ancak, genetik anlamda gelişme sürecinde suni tohumlamanın kullanılan başlıca yöntem olması ve 1980’lerde ise teke spermalarının dondurularak saklanması ile birlikte ıslah programının tamamen işlevsel hale geldiği bilinmektedir (Piacere ve ark., 2000). 1992 yılı itibari ile damızlık hayvanlar BLUP hayvan modelini kullanarak değerlendirilmiş (Boichard ve ark., 1992) ve 2001 yılında ise modele varyans heterojenliği hesaba katılarak geliştirilmiştir. Seleksiyon için uygunluk ölçütleri, özellikle meme özelliklerini de dikkate alarak 1 ile 9 arasında skorlama ile doğrusal ölçek temelinde değerlendirilmektedir. Son 10 yılda ise çok özellikli hayvan modeline dayanan genetik değerlendirme isabet derecesi yüksek damızlık değer tahmini yapmayı mümkün kılmaktadır (Burge ve ark., 2012). Bu çok özellikli hayvan modelinde özellikle meme özellikleri total değer indeksine dahil edilmiştir (Clement ve ark., 2006). Fransa’da ıslah programı çift yönlü seleksiyon (süt ve tip) yaklaşımını benimsemektedir. Uygulanan ıslah

programlarının süt verim özelliklerinin artırılmasına yönelik olmasının yanında, döl verim özellikleri ve bazı kalitatif özellikleri göz önünde bulundurarak toplamda 22 özelliği genetik ıslah programlarına entegre etmişlerdir. Süt verimi üzerinde durulan özellikler için “Caprine Combined Index: ICC”, tip özellikleri üzerinde durulan özellikler için ise “Composite Type Index: IMC” değerleri hesaplanmaktadır. Seleksiyon programında, 150.000 baş kayıtlı keçi ve 1.000 yetiştirici yer almaktadır. Aday tekelerin üretilmesi için kullanılan en iyi dişi keçilere planlı bir şekilde suni tohumlama yapılarak gebe bırakılır. Doğan yavruların arasından seçilen 360 baş aday teke Progeny Test istasyonunda Avrupa ve Uluslararası standartlara göre yetiştirilir ve bu tekelerden elde edilen spermalar yıl boyu toplanır. Aday tekelerden toplanan spermalar bazı testlerden geçerek Progeny Test için kullanılmak üzere çiftliklere dağıtılır. Bu çiftliklerden elde edilen verim kayıtları ile indeks değerleri hesaplanır ve en iyi indeks sonuçlarını veren 40 baş teke suni tohumlama için onaylanır (Anonim, 2019a). Görüldüğü üzere ıslah programlarında genetik değerlendirme ve biyoteknolojik yöntemlerin ileri düzeyde uygulanması ıslah programlarının başarısını artırarak keçi yetiştiriciliği konusunda Fransa’yı zirveye taşımıştır.

Türkiye’deki durum incelendiğinde ise keçi yetiştiriciliği geçmişten günümüze diğer tarımsal üretim faaliyetleri tarafından değerlendirilemeyen arazinin sarp olduğu orman içi ve kenar bölgeler ile çalılık alanlarda ekstansif ya da yarı entansif şekilde yapılmaktadır. Bu yapı içerisinde keçi yetiştiriciliği; aile işletmeleri, tarım işletmeleri, köy sürüleri, yaylacılık ve göçer sürüler şeklinde yapılmaktadır (Şengonca, 1989; Kaymakçı, 2005; Güney, 2010). Coğrafi olarak, vejetasyon ve iklim özellikleri bakımından özellikle Akdeniz ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinde yetiştiriciliğin yoğunlaştığı görülmektedir (Güney, 2010). Bununla birlikte son yıllarda Türkiye’de insanların gıda tüketimine yönelik farkındalıklarının artması sonucu keçi sütünün insan beslenmesindeki önemi anlaşılmış, keçi sütü tüketimine de talebin artmasıyla özellikle Ege ve Marmara bölgelerinde modern süt keçisi işletmeleri yaygınlaşmaya başlamış ve keçi yetiştiriciliği daha çok bilgi ve teknolojiye dayalı hale gelmiştir.

Şekil 1.2. incelendiğinde Türkiye, TÜİK 2020 yılı verilerine göre 12.350.811 baş keçi varlığı, TÜİK 2019 yılı verilerine göre ise 5.471.086 baş sağılan hayvan sayısı ve yıllık 577.209 ton süt üretimine sahiptir.



Şekil 1.2. Türkiye'de yıllara göre keçi varlığı ve süt üretim miktarları

Görüldüğü üzere 1991 yılından 2010 yılına doğru mevcut hayvan sayısında ve buna bağlı olarak sağılan hayvan ve yıllık üretilen süt miktarında azalmalar görülmektedir. Bunun nedenleri arasında Türkiye’de yaygın olarak yetiştirilen ancak düşük süt verimine sahip olan Kıl keçisinin ağırlıklı olarak süt keçilerine çevrilmesi doğrultusunda Ziraat Fakülteleri tarafından araştırma bazında projeler yürütülmüş, ancak T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı ile arasında eşgüdüm sağlanamadığı ve gerekli adımlar atılamadığı için süt keçisi yetiştiriciliğinde istenilen noktaya gelinememiştir (Kaymakçı ve ark., 2005; Tolunay ve ark., 2005). Diğer yandan keçi-orman ilişkilerinde ormanların denetimsiz bir biçimde otlatmaya açık tutulması ve keçinin ormana verdiği zararlar öne sürülmektedir. Ancak, zaman içerisinde bu tezin doğru olmadığı ve doğru şekilde yönetildiği takdirde keçinin ormana önemli yararlar sağlayabileceği ifade edilmiştir (Kaymakçı ve Dellal, 2006; Günlü ve Alaşahan, 2010; Karagöl, 2016). Bütün bunlara ek olarak mevcut hayvan sayısının azalması, kırsal alanlardan şehir merkezlerine terör ya da sosyal nedenlerden dolayı göçlerin artması sonucu hayvancılıkla uğraşan kişi sayısının azalması ve ekonomik olarak yeterli düzeyde gelir elde edilememesinden kaynaklanmaktadır.

Diğer yandan 2010 yılı itibari ile 2020’ye doğru mevcut hayvan sayısı ve buna bağlı olarak sağılan hayvan sayısı ve yıllık üretilen süt miktarının arttığı görülmektedir. T.C Tarım ve Orman Bakanlığı’nın 2010 yılı itibari ile “Halk Elinde Küçükbaş Hayvan Islahı

Ülkesel Projeleri”ni başlatması ile yeni adımlar atılmış ve ülkesel anlamda üretime katkı sağlamıştır. Bu proje ile birlikte yetiştiricilere kayıt tutma alışkanlıkları kazandırılmış ve verim kayıtlarının soy kütüğü zemininde süreklilik kazanması ile hedeflenen ıslah programında projenin ilk beş yıllık dönemi sonundan itibaren mevcut durumun iyileştiği görülmektedir. Bununla birlikte son 10 yıl içerisinde keçilerin gençleştirme alanları dışında kalan orman alanları içerisinde otlatılmasına izin verilmiş olması da bu sürece olumlu katkı sağladığı şeklinde ifade edilmiştir (Keskin ve ark., 2017a).

Gelişmekte olan ülkeler arasında olan Türkiye, Avrupa ülkeleri ile kıyaslandığında verim yönündeki farklılıklar göze çarpmaktadır. Yukarıda da ifade edilenlerden de anlaşılacağı üzere ıslah programları ve kullanılan seleksiyon yöntemlerinin önemi dikkat çekmektedir. Genotip, fenotip ve pedigri kayıtlarına dayalı seleksiyon, ıslah programları için büyük önem arz etmektedir. Bu bağlamda klasik ıslah programlarına genoma yönelik bilgilerin entegre edilmesi genetik ilerleme için büyük öneme sahiptir.

Klasik hayvan ıslahı, hayvanlardan elde edilen fenotipik veriler doğrultusunda damızlık değer tahminini esas almaktadır. Bu yöntem ile çiftlik hayvanlarında genetik ilerleme uzun yıllar almakta ve damızlık değer tahminleri belirli bir sapma ile yapılabilmektedir. Son yıllarda moleküler genetik alanında yaşanan gelişmeler sonucu klasik hayvan ıslahı uygulamalarında bu kısıtlamaları ortadan kaldırmak ve damızlık değer tahminlerinin isabet derecesini artırmak amacıyla genoma yönelik bilgilerin seleksiyon programlarına dahil edilmesine yönelik çalışmalar yapılmaya başlanmıştır (Cemal ve ark., 2013b). Türkiye’de küçükbaş hayvan yetiştiriciliği, yetiştirme sistemlerinin temel benzerlikleri ile yetiştiriciliğin yapıldığı coğrafi bölgelere göre belirgin farklılıkları bakımından özgündür. Islah programlarında temel yaklaşım evrenseldir. Altyapı imkânlarının izin verdiği ölçüde popülasyonun genetik özelliklerini dikkate alarak, genetik ilerlemeyi maksimize edecek ve isabet derecesi yüksek damızlık değer tahmini yönteminin belirlenmesi ile uygun çiftleştirme sistemlerini kapsayan ıslah programlarının başarılı olacağı öngörülmektedir (Karaca ve ark., 2013). Hayvancılık yönünden gelişmiş olan ülkelerde sistematik ıslah programlarının uygulanmasıyla üzerinde durulan özellik bakımından verimde büyük artışlar sağlanmış ve hatta bazı verimlerde arzulanan hedeflere ulaşılmıştır. Seleksiyon programlarında majör genlerden faydalanılmış ve büyük olasılıkla genotiplerde majör genler sabitlenmiştir. Ancak, ülkemizde şu ana kadar etkin bir ıslah programı sürdürülemediğinden dolayı verimde

önemli artış sağlanamamıştır. Dolayısı ile verim bakımından ırklar içi, ırklar arası ve sentetik popülasyonlarda büyük varyasyonlar gözlemlenmektedir (Karaca, 1998; Karaca ve ark., 2002). Ekonomik öneme sahip poligenik kalıtım gösteren kantitatif karakterler üzerinde fenotipin çoğu zaman genotipi iyi ifade edememesi neticesinde fenotipe dayalı klasik ıslah metodları kalıtım derecesi düşük karakterler üzerinde sınırlı kalmıştır. Aynı zamanda aralarında negatif korelasyon gösteren özellikler üzerinde uygulandığında ise yetersiz olmuştur (Schwerin ve ark., 1995; Doğan ve Kaygısız, 1999). Ekstansif ve entansif üretimde öncelikli amacın verim artışı olduğu düşünülürse ıslah programlarının en uygun şekilde planlanabilmesi ve uygulanabilirliği büyük önem taşımaktadır. Türkiye’de üretim sistemleri göz önüne alındığında çayır ve mera alanlarının kullanımına yönelik iyileştirmeler, yem bitkilerinin üretimi, sürü yönetimi, mekanizasyon, hastalıklarla mücadele gibi çevresel etmenlerin iyileştirilmesi de hayvanın genetik potansiyelini ortaya koyabilmesi adına en az uygulanan ıslah programları kadar önemlidir.

Üzerinde durulan kantitatif karakterler yönünden genetik ilerleme, bazı özelliklerin cinsiyete bağlı olması, toplamalı (additive) gen etkisi, çevre faktörleri nedeniyle nispeten yavaş olmaktadır. Üzerinde durulan verim özelliklerinin ergin hayvanlarda ölçülebilmesi ise generasyon aralığını uzatmakta ve yıllık genetik ilerleme oranını düşürmektedir (Lara ve ark., 2002). Dolayısı ile yıllık genetik ilerleme hızı generasyon aralığının mümkün olduğunca kısa olmasına bağlıdır. Küçükbaş ve büyükbaş hayvanlarda generasyon aralığı dört ve yedi yılı bulabilmekte buna bağlı olarak ta genetik ilerleme hızı düşmektedir. Son yıllarda, çiftlik hayvanlarında genomik değerlendirme çalışmaları hız kazanmış ve hayvanlarda damızlık değer tahmininin daha erken yapılması generasyon aralığının kısalmasını mümkün kılmıştır (Özbeyaz ve Kocakaya, 2011). Bu bağlamda, ekonomik öneme sahip olan kantitatif karakterlerin değerlendirilmesine yönelik kan grupları, protein polimorfizmleri (kan serum proteinleri ve süt proteinleri) ve DNA polimorfizmleri gibi genetik değerin tahmininde isabeti arttıracak ve seleksiyonun erken yaşlarda uygulanabilmesini sağlayacak yöntemlere ihtiyaç duyulmuştur (Lin ve ark., 1992).

Moleküler markörler, hayvanlarda bireysel tanımlama, ebeveyn tayini, genetik çeşitlilik ve genetik hastalıkların kontrolünde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak, markör destekli seleksiyon (MAS, Marker Assisted Selection) gibi genotipik seleksiyon

uygulamaları içerisinde asıl kullanım alanları kantitatif karakter lokuslarının (QTL, Quantitative Trait Loci) belirlenmesi yönünde olmaktadır. Moleküler markörlerin hayvan ıslahında kullanımını kısa ve uzun dönem olmak üzere iki başlık altında toplamak mümkündür. Kısa dönem uygulamaları bireysel tanımlama, ebeveyn tayini, genetik hastalıkların kontrolü, genetik çeşitlilik, yavru cinsiyeti ve doğum tipinin belirlenmesi, uzun dönem uygulamaları olarak ise genom hatıralarının oluşturulması, kantitatif karakter lokuslarının belirlenmesi, markör destekli seleksiyon ve genetik kaynakların korunması amaçlı yapılan çalışmalardır (Hillel ve ark., 1992; Nicholas, 1996; Kozanoğlu, 2002; Marle-Köster ve Nel, 2003; Gürses ve Bayraktar, 2014). Böylelikle, klasik ıslah metodlarında karşılaşılan kısıtlamalar moleküler markörlerin kullanımı ile aşılabilecektir (Kinghorn ve ark., 1994).

Polimorfizm, çok anlamına gelen “poly” ve şekil anlamına gelen “morph” kelimelerinin birleşmesiyle oluşmuş ve Yunanca’dan köken almış bir terimdir (Ford, 1965; Soysal, 1983). Popülasyon genetiği açısından aynı tür popülasyonda farklı allellere bağlı olarak iki ya da daha fazla farklı genotipin görülmesi polimorfizm olarak tanımlanmıştır (Ford, 1965). Genellikle, bir lokusun yaygın allel frekansının %99 ya da %95’ten daha az olduğu durumlarda o lokus polimorfik olarak değerlendirilir (Ayala, 1984). Bugüne kadar yapılan çalışmalarda polimorfizm türleri morfolojik, protein, immünolojik ve DNA polimorfizmi olarak karşımıza çıkmaktadır (Devrim ve Kaya, 2004). DNA düzeyindeki polimorfizmleri belirlemek amacıyla birçok yöntem geliştirilmiştir. Bu yöntemler arasında kullanılan DNA markörleri, polimorfizm türü ve tarama tekniği gibi birçok faktör dikkate alınarak sınıflandırılabilir. Günümüzde kullanılan DNA markörlerini eski tip ve modern tip moleküler markörler olarak iki başlık altında toplamak mümkündür. Eski tip markörler; bi-allel dominant markörler (RAPD), bi-allel ko-dominant markörler (RFLP, SSCP), multiallelik ko-dominant markörler (VNTR, Mikrosatellitler, Minisatellitler); modern tip moleküler markörler ise SNP’ler olarak sınıflandırmak mümkündür (Gündüz ve ark., 2015; 2016). Bunların dışında farklı alanlarda kullanılan ISSR, SRAP, SCAR, STS, CAPS, TRAP, ALP gibi işaretleyiciler de mevcuttur (Filiz ve Koç, 2011; Yorgancılar ve ark., 2015).

DNA polimorfizmleri, genom üzerinde protein kodlayan veya kodlamayan bölgelerde karşımıza çıkar ve sonraki generasyona Mendel kurallarına uygun olarak aktarılırlar (Reid, 1998). Polimorfizmler; tek nükleotid değişimi (SNP), insersiyon

(ekleme) ve delesyon (çıkarma) şeklinde meydana gelmektedir. SNP, transisyon veya transversiyon yoluyla ortaya çıkmaktadır (Özden ve Emir, 2006). Transisyon tanım olarak, bir pürin bazının diğer pürin bazına (A→G veya G→A) veya bir pirimidin bazının diğer pirimidin bazına (T→C veya C→T) dönüşmesi olayıdır. Transversiyon ise bir pürin bazının (A, G) bir pirimidin bazına (C, T) dönüşmesidir (Collins ve Jukes, 1994). İnsersiyon, ekleneceği gen dizisinin uzamasına neden olarak nükleotid eklenmesiyle meydana gelir. Nükleotid eklenen gen, protein kodlayan bir gen ise aminoasit dizilimi değişir ve ortaya çıkan protein işlevini artık yitirir. Delesyon ise insersiyonun aksine, genin boyutunun kısalmasına neden olarak DNA dizisinden nükleotidin silinmesi durumudur. Yine, silindiği gen eğer protein kodlayan bir gen ise insersiyonda olduğu gibi proteinin aminoasit dizisinde değişim olacak ve protein işlevini yitirecektir. İnsersiyon ve delesyonların ikisi birden indeller olarak adlandırılmaktadır (Ogurtsov ve ark., 2004; Kondrashov ve Rogozin, 2004). SNP, bir genomda yaygın şekilde görülen bir polimorfizm türü olup genomda meydana gelen SNP'lerin çoğunun fenotip üzerinde bir etkisi yoktur ve nötral SNP olarak adlandırılmaktadır. SNP'ler eğer protein fonksiyonunu etkiliyorsa DNA'nın kodlanan bölgelerinde görülmektedir (Wright, 2005).

RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism, Kesilmiş Parça Uzunluk Polimorfizmi), DNA dizisi üzerinde oluşan farklılıkları tanıyan bazı restriksiyon endonükleaz enzimlerinin, DNA ile reaksiyonu sonucunda ortaya çıkan fragment uzunluklarının değişmesi olarak tanımlanmaktadır (Snustad ve Simmons, 2011). Eğer DNA üzerinde polimorfik bölgede restriksiyon enzimlerinin tanıyacağı dizi biliniyor ise, hedef bölgenin PCR ile çoğaltılması ve ardından restriksiyon endonükleaz enzimiyle reaksiyonu sonucu oluşacak fragment değişimi kolayca saptanabilmektedir. PCR-RFLP, DNA dizisinde bulunan SNP'leri tespit etmek için hızlı ve güvenilir bir yöntem olarak görülmektedir. RFLP markörleri yüksek polimorfizm ve ko-dominant kalıtım göstermeleri, tekrarlanabilirliğinin yüksek olması ve özgün DNA dizisine ait bilgiye ihtiyaç duyulmaması gibi birçok avantajının olmasının yanında analiz için yeterli miktarda ve iyi kalitede DNA'ya ihtiyaç duyulması ve restriksiyon endonükleaz enzimlerinin kullanılması açısından pahalı ve aşamalı bir yöntem olarak karşımıza çıkmaktadır. RFLP, genomda SNP'lerin tespit edilmesi, kromozom kalıtımı çalışmaları, gen polimorfizmlerinin tanımlanması, genetik bağlantı haritalarının çıkarılması, bakteriyel ve viral suşlardaki mutasyonların tanımlanması, genetik kaynakların

korunması ve genetik hastalıkların tespiti gibi birçok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır. (Botstein ve ark., 1980; Gelehrter ve ark., 1998; Lymer ve ark., 2008; Snustad ve Simmons, 2011; Ata ve Cemal, 2013; Yılmaz ve ark., 2014a, 2014b; Balcıoğlu ve ark., 2014; Shwab ve ark., 2014; Mete, 2016; Işık, 2016; Işık ve ark., 2017).

Kantitatif karakterler, tüm lokuslarda benzer frekanslarda aditif ve dominans ilişkileri neredeyse aynı olan birçok gen çifti tarafından determine edilirler (Roberts ve Smith, 1982; Falconer ve Mackay, 1996). Başka bir ifadeyle, kantitatif karakterlerin kalıtımı poligeniktir (Kinghorn ve ark., 1994). Kantitatif karakterler sürekli (et, süt ve yapağı verim özellikleri) ve kesikli (döl verim ölçütleri) yani eşikli karakterler olmak üzere iki başlık altında toplanmaktadır (Hoeschele, 1998). Kantitatif karakterler arasından çevre etmenlerinden yüksek derecede etkilenenler eşikli karakterlerdir (Cemal ve ark., 1996). Ekonomik öneme sahip olan kantitatif karakterler üzerine poligen etkilerine ek olarak majör genlerin de etki ettiği tespit edilmiştir. Yani, poligenler içerisinde bazı genlerin tek gen etkilerinin diğerlerinden daha fazla olduğu ortaya konmuştur. Major genler, genel olarak bir çift allel tarafından determine edilir ve Mendel kurallarına göre kalıtılırlar. Klasik ıslah programlarında genetik ilerlemenin çok uzun zamanlar alması majör genlerin de kullanılmasıyla hız kazanmasına ve bir veya birkaç generasyon sonunda genetik ilerlemenin sağlanmasına olanak sağlayacaktır. (Kinghorn ve ark., 1994; Cemal, 1996; Karaca ve ark., 1996; Cemal ve Karaca, 2006). Major genlerden maksimum seviyede yararlanabilmek için bu genlerin etki düzeylerinin ortaya konması, söz konusu lokusta bireyin genotipinin bilinmesi ve çiftleşme planlarının uygun şekilde hazırlanması gerekmektedir (Cemal, 1996).

Endokrin sisteminin ana rolü, meme gelişimini ve fonksiyonunu hayvanın üreme durumuna ve süt üretimine göre senkronize etmektir. Canlılarda laktasyon dönemi başlıca mamogenez, laktogenez, galaktopoez olmak üzere üç evreden oluşmaktadır. Bu evrelerin her biri çok karmaşık hormonal mekanizmalar ile kontrol edilmektedir. Bu süreçte hormonlar üç farklı kategoride değerlendirilmektedir. Üreme hormonlarından olan östrojen (E), progesteron (P), plasental laktojen (PL), prolaktin (PRL) ve oksitosin seviyeleri üreme durumuna bağlı olarak değişmektedir. Bütün bu hormonlar meme bezi gelişimi üzerine doğrudan etki etmektedir. Metabolik hormonlar olan diğer bir grup hormon ise öncelikli olarak vücudun metabolik değişikliklere ve strese verdiği yanıtı koordine etmekten sorumludur. Bunlar arasında, büyüme hormonunun (GH) süt

kanallarının gelişiminde rol oynadığı (Hovey ve ark., 2002) ve süt sekresyonu için glukokortikoidler ve tiroid hormonlarına ihtiyaç duyulduğu bilinmektedir (Cowie ve ark., 1980). Genel olarak, bu metabolik hormonların sistemik seviyelerindeki değişiklikler ne meme bezindeki gelişimsel değişikliklerden ne de süt sentezinin doğrudan düzenlenmesinden sorumlu değildir. Bu hormonlar, üreme hormonlarına karşı memenin tepkisini değiştirebilir ve dolaylı olarak süt salınımını etkiler. Son olarak ise, ilgili organ tarafından sentezlenen ve salgılanan hormon tipleridir. Son zamanlarda meme bezi, büyüme hormonu (GH) (Mol ve ark., 2000), paratiroid hormon ilişkili peptid (PTHrP) (Lippuner ve ark., 1996), leptin (LEP) (Woodside ve ark., 2000) ve prolaktini (PRL) (Clevenger ve Plank, 1997) kendisinin sentezleyebildiği ve salgıladığı bir endokrin organ olarak kabul edilmektedir (Neville ve ark., 2002).

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda çiftlik hayvanları üzerinde süt verim özellikleri ile ilişkilendirilmiş birçok aday gen tanımlanmış olup seleksiyonda markör olarak kullanılmaktadır. Bu genlere GH, GHR, GHRHR, IGF1, PIT-1 (POU1F1, GHF1), PITX2, DGAT1, LEP, LEPR, PRL, PRLR, STAT5A, B-LG, IGF-IR, CSN1S1, CSN2, CSN3, MTHFR, ADFP, AGPAT6, BTN1A1, PRNP, FOLR örnek olarak verilebilir (Walawski ve Czarnik, 2003; Pagano ve ark., 2010; Psifidi ve ark., 2011; He ve ark., 2011; Jia ve ark., 2011; Qu ve ark., 2011; Heidari ve ark., 2012; He ve ark., 2012; Zhao ve ark., 2013; Trakovicka ve ark., 2013; Hadi ve ark., 2013; Daga ve ark., 2013; Li ve ark., 2014; Hou ve ark., 2014a; 2014b; 2015; Işık, 2016; Hill ve ark., 2016; Cardona ve ark., 2016; Kusza ve ark., 2016; Dettori ve ark., 2018; Luo ve ark., 2019).

Keçilerde süt verim özellikleri üzerinde etkisi olduğu düşünülen ve bu çalışmaya konu olan POU1F1, PRLR, β -LG ve GH genleri bugüne kadar farklı hayvan tür ve ırkları üzerinde birçok çalışmaya konu olmuştur. Üzerinde durulan bu genlerin süt verim özelliklerinin yanında büyüme, gelişme, üreme performansı ve kalite özellikleri gibi başka karakterleri de etkilediği bildirilmiştir (Ogren ve Talamantes, 1998; Stancekova ve ark., 1999; Folch ve ark., 2001; Van Rens ve Lende, 2002; Dybus ve ark., 2003; Kmiec ve Terman, 2006; Faria ve ark. 2006; Zhang ve ark., 2011; Yousefi ve ark., 2013a, 2013b; Wang ve ark., 2015; Garlov ve ark., 2017; Meira ve ark., 2019). Buradan yola çıkarak, bu çalışmaya dahil edilen gen bölgelerinin çalışılacak popülasyon üzerinde durulan karakterler bakımından markör olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

Kilis keçilerinin süt verim potansiyelinin yüksek olması sebebiyle üzerinde durulan özellik bakımından etkili genlerin ve buna bağlı olarak genotiplerin tanımlanması, hayvan ıslahında kullanılması hem generasyon aralığını kısaltması hem de uygulanacak seleksiyon programına entegre edilebilmesi açısından önem taşıtmaktadır. Diğer yandan, Kilis keçi popülasyonlarında anılan genler ile ilgili çalışmaya rastlanmamış olması nedeniyle de literatüre önemli katkı sağlayacaktır. Bu alışmada, Kilis keçilerinde süt verim özellikleri üzerinde etkili olan genlerin kullanım olanaklarını araştırmak üzere POU1F1, PRLR, β -LG, GH1 ve GH2 gen bölgelerinin incelenmesi, mevcut olan polimorfizmlerin tanımlanması ve genotipler ile süt verim özellikleri arasındaki ilişkinin ortaya konulması amaçlanmıştır.



2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. POU1F1 Geni

2.1.1. Transkripsiyon Faktörleri

Gen transkripsiyonunun düzenlenmesi hem dokuya özgü gen ekspresyonunu hem de spesifik uyaranlara karşı cevap olarak gen aktivasyonunun düzenlenmesi için esastır (Latchman, 1995a; 1995b). Bu nedenle, transkripsiyondan sonra bazı düzenleme durumları mevcut iken çoğu durumda düzenleme, hangi RNA'ların birincil RNA transkriptine kopyalanacağına karar vererek transkripsiyon seviyesinde gerçekleşmektedir. RNA splicing gibi gen ekspresyonunun kalan aşamaları otomatik olarak gerçekleşir ve karşılık gelen proteinin üretilmesine neden olur (Latchman, 1995a, 1997). Benzer transkripsiyon yapısı gösteren genlerin düzenleyici bölgelerinin incelenmesi, belirli bir düzenleme mekanizmasına sahip olan genler tarafından ortak olarak tutulan, ancak bu düzeni göstermeyen ve diğer genlerde bulunmayan kısa DNA dizilerinin varlığını ortaya koymuştur. Örneğin; transkripsiyonu indüklenen genler yüksek sıcaklığa maruz kalmaya cevaben, ısıyla indüklenebilen transkripsiyon göstermeyen genlerden yoksun olan ısı şoku elemanı (HSE, Heat Shock Element) olarak bilinen ortak bir düzenleyici içermektedir (Davidson ve ark., 1983). Benzer şekilde, transkripsiyonu glukokortikoid hormonuna maruz bırakmayla indüklenen genler, bu indüksiyon modelini göstermeyen genlerde olmayan ortak bir glukokortikoid tepki elemanı (GRE, Glucocorticoid Response Element) içermektedir. Bu kısa DNA sekansları, transkripsiyon üzerinde gözlenen etkiyi ortaya koyacak şekilde genin transkripsiyonunu pozitif veya negatif olarak düzenleyen ve transkripsiyon faktörleri olarak ta bilinen bu spesifik düzenleyici proteinlerin bağlanması ile etki etmektedir (Latchman, 1995b, 1997).

2.1.2. Transkripsiyon Faktörleri Mekanizması

Transkripsiyon faktörleri etkilerini öncelikle DNA'ya bağlanıp daha sonrasında ise transkripsiyonu pozitif veya negatif olarak etkileyerek ortaya koymaktadır. Çok sayıda farklı transkripsiyon faktörünün detaylı analizi sonucunda yapılan çalışmalar, molekülün spesifik bölgelerinin DNA'ya bağlanmadan sorumlu olduğu modüler bir yapıya sahip olduklarını ve diğer bölgelerin ise transkripsiyon üzerinde uyarıcı veya inhibe edici bir

etkisinin olduğunu göstermektedir. Farklı transkripsiyon faktörlerinin DNA bağlanma bölgeleri üzerine yapılan çalışmalar, DNA bağlanması oluşturabilen birkaç farklı yapısal eleman olduğunu ortaya çıkarmıştır (Harrison, 1991; Travers, 1993). Transkripsiyon faktörleri, genellikle DNA bağlanma alanları ve bu bağlanma alanlarının bir seçimi temelinde sınıflandırılmaktadırlar. DNA bağlanma alanlarını temel olarak sarmal-dönüş-sarmal (turn-helix-turn) motifini içinde barındıran homeobox transkripsiyon faktörleri (Kornberg, 1993); Sp transkripsiyon faktörü ailesinde bulunan iki sistein-iki histidin zinc finger (Rhodes ve Klug, 1993); steroid-tiroid hormon reseptörü ailesinde bulunan multi-sistein zinc finger (Parker, 1993) ve Ets domain (Sharrocks ve ark., 1997) olarak sınıflandırmak mümkündür. Temel DNA bağlanma alanını içeren faktörlerin sadece transkripsiyon faktörü dimerlerini oluşturduklarında DNA'ya bağlanabilmektedir. Dolayısıyla, bazik bağlanma alanını içeren faktörler içerdikleri dimerizasyon motifinin yapısına göre alt gruplara ayrılmaktadır. Dolayısıyla, transkripsiyon faktörlerinin bazıları dimerizasyona aracılık eden bir sarmal-ilmek- sarmal (turn-loop-turn) motifini içermektedir (Kageyama ve ark., 1991; Littlewood ve Evan, 1995). Buna karşılık, diğer temel DNA bağlayıcı alan içeren faktörler düzenli bir lörin tortusu dizisi içeren lörin fermuar (leucine zipper) motifi yoluyla dimerizasyona uğramaktadır (Kerppola ve Curran, 1995; Hurst, 1996). Böylece, çok çeşitli DNA bağlama alanları transkripsiyon faktörlerinin hedef genler üzerinde uygun DNA sekanslarına bağlanmasına olanak tanımaktadır (Latchman, 1997).

DNA bağlanma alanına ek olarak, transkripsiyon faktörü transkripsiyonun aktivasyonu için gerekli olan spesifik bölgeleri içermektedir. Bu bölgeler tamamen alakasız bir faktörün DNA bağlanma alanına bağlandığında transkripsiyonu uyarabildikleri belirlenmiştir (Mitchell ve Tjian, 1989). Yapılan çalışmalarda, DNA bağlanma alanlarında olduğu gibi sırasıyla asidik aminoasitler, glutamin veya prolin kalıntıları bakımından zengin olmaları temelinde tanımlanan bir dizi farklı aktivasyon alanları da tanımlanmıştır. Bu aktivasyon bölgelerinin, bazal transkripsiyonel kompleksin bileşenleri ile etkileşime girerek işlev gördüğü de bilinmektedir. Bu bileşen RNA polimeraz II kompleksidir ve gen promotöründe toplanan ve transkripsiyonun gerçekleşmesi için gerekli olan TFIIB ve TFIID gibi çeşitli transkripsiyon faktörlerini içermektedir. (Roeder, 1996; Nikolev ve Burley, 1997). Aktivasyon alanlarının ya doğrudan bu kompleksin spesifik bileşenleri ile etkileşime girdiği ya da dolaylı olarak

daha sonra bazal kompleksin kendisi ile etkileşime giren ortak aktivatör molekülleri ile etkileşime girdiği bildirilmiştir. Her ne olursa olsun, bu tür etkileşimler transkripsiyon faktörü kompleksi düzeneğinin hızını uyararak veya transkripsiyon aktivitesinin seviyesini uyararak artan transkripsiyonla sonuçlanmaktadır. Bu nedenle, DNA bağlanma alanı aracılığıyla, aracılık ettikleri uygun DNA bağlanma bölgesine bağlanmanın ardından, spesifik aktive edici transkripsiyon faktörlerinin aktivasyon alanları, transkripsiyonu uyarmak için bazal transkripsiyon kompleksi ile etkileşime girebilmektedir. Bu şekilde spesifik transkripsiyon faktörlerinin bağlanması gen transkripsiyonunu uyarmaktadır (Latchman, 1997).

Her ne kadar başlangıçta çoğu ökaryotik transkripsiyon faktörünün transkripsiyonu stimüle ederek etki ettiği düşünülse de artık spesifik genlerin transkripsiyonunu inhibe ederek çok çeşitli faktörlerin etki ettiği ve bu gibi inhibitör transkripsiyon faktörlerinin en azından uyarıcı faktörler kadar önemli olabileceği netlik kazanmıştır. (Herschbach ve Johnson, 1993; Hanna-Rose ve Hansen, 1996; Latchman, 1996). Bu inhibe edici transkripsiyon faktörlerinin en eski örneklerinin pozitif etki eden bir faktörün aktivitesine müdahale ederek etki gösterdiği, böylece transkripsiyon üzerindeki uyarıcı etkisini bloke ettiği bildirilmiştir. Bu durum, örneğin pozitif etki yapan faktörün DNA'ya bağlanma yerine negatif bağlanan faktör ile DNA'ya bağlanmasını önleyerek veya pozitif etki gösteren faktör ile olumsuz etki eden faktör arasında DNA bağlayıcı olmayan bir protein-protein kompleksi oluşturarak aşılabilmektedir. Diğer yandan, negatif olarak etki eden faktör harekete geçirme alanının aktivitesini söndürme olarak bilinen bir fenomeni bloke etmek için pozitif olarak hareket eden faktör ile etkileşime girerek hareket edebilmektedir. Bununla birlikte, artık pozitif olarak etkili bir faktör olmadığında bile transkripsiyonu doğrudan inhibe edebilen bir inhibitör transkripsiyon faktörü sınıfının olduğu açıkça görülmektedir. Böylece, bu faktörler aktive edici bir molekülün yokluğunda bile gözlemlenen ve aktivitesini azaltmak üzere bazal transkripsiyon kompleksi ile doğrudan veya dolaylı olarak etkileşime girerek işlev görüyor gibi görünen bazal transkripsiyon seviyesini azaltabilmektedir. Böylece, aktifleştirici moleküllerin antitezini oluştururlar ve etkilerinden sorumlu olan aktivasyon alanları gibi, başka bir molekülün DNA bağlanma alanına transfer edildiğinde işlev görebilecekleri tanımlanmış inhibitör alanlara sahip olmaktadır (Latchman, 1996). Dolayısıyla, transkripsiyonel aktivatörlerin ve transkripsiyonel baskılayıcıların belirli bir genin düzenleyici bölgesine

bağlanması arasındaki denge, herhangi bir özel durumda transkripsiyon oranını belirlemektedir. Bununla birlikte, belirli bir genin spesifik sinyallere cevap vermesi veya hücre tipine spesifik bir şekilde düzenlenmesi için, bu aktifleştirici ve baskılayıcı moleküller arasındaki dengenin farklı durumlarda değiştiği görülmektedir (Latchman, 1997).

2.1.3. POU1F1 Gen Yapısı ve İşlevi

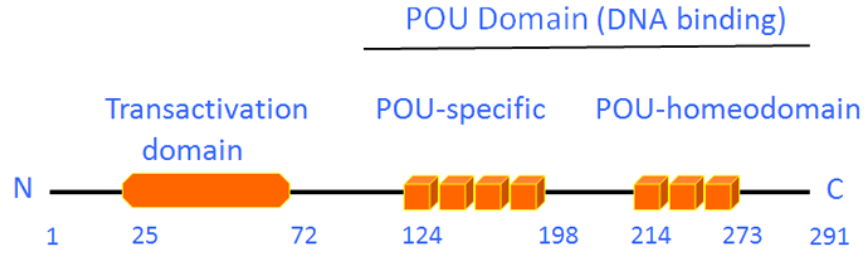
POU1F1 (POU class 1 homebox 1) geni, ön hipofiz bezinden salgılanmakta ve memelilerin gelişiminde önemli bir rol oynamaktadır. Daha önce PIT-1 (Pituitary-Specific Transcription Factor-1, Hipofiz-Spesifik Transkripsiyon Faktör-1) ve GHF-1 (Growth Hormone Factor-1, Büyüme Hormonu Faktörü-1) olarak adlandırılmış ancak günümüzde POU1F1 geni olarak literatüre geçmiştir (Bodner ve ark., 1988; Ingraham ve ark., 1988; Bastos ve ark., 2006). POU1F1 geni hipofizdeki çoklu genlerin transkripsiyonel düzenlenmesinde ve ön hipofiz bezi hücrelerinin hayatta kalması, farklılaşması ve çoğalması üzerinde önemli rol oynayan bir transkripsiyon faktörüdür (Bastos ve ark., 2006).

POU1F1 proteini ilk olarak büyüme hormonu (GH) ve prolaktin (PRL) genlerinin transkripsiyonel düzenlenmesi ile ilişkilendirilmiştir (Lefevre ve ark., 1987; Nelson ve ark., 1988; Tuggle ve Trenkle, 1996). Bununla birlikte, bu gen birçok memeli türünde tiroid uyarıcı hormonun β alt ünitesi (TSH β) (Li ve ark., 1990), POU1F1 geninin kendisi (Chen ve ark., 1990; McCormick ve ark., 1990) ve büyüme hormonu reseptörünün (GHRH-R) (Lin ve ark., 1992) promotor bölgelerine bağlanarak bu genler için düzenleyici olarak görev almaktadır (Cohen ve ark., 1996; Sun ve ark., 2002). Bütün bu gen aktivasyonu üzerindeki etkilerine ek olarak, POU1F1 geni somatotrop, laktotrop ve tirotrop hücrelerin farklılaşması, üremesi ve hayatta kalmaları için gereklidir (Ingraham ve ark., 1988; Li ve ark., 1990; Cohen ve ark., 1996; Bastos ve ark., 2006). Yapılan çalışmalarda POU1F1 ön hipofiz bezi hücrelerinden olan somatotrop, laktotrop ve tirotrop hücrelerde yüksek seviyelerde eksprese edilse de çok daha düşük seviyelerde plasenta, hematopoetik ve lenfoid dokular ile meme bezi hücrelerinde de eksprese edildiği bilinmektedir (Delhase ve ark., 1993; Bamberger ve ark., 1995; Gil-Puig ve ark., 2005). POU1F1 geninde meydana gelebilecek herhangi bir mutasyon GH, PRL ve TSH β genlerinin ekspresyonunun baskılanmasına veya hiç eksprese olamamasına neden

olabilmektedir (Li ve ark., 1990; Radovick ve ark., 1992; Andersen ve Rosenfeld, 2001; Cohen ve Radovick, 2002; Kelberman ve ark., 2009).

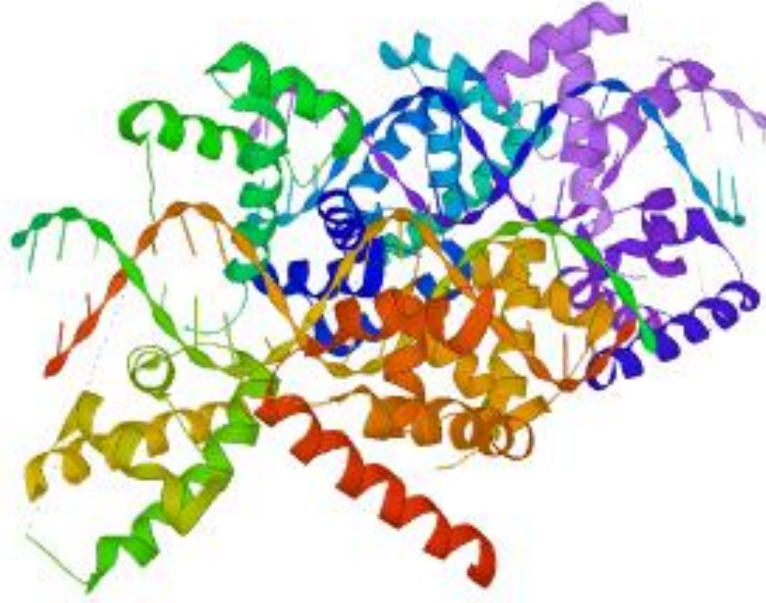
POU genleri, hücre farklılaşması ve gelişiminin düzenlenmesinde birçok rolü olduğu bilinen DNA binding transkripsiyon faktörlerini temsil etmektedir (Ryan ve Rosenfeld, 1997; Phillips ve Luisi, 2000). POU gen ailesi POU1, POU2, POU3, POU4, POU5 ve POU6 olmak üzere temel olarak altı sınıftan oluşmaktadır. Şu ana kadar yapılan çalışmalarda birçok türde özellikle omurgalılarda çoklu POU aileleri tanımlanmıştır (Gold ve ark., 2014).

Transkripsiyon faktörlerinden POU ailesinin bir üyesi olan POU1F1, daha önceleri memelilerde tespit edilen ve yüksek sekans benzerliği ile 150 aminoasit bölgesini paylaşan bu protein, daha önceleri OCT-1, OCT-2 ve UNC-86 olarak isimlendirilmiştir. POU genleri, süngerler ve insanlar kadar çeşitli hayvanlarda da tanımlanmış olsa da majör domainler içerisinde güçlü şekilde korunmuştur. POU1F1, DNA'da promotor bölgelerine bağlanmayı sağlayan ve korunmuş iki alt üniteden oluşmaktadır. POU1F1, N terminal POU-specific (POU-S) ve C terminal POU-homeodomain (POU-HD) olmak üzere iki ayrı bölgeye ayrılmış ve bu iki bölgeyi birbirine bağlayan değişken uzunluktaki bir bağlayıcı bölgeden oluşan modüler üçlü bir yapıya sahiptir. POU-S alt ünitesi 75 aminoasitten oluşur ve 4 α -helix yapı içermekle birlikte serin ve treonin aminoasitlerince zengin olan (Serin/Treonin Activation Domain) N terminali DNA bağlanma özgülüğü ve protein/protein interaksiyonuna katkıda bulunur. POU-HD alt ünitesi ise 60 aminoasit meydana getirir ve 3 α -helix yapısını içermektedir. Bu domainler içerisinde yer alan α -helix yapıları, DNA'nın fosfat omurgasıyla ya da direkt nükleotidlere hidrojen bağlanması yoluyla çoklu temas kurabilmektedir. Her iki domainde de üçüncü helix, DNA'nın ana oluşuna bağlanarak ve doğrudan temasın çoğunu nükleotidlerle yapma amacıyla tanıma helezonu olarak işlev görür. (Herr ve ark., 1988; Ingraham ve ark., 1988; Theill ve ark., 1989; Assa-Munt ve ark., 1993; Dekker ve ark., 1993; Jacobson ve ark., 1997; Remenyi ve ark., 2001; Jauch ve ark., 2010; Esch ve ark., 2013; Gold ve ark., 2014). Transkripsiyon faktörlerinin POU ailesinin bir üyesi olan bu gen homeotik proteinler gibi proteinlerin üst familyası olan helix-turn-helix (HTH) yapısındadır (Mangalam ve ark., 1989). POU1F1 proteini domain yapısı Şekil 2.1.'de sunulmuştur (Anonim, 2019b).



Şekil 2.1. POU1F1 proteini domain yapısı

POU1F1 proteini, açık okuma çerçevesi (ORF, Open Reading Frame) 124-198 aminoasitler arasında olup POU-S alt üniteyi, 214-273 aminoasitleri arasında kalan kısım ise POU-HD alt ünitesini içermekle birlikte toplamda 873 nükleotid ve 291 aminoasitten oluşmaktadır. POU class1 homeobox1 proteinin üç boyutlu yapısı Şekil 2.2.'de gösterilmiştir (OMIM, 2019).



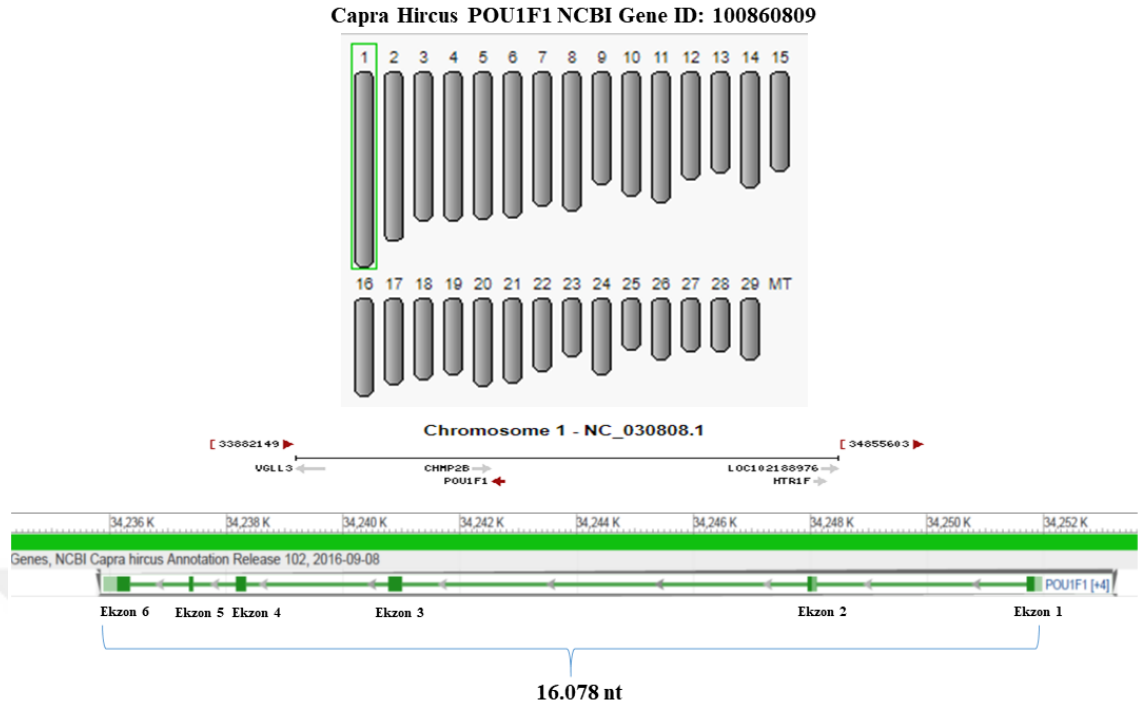
Şekil 2.2. POU1F1 proteini üç boyutlu yapısı

Bu güne kadar yapılan gen ekspresyon çalışmalarında hipofiz bezinden POU1F1 geni cDNA'sı sığır (Bodner ve ark., 1988), rat (Bodner ve ark., 1988; Ingraham ve ark., 1988), fare (Li ve ark., 1990), insan (Tatsumi ve ark., 1992), domuz (Tuggle ve ark., 1993), maymun (Schanke ve ark., 1997), koyun (Thomas ve ark., 2000), köpek (Lantingavan Leuven ve ark., 2000), hindi (Wong ve ark., 1992), tavuk (Tanaka ve ark., 1999) ve bazı balık çeşitlerinden (Ono and Takayama, 1992; Yamada ve ark., 1993; Majumdar ve

ark., 1996; Lorens ve ark., 1996; Martinez-Barbera ve ark., 1997; Chiu ve ark., 2002; Nica ve ark., 2004) elde edilmiştir.

POU1F1 geninin farklı çiftlik hayvanı türlerinde farklı verim özellikleri için bugüne kadar yapılan birçok çalışma mevcuttur. Yapılan çalışmalarda aşağıda literatür özeti verilecek olan süt verimi üzerine etkilerinin yanı sıra keçilerde kaşmir verimi, kirli gömlek ağırlığı, kıl uzunluğu (Lan ve ark., 2009a; 2009b), vücut uzunluğu, göğüs çevresi, göğüs genişliği, sağrı genişliği, günlük canlı ağırlık artışı (Xu ve ark., 2010; Jafari ve ark., 2014; Ma ve ark., 2017), döl verimi, doğum tipi, büyüme ve gelişme özellikleri (Feng ve ark., 2012; Zhu ve ark., 2019); koyunlarda yapağı lif çapı (Zeng ve ark., 2011), süttten kesim ağırlığı (Sadeghi ve ark., 2014; Sarghale ve ark., 2014); sığırlarda vücut kompozisyonu (Renaville ve ark., 1997), bel kalınlığı (Stasio ve ark., 2002), doğum ağırlığı ve ergin canlı ağırlık, vücut uzunluğu, göğüs çevresi (Xue ve ark., 2006), cidago yüksekliği (Zhang ve ark., 2009), kabuk yağı kalınlığı (Han ve ark., 2010), dölllenme ve embriyolarda yaşama gücü (Khatib ve ark., 2009) arasında ilişki bulunurken, büyüme ve karkas özellikleri (Dybus ve ark., 2003; Zhao ve ark., 2004), doğum ağırlığı, canlı ağırlık, günlük canlı ağırlık artışı, vücut yüksekliği, vücut uzunluğu, göğüs çevresi (Pan ve ark., 2008a, 2008b), karkas ağırlığı, karkas verimi, göz kası alanı, mermerleşme, et ve yağ rengi (Han ve ark., 2010), döl verimi (Öner ve ark., 2017) ile arasında herhangi bir ilişki bulunamamıştır. Domuzlarda ise kabuk yağı kalınlığı, karkas yağ içeriği, canlı ağırlık ve günlük ortalama canlı ağırlık artışı, vücut uzunluğu (Stancekova ve ark., 1999; Bidanel ve ark., 2001; Song ve ark., 2005; Getmantseva ve ark., 2017); kanatlılarda erken gelişme özelliği (Jiang ve ark., 2004), canlı ağırlık, karkas ağırlığı, göğüs kası ağırlığı, (Xu ve ark., 2012), günlük canlı ağırlık artışı (Manjula ve ark., 2018); tavşanlarda et kalitesi, biceps femoris kas kütlesi ile longissimus dorsi ve biceps femoris kas içi yağ içeriği (Wang ve ark., 2015) ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Bunlarla birlikte çiftlik hayvanları dışında yapılan çalışmalarda POU1F1 mutasyonları farelerde ve insanlarda cüceliğe sebep olduğu ortaya konmuştur (Li ve ark., 1990; Pfaffle ve ark., 1992; Reynaud ve ark., 2004).

POU1F1 geni sitogenetik lokasyonu sığır, koyun ve keçilerde 1q21–22 kromozom üzerinde yer almaktadır (Woollard ve ark., 2000). POU1F1 geni kromozom yeri ve gen yapısı Şekil 2.3.'te sunulmuştur.



Şekil 2.3. POU1F1 geni kromozom yeri ve gen yapısı

Keçi POU1F1 geninin nükleotid dizisinin NCBI (Gene ID: 100860809) veri bankasında 16.078 nükleotid, altı ekzon ve beş introndan oluştuğu bildirilmiştir. POU1F1 geni NCBI veri bankasında NC_030808.1 nolu erişim numarası ile 34.235.896 ve 34.251.973. nükleotidler arasında yer almakta ve ekzon 1, 236-446 bç; ekzon 2, 1.467-1.527 bç; ekzon 3, 2.277-2.441 bç; ekzon 4, 4.882-5.106 bç; ekzon 5, 12.068-12.139 bç ve ekzon 6 ise 15.815-15.956 baz çiftleri arasında yer almaktadır.

2.1.4. POU1F1 Geninin Süt Verim Özellikleri Üzerine Etkisi

Renaville ve ark. (1997), 89 baş İtalyan Siyah Alaca boğaları üzerinde yaptıkları çalışmada PIT-1/HinfI enzimi kullanarak PCR-RFLP yöntemi ile intron 5 ve ekzon 6 kısımlarını içeren 451 bç uzunluğundaki bölge incelenmiş ve popülasyonda A ve B allel frekanslarını sırasıyla %18.8 ve %81.2; AA, AB ve BB genotip frekanslarını ise yine aynı sıra ile %2.2, %31.5, %66.3 olarak tespit etmişlerdir. Popülasyonda kullanılan boğaların kızlarının süt verim özellikleri sabit ve karışık modelde değerlendirilmiştir. REML (Kısıtlanmış en çok olabilirlik) yönteminin kullanıldığı parametre tahminlerinde A alleleline sahip boğaların kızlarının daha fazla süt ($+ 73.6 \pm 44.6$ kg; $P < 0.01$) ve protein

verimi ($+ 2.93 \pm 1.45$ kg; $P < 0.05$) ile ilişkili olduklarını ancak süt yağı ($- 0.038 \pm 0.018$ %; $P < 0.01$) açısından A alleli ile aralarında negatif bir ilişki olduğunu bildirmişlerdir.

Parmentier ve ark. (2001), PIT-1 polimorfizmini incelemek üzere 1100 baş Holştayn boğası kullanmış ve kızlarının süt verimlerini ise karışık modelde değerlendirilmiştir. A ve B allellere ait frekanslar sırasıyla %53 ve %47 olarak tespit edilmiştir. A alleleline sahip bireylerin kızlarının süt verimi ($+ 46.3$ kg), protein verimi ($+ 1.9$ kg) ve yağ verimi ($+ 1.5$ kg) ile aralarında pozitif bir ilişki olduğunu bildirmişlerdir.

Mattos ve ark. (2004), 40 baş Gry boğaların kızlarının süt verim performanslarının değerlendirildiği çalışmada PIT-1/Hinf1 (+/-) kesim enzimi kullanılarak süt ve yağ verimi tahmin edilmeye çalışılmıştır. PIT-1 genine ait Hinf1 (-) allel frekansı 0.05 olarak tespit edilmiştir. Hinf1 (-/-) genotipinin düşük allel frekansı nedeniyle gözlenemediği ancak Hinf1 (+/-) alleleline sahip babaların kızlarının süt yağı veriminin Hinf1 (+/+) alleleline sahip olanlara göre daha üstün olduğunu bildirmişlerdir ($P < 0.05$).

Lan ve ark. (2007a), Çin'de yetiştirilen 9 farklı yerli keçi ırkı popülasyonlarında ekzon 6, intron 5'in bir kısmı ve 3' UTR bölgesini içeren 450 bp uzunluğundaki bölgede POU1F1/DdeI polimorfizmini araştırmışlardır. POU1F1 geninin ekzon 6 bölgesini içeren lokusta PCR-SSCP yöntemi ve sekanslama yaparak dört mutasyon belirlemişlerdir. Sekanslama sonucunda elde edilen DQ826397:g.102T>G mutasyonunu sessiz (p.S241S) mutasyon olarak adlandırmışlardır [241 Ser (TCT)>Ser (TCG)]. T ile karakterize edilen alleli POU1F1-D₁, G ile karakterize edilen alleli ise POU1F1-D₂ olarak tanımlamışlardır. D₁ allel frekansının kullanılan 9 farklı ırkta 0.600 ve 1.000 arasında değiştiğini gözlemlemişlerdir. D₁D₁ ve D₁D₂ genotiplerine sahip keçilerin süt verimleri sırası ile 574.12, 528.46 kg olduğu tespit edilmiş ve bu genotiplerin anılan özellik üzerine etkisinin istatistiki olarak önemli olduğu bildirilmiştir ($P < 0.05$).

Lan ve ark. (2007b), Çin'de yetiştirilen yerli keçi ırkı popülasyonlarında ekzon 4, intron 4 ve ekzon 5 bölgelerini içeren 1000 bp uzunluğundaki P1 bölgesi, intron 5 bölgesini içeren 355 bp uzunluğundaki P2 bölgesi ve ekzon 6 ve flanking bölgesini içeren 450 bp uzunluğundaki P3 bölgesi olmak üzere POU1F1 genine ait üç farklı bölgeyi incelemişlerdir. Çalışma, Inner Mongolia White Cashmere (IMWC), Xinong Saanen (XS), Laoshan (LS), Guanzhong (GZ), Guizhou Black (GB), Matou (MT), Banjiao (BJ), Guizhou White (GW) ve Leizhou (LZ) ırklarında yürütülmüştür. 450 bp içeren bölgede POU1F1/AluI lokusunda popülasyonda T allel varlığının en yaygın allel olduğu

gözlemlenmiş ve C allel frekansının 0.00 ile 0.523 arasında değiştiğini tespit etmişlerdir. CC genotipine ise 9 yerli ırkta toplam 801 baş hayvan içerisinde sadece 9 keçi rastlamışlardır. POU1F1/AluI lokusunda TT ve TC genotipine sahip hayvanların süt verimleri sırası ile 509.04, 593.04 kg olduğu tespit edilmiş ve bu genotipler ile anılan özellik arasında istatistiki olarak önemli bir ilişki olduğu bildirilmiştir ($P<0.05$).

Zakizadeh ve ark. (2007), İran yerli sığırları ve Holştayn popülasyonlarında HinfI kesim enzimi kullanarak PCR-RFLP yöntemi ile POU1F1 genine ait intron 5 ve ekzon 6 bölgesini içeren 451 bp uzunluğundaki bölgeyi incelemiş ve HinfI (+) ve HinfI (-) allel frekanslarını Mazandarani, Sarabi, Golpaygani ve Holştayn ırkları için sırası ile 0.63, 0.37; 0.73, 0.27; 0.66, 0.34 ve 0.79, 0.21 olarak tespit etmişlerdir. Çalışmada, süt verimi ile POU1F1 polimorfizmi arasında bir ilişki bulunamadığını bildirmişlerdir.

Huang ve ark. (2008), Holştayn popülasyonlarında POU1F1 geninin ekzon 1, ekzon 2, ekzon 3, ekzon 4, ekzon 5 ve ekzon 6 bölgelerini içeren 4730 bp uzunluğundaki alanı sekanslamışlardır. POU1F1 geninin ekzon 3 bölgesinde prolini histidine çeviren (c.577A>C) bir SNP tanımlamışlardır. Ekzon 2 bölgesindeki c.545G>A SNP bölgesini kapsayan 771 bp uzunluğundaki bölge çoğaltılmış TaqI enzimi kullanılarak PCR-RFLP yöntemi ile genotipleme sonunda c.545G (433, 254, 84 bp) ve c.545A (433, 338 bp) olmak üzere iki allel gözlemlenmiştir. Ekzon 3 bölgesinde ise c.557C>A SNP bölgesini kapsayan 234 bp uzunluğundaki bölge çoğaltılmış, StuI kesim enzimi kullanılarak yapılan genotipleme sonunda ise c.577C (197, 37 bp) ve c.577A (234 bp) olmak üzere iki allel tespit edilmiştir. c.577C>A nükleotid değişiminde A allelinin süt verimi üzerine istatistiki açıdan önemli ($P=0.027$) etkisinin olduğu sonucuna varılmıştır. c.577CC ve c.577AC genotipleri ile karşılaştırıldığında ise c.577AA genotipinin ekonomik ömür üzerine pozitif etkisinin olduğu bildirilmiştir.

Lan ve ark. (2009c), Çin’de yetiştirilen dört farklı keçi ırkında (Shaanbei White Cashmere, Boer, Xuhuai, Haimen) ekzon 6 ve 3' flanking bölgesini içeren 450 bp uzunluğundaki POU1F1/AluI lokusunu incelemişlerdir. TT, TC ve CC genotip frekanslarını sırası ile Shaanbei White Cashmere ırkı için 0.718, 0.282 ve 0.0; Boer ırkı için 0.952, 0.048 ve 0.0; Xuhuai ırkı için 0.572, 0.371 ve 0.057, Haimen ırkı için ise 0.820, 0.131 ve 0.049 olarak tespit etmişlerdir. En yüksek frekansa sahip T allelinin Shaanbei White Cashmere, Boer, Xuhuai, Haimen ırklarında sırası ile 0.859, 0.976, 0.757 ve 0.885 olarak saptamışlardır. Ho, He, Ne ve PIC değerleri POU1F1/AluI lokusunda

sırasıyla Shaanbei White Cashmere ırkı için 0.7580, 0.2420, 1.3193, 0.2127; Boer ırkı için 0.9540, 0.0460, 1.0482, 0.0449; Xuhuai ırkı için 0.6322, 0.3678, 1.5817, 0.3001 ve Haimen ırkı için ise 0.7649, 0.2351, 1.307, 0.2075 olduğunu hesaplamışlardır. Boer keçilerinde en yüksek Ho ve en düşük PIC değeri gözlemlenirken, Xuhuai ırkı keçilerde en düşük Ho ve en yüksek PIC değeri gözlemlediklerini bildirmişlerdir.

Sumantri ve ark. (2009), Endonezya'nın Bogor şehrinde yetiştirilen Jonggol ve Garut ırkı yerli koyun ırklarında 637 bp uzunluğundaki PIT1/HinfI lokusunu PCR-RFLP yöntemi ile incelemişler ve Jonggol ırkı koyunlarda bu bölgenin polimorfik olduğunu ancak Garut ırkı koyunlarda ise monomorfik olduğunu gözlemlemişlerdir. A ve B allel frekanslarını sırası ile 0.806 ve 0.194 olduğunu ve bu lokusun Jonggol ırkı koyunlarda süt verimi üzerine önemli bir etkisinin olmadığını bildirmişlerdir.

Edriss ve ark. (2009), İran'da yetiştirilen Holştayn sığırlarında A ve B allel frekanslarını sırasıyla 0.256 ve 0.744; AA, AB ve BB genotip frekanslarını ise 0.031, 0.450 ve 0.519 olarak tespit etmişlerdir. Laktasyon süresi ve sütteki yağ içeriği bakımından AA ve AB genotipine sahip hayvanların BB genotipine göre daha yüksek verime sahip olduğunu bildirmişlerdir ($P<0.05$).

Yan ve ark. (2011), Çin'de yetiştirilen sekiz farklı sığır ırkında intron 5 ve ekzon 6 bölgesine ait 451 bp uzunluğundaki POU1F1/HinfI lokusunu PCR-RFLP yöntemi ile incelemişler ve B allel frekansının 0.535 ile 0.868 arasında değiştiğini saptamışlardır. İncelenen ırklar arasında Holştayn popülasyonunda POU1F1/HinfI lokusunun süt verimi ve kompozisyonu üzerine istatistiki olarak önemli bir ilişki bulunmazken, AB genotipinin BB genotipine sahip hayvanlara göre süt protein oranının yüksek olduğunu bildirilmişlerdir ($P<0.05$).

Mura ve ark. (2012), Sardunya adasında yetiştirilen Sarda ırkı koyunlarda POU1F1 gen bölgesinde 121 C>T (intron 4, 5' UTR) ve 249 G>A (ekzon 6, 3' UTR bölgesi) SNP'lerini tespit etmişlerdir. Sarda koyunlarında POU1F1 geninin süt verimi ile ilişkisi istatistiki olarak önemli bulunurken ($P<0.01$), süt yağı, protein ve laktoz oranı üzerine herhangi bir etkisinin olmadığını bildirmişlerdir.

Heidari ve ark. (2012), Holştayn sığırlarında intron 5, ekzon 5 ve ekzon 6 bölgelerini içeren 1355 bp uzunluğundaki POU1F1/HinfI lokusunu PCR-RFLP yöntemi ile incelemişler ve B allelinin 0.830 olduğunu tespit etmişlerdir. Bu lokusun sığırlarda süt verimi üzerine etkisinin istatistiki olarak önemli ($P<0.05$) olduğunu ve AB genotipine

sahip hayvanların BB genotipine göre daha fazla süt verimine sahip olduklarını bildirmişlerdir.

Daga ve ark. (2013), Sarda keçi popülasyonunda POU1F1 gen bölgesinde 16 farklı SNP tespit etmişlerdir. Bu SNP'leri 61 G>C (ekzon 1), 108 G>A (ekzon 1), 42 C>T (ekzon 3), 92 C>T (ekzon 3), 110 A>G (ekzon 4), 34 G>A (ekzon 5, Arg213Lys), IVS4 641 G>A, IVS4 643 A>C, IVS4 659 G>A, IVS4 677 A>C, IVS4 G699Del, IVS4 709 C>G, 17 G>A (ekzon 6, Arg228Ser), 58 G>T (ekzon 6), 172 T>C (ekzon 6), 110 T>C (3' UTR) olarak belirlemişlerdir. Ekzon 6 bölgesinde MlyI kesim enzimi kullanılarak yapılan genotiplemede 17. pozisyonda TT genotip frekansı %3.1 olup süt verimi üzerine istatistiki olarak önemli etkisinin olduğunu, GT genotip frekansının ise %25.6 olup sütteki yağ içeriği üzerine önemli etkisinin olduğunu saptamışlardır ($P<0.01$). Yine ekzon 6'da DdeI kesim enzimi kullanılarak yapılan genotiplemede 58. pozisyonunda TT genotip frekansının %3.9 olup sütteki yağ ($P<0.01$) ve protein ($P<0.05$) oranı üzerine istatistiki olarak önemli etkisinin olduğunu bildirmişlerdir.

Lan ve ark. (2013), Çin'de Guanzhong ırkı keçilerde 230 bç uzunluğundaki bölgede PIT1X1/MspI lokusunu PCR-RFLP yöntemi ile incelemişlerdir. A ve G allel frekanslarını sırasıyla 0.230 ve 0.770; AA, GA ve GG genotip frekanslarını ise 0.158, 0.144, 0.698 olarak tespit etmişlerdir. Ho, He, Ne ve PIC değerlerini sırasıyla 0.646, 0.355, 1.549 ve 0.292 olduğunu ve popülasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olmadığını gözlemlemişlerdir ($P<0.01$). İncelenen lokusta intron 1'de 41. pozisyonunda SNP (g.201G>A) saptamışlar ve sabah, öğleden sonra sağım ve ortalama süt yağı içeriği (%) bakımından istatistiki açıdan önemli bir ilişki olduğunu belirlemişlerdir ($P=0.045$, $P=0.049$, $P=0.050$). Bununla birlikte GA genotipine sahip hayvanların AA genotipine göre sütteki kuru madde içeriğinin daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir ($P=0.029$).

Sharma ve ark. (2013), Barbari ırkı keçilerde POU1F1 geni 450 bç uzunluğundaki altıncı ekzonu ve 3' flanking bölgesini PCR-RFLP yöntemiyle PstI kesim enzimi kullanarak incelemişlerdir. POU1F1/PstI lokusunda T allel frekansını 1.0 olarak gözlemlemiş ve C alleleline rastlamamışlardır. Dolayısıyla popülasyonda incelenen lokusun monomorfik olduğunu ve bu bölgenin verim ile ilişkilendirilemediğini bildirmişlerdir.

Aytekin ve Boztepe (2013), Brown Swiss sığır popülasyonunda intron 5 ve ekzon 6 bölgelerini içeren 451 bç uzunluğundaki PIT1/HinfI lokusunu PCR-RFLP yöntemi ile

incelemiş A ve B allel frekanslarını sırasıyla 0.374 ve 0.626; AA, AB ve BB genotip frekanslarını ise 0.12, 0.51 ve 0.37 olduğunu tespit etmişlerdir. İncelenen lokusun Brown Swiss sığır ırkında süt verimi ve süt kompozisyonu üzerine istatistiki olarak önemli bir etkisinin olmadığını bildirmişlerdir.

Özmen ve ark. (2014), Sakız, İvesi ve Akkaraman koyun ırklarında ekzon 6 ve 3' flanking bölgesini içeren 469 bp uzunluğundaki bölgede PCR-RFLP yöntemi ile POU1F1/AluI ve POU1F1/DdeI polimorfizmlerini incelemişlerdir. Çalışmada Sakız koyun ırkı için AluI lokusunda biallelik polimorfizm gözlenmiş ve popülasyonda TT ile CC genotiplerinin varlığı tespit edilmiştir. İvesi ve Akkaraman ırklarında ise AluI lokusunda polimorfizm gözlenmemiştir. TT ve CC genotip frekanslarını ise sırasıyla 0.64 ve 0.36 olduğunu hesaplamışlardır. T allel frekansını Sakız, İvesi ve Akkaraman ırklarında sırasıyla 0.64, 0, 0; C alleli için ise yine aynı sıra ile 0.36, 1, 1 olduğunu saptamışlardır. Bununla birlikte DdeI polimorfizmi çalışılan üç koyun popülasyonunda da görülmemiştir. Sakız koyunlarında POU1F1/AluI lokusunun süt verimi ($P<0.001$), yağ miktarı ($P<0.001$) ve laktoz oranı ($P<0.05$) üzerine istatistiki olarak önemli etkisinin olduğunu ancak protein miktarı üzerine herhangi bir etkisinin olmadığını tespit etmişlerdir.

Khaizaran ve Al-Razem (2014), Filistin'de yetiştirilen Holştayn sığırlarında 451 bp uzunluğundaki PIT1/HinfI lokusunu PCR-RFLP yöntemi ile incelemişlerdir. Popülasyonda A allel frekansının 0.6831 olduğunu ve incelenen lokusun süt verimi üzerine önemli etkisinin olduğunu tespit etmişlerdir ($P<0.05$). Popülasyonda AA, AB ve BB genotipine sahip hayvanlar için laktasyon süt verimlerinin sırasıyla 11000, 9000 ve 8000 l olduğunu bildirmişlerdir.

Trakovicka ve ark. (2014), Holştayn sığırlarında ekzon 6 bölgesini içeren 260 bp uzunluğundaki PIT1/HinfI lokusunu PCR-RFLP yöntemi ile incelemiş ve B allel frekansını 0.81; AA, AB ve BB genotip frekanslarını ise sırasıyla 0.05, 0.26 ve 0.69 olarak tespit etmişlerdir. İncelenen lokusun Holştayn sığırlarında süt, protein ve yağ verimi üzerine önemli bir etkisinin olmadığını gözlemlemişlerdir.

Hoseinzadeh ve ark. (2015), İran'da yetiştirilen Holştayn sığırlarında POU1F1/HinfI lokusunu incelemişlerdir. Çalışmada A ve B allel frekansını sırasıyla 0.26, 0.74; AA, AB ve BB genotip frekanslarını ise 0.06, 0.40 ve 0.54 olarak tespit etmişlerdir. Çalışılan popülasyonda POU1F1/HinfI lokusu ile süt protein yüzdesi arasında istatistiki

açından önemli bir ilişki olduğunu gözlemlemişlerdir. Genotipler kendi aralarında kıyaslandıklarında AB genotipine sahip hayvanların diğer genotiplere göre yüksek miktarda süt proteinine sahip olduğunu bildirmişlerdir ($P<0.01$).

Işık (2016), Saanen ırkı keçilerde iki farklı sürüde (Bornova ve Manisa) POU1F1 geninde ekzon 6 ve 3' flanking bölgesindeki polimorfizmi AluI ve PstI kesim enzimlerini kullanarak PCR-RFLP yöntemi ile incelemiştir. AluI ve PstI lokusları bakımından T allel frekansını sırasıyla 0.70 ve 0.80; TT, TC ve CC genotip frekanslarının ise yine aynı sıra ile AluI için %54.6, %31.5, %13.9 ve PstI için ise %64.8, %31.5, %3.7 olduğunu saptamıştır. POU1F1/AluI ve POU1F1/PstI lokuslarının Hardy-Weinberg dengesinde olduğunu bildirmiştir. POU1F1/AluI lokusu için TT, TC ve CC genotiplerine ait laktasyon süt verimlerini sırasıyla 687.85, 784.58, 786.07 kg olarak tespit etmiştir. POU1F1/AluI lokusu ile laktasyon süt verimi ile arasında istatistiki olarak önemli ilişki bulmuş ($P<0.05$), TC ve CC genotipine sahip hayvanların TT genotipine göre daha yüksek performans sergilediğini gözlemlemiştir. POU1F1/PstI lokusunun ise süt verimi üzerine herhangi bir etkisinin olmadığını bildirmiştir.

Dagong ve ark. (2016), Endonezya'da yetiştirilen yerli keçi ırklarında PIT1/PstI lokusunu PCR-RFLP yöntemi ile incelemişlerdir. Popülasyonda T ve C allel frekanslarını sırasıyla 0.76, 0.24; TT, TC ve CC genotip frekanslarını ise 0.53, 0.47 ve 0 olduğunu tespit etmişlerdir.

Zhou ve ark. (2016), Çin'de yetiştirilen Guanzhong ırkı keçilerde POU1F1/PstI, POU1F1/DdeI ve POU1F1/AluI lokuslarını incelemişlerdir. POU1F1/PstI lokusunda T allel frekansı 0.708, POU1F1/DdeI lokusunda D₁ allel frekansı 0.848 ve POU1F1/AluI lokusunda ise T allel frekansının 0.977 olduğu gözlemlenmiştir. POU1F1/PstI, POU1F1/DdeI lokuslarının süt içeriği ile arasında bir ilişki bulunamazken POU1F1/AluI lokusunun sabah, öğleden sonraki sağımda ve ortalama olarak sütteki yağ oranı ve asitliği ile arasında istatistiki açıdan önemli bir ilişki olduğunu tespit etmişlerdir ($P<0.05$). Çalışmada POU1F1/AluI lokusunda TT genotipine sahip hayvanların incelenen özellikler bakımından en iyi performansa sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Li ve ark. (2016), Çin'de yetiştirilen 15 farklı yerli keçi ırkı popülasyonunda yürüttükleri çalışmada ekzon 6 ve 3' flanking bölgesinde POU1F1/DdeI lokusunu PCR-RFLP yöntemi ile incelemişlerdir. Populasyonda iki allel (D₁, D₂) ve üç genotip (D₁D₁, D₁D₂ ve D₂D₂) belirlemişlerdir. Çalışmada D₁ allel frekansının 0.550 ile 0.790 arasında

değiştiğini, D₁D₁ genotip frekansının 15 farklı ırk popülasyonunda 0.200 ile 1.00 arasında değiştiğini ve popülasyonlarda en yaygın genotip olduğunu tespit etmişlerdir. İkinci sırada yaygın olarak görülen D₁D₂ genotip frekansını ise 0.371 olarak gözlemlemişlerdir. Çalışma sonucunda POU1F1/DdeI lokusunun genetik çeşitlilik açısından geniş varyasyona sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Al-Khuzai ve Al-Anbari (2018), Irak'ta yetiştirilen İvesi koyunlarında 508 bç uzunluğundaki POU1F1/EcoRI lokusunu incelemişlerdir. Popülasyonda MN genotipine rastlanmamış olup MM ve NN genotip frekanslarını sırasıyla %58.33 ve %41.67 olduğunu tespit etmişlerdir. MM ve NN genotipine sahip hayvanlarda süt verimi sırasıyla 71.59 kg ve 73.52 kg, laktasyon süresini ise 109.74 ve 109.14 gün olarak belirlenmiş ve genotipler ile anılan özellikler arasında istatistiki olarak bir ilişki bulunmadığını bildirmişlerdir.

Thuy ve ark. (2018), Holştayn sığırlarında PIT-1/TaqI, PIT-1/HinfI lokuslarını PCR-RFLP yöntemi ile incelemiştir. PIT-1/TaqI lokusunda A ve B allel frekansları sırasıyla 0.696 ve 0.304; AA, AB ve BB genotip frekansları ise yine aynı sıra ile 0.576, 0.240 ve 0.186 olduğunu tespit etmişlerdir. İncelenen lokusta AA, AB ve BB genotiplerine ait günlük süt verimlerinin 20.187 kg, 17.848 kg ve 16.982 kg olduğunu gözlemlemişlerdir. Genotipler ile günlük süt verimleri arasında istatistiki olarak önemli bir ilişki olduğunu bildirmişlerdir (P<0.05). Pit1/HinfI lokusunda T ve G allel frekansları 0.216 ve 0.786; TT, TG ve GG genotip frekanslarının ise 0.080, 0.272 ve 0.648 olduğunu gözlemlemişler ancak genotipler ile süt verimi arasında herhangi bir ilişki olmadığını bildirmişlerdir.

Özdemir ve ark. (2018), Holştayn sığırlarında PIT1/HinfI lokusunu PCR-RFLP yöntemi ile incelemişlerdir. Popülasyonda AA, AB ve BB genotip frekanslarını sırasıyla 0.04, 0.31 ve 0.65 olduğunu tespit etmişlerdir. İncelenen lokusun gerçek laktasyon süt verimi, 305 günlük süt verimi, günlük süt verimi, pik döneminde kalma süresi ve laktasyon süresi üzerine önemli bir etkisinin olmadığını bildirmişlerdir.

2.2. PRL ve PRLR Geni

2.2.1. PRL Gen Yapısı ve İşlevi

Genetik, yapısal, bağlayıcı ve işlevsel özellikleri ile prolaktin, PRL/GH/PL gen ailesinin bir üyesidir (Helix bundle protein hormone) (Boulay ve Paul, 1992; Horseman ve Yu-Lee, 1994). Prolaktin geni, büyüme hormonu ve plasental laktojen kodlayan genlerin gen duplikasyonu sonucu ortak bir atadan evrilmiştir (Niall ve ark., 1971). PRL geni tanımlandıktan otuz yıl sonra koyun PRL geninin aminoasit dizisi (biyolojik özelliklerine bağlı olarak laktojenik hormon veya luteotropik hormon olarak da adlandırılır) belirlenmiş ve 199 aminoasitlik bir protein olduğu bildirilmiştir (Li ve ark., 1969). 1970'lerin sonunda, klonlama teknolojisinde yaşanan hızlı gelişmeler sonucu PRL cDNA'ların nükleotit sekansının çeşitli türlerin tanımlanmasına da olanak sağlamıştır (Nicoll ve ark., 1986). Daha önce yapılan çalışmalarda da beklendiği üzere, PRL'nin birincil yapısı, hipofiz kökenli GH'un ve memeli plasenta tarafından salgılanan PL'inkiyle yakından ilişkili olduğu görülmüştür (Nicoll ve ark., 1986; Niall ve ark., 1971; Miller ve Eberhardt, 1983). Günümüzde, bu üç hormonun genetik (Niall ve ark., 1971; Miller ve Eberhardt, 1983), yapısal (Nicoll ve ark., 1986; Goffin ve ark., 1996), bağlanma (Goffin ve ark., 1996) ve fonksiyonel (Nicoll ve ark., 1986; Goffin ve ark., 1996) çalışmaları ve ayrıca yakın zamanda tanımlanmış olan somatolaktin ve PRL ile ilgili proteinlerin hepsinin eşsiz bir protein ailesine ait olduğunu göstermektedir (Bole-Feysot ve ark., 1998).

2.2.1.1. PRL Geni Birincil Yapısı

Yaklaşık 400 milyon yıl öce prolaktin ve büyüme hormonlarının soylarının ayrıştığı düşünülmektedir (Cooke ve ark., 1980; 1981). İnsan genomunda PRL geni 6. kromozom üzerinde bulunur (Nicoll ve ark., 1986) ve yaklaşık 10 kb uzunluğunda olup 5 ekzon ve 4 introndan oluşmaktadır (Truong ve ark., 1984). İnsan PRL cDNA'ları 914 nükleotidden meydana gelir ve 28 aa'lık bir sinyal peptid dahil olmak üzere 227 aa'lık bir prehormonu kodlayan 681 nükleotid açık okuma çerçevesi içermektedir (Cooke ve ark., 1981). Bu nedenle, olgun insan PRL geninin toplam molekül ağırlığı 23 kDa olup 199 aa içermektedir (Bole-Feysot ve ark., 1998).

Tüm omurgalılarda PRL geni mevcut olup bazı türlerde PRL'yi kodlayan cDNA'lar izole edilmiştir (Cooke ve ark., 1980; 1981; Miller ve ark., 1981; Nicoll ve ark., 1986; Mercier ve ark., 1989; Rentier-Delrue ve ark., 1989; Sinha, 1995). Balık dışında, şimdiye kadar tanımlanan tüm PRL proteinleri 197-199 aa uzunluğunda ve üç intramoleküler disülfür bağı oluşturan altı sistein içermektedir (insanlarda, Cys⁴-Cys¹¹, Cys⁵⁸-Cys¹⁷⁴ ve Cys¹⁹¹-Cys¹⁹⁹). Balık PRL'leri, memeli PRL'lerinden daha kısa uzunluktadır ve ilk disülfid köprüsünü de içeren N terminalinde bir dizi artık yoktur. Tilapia'larda, uzunlukları (11 aa), kompozisyonları (%69 aa) ve biyolojik aktiviteleri ile farklılık gösteren iki ayrı PRL izole edilmiştir. Bu farklılığın balıklarda gen duplikasyonundan kaynaklandığı düşünülmektedir (Rentier-Delrue ve ark., 1989). PRL'nin birincil yapısı korunmuş olmasına rağmen belirli bir sınıf içindedir. Örneğin, sığır ve insan PRL proteini %74 aa (Miller ve ark., 1981), sazan ve somon PRL proteinleri ise %77 aa paylaşmaktadır (Yasuda ve ark., 1987). Uzak ilişkili türlerden PRL sekansları yüksek derecede bir sapma göstermektedir. Örneğin, sazan ve insan PRL'leri benzerliğin sadece %36'sını paylaşmaktadır. (Yasuda ve ark., 1987).

2.2.1.2. PRL Geni İkincil ve Üçüncül Yapısı

İkincil yapı çalışmaları, PRL'nin bir helezonik protein olduğunu ve neredeyse %50 oranında bir helezon içerdiğini, proteinin geri kalan kısmının ise örgütlenmemiş döngü yapılarına (non-organised loop structure) katlandığını göstermektedir (Bewley ve Li, 1972). Bugüne kadar yapılan çalışmalarda PRL'nin üç boyutlu yapısının deneysel tekniklerle (x-ışını, nükleer manyetik rezonans) belirleme girişimleri başarısız olmuştur. Bununla birlikte, PRL ve GH arasındaki yapı/fonksiyon benzerliklerinden faydalanarak, domuzda GH'nin kristalografik koordinatlarına dayanan homoloji modelleme yaklaşımı kullanılarak insan PRL proteininin 3D yapısı belirlenmiştir (Goffin ve ark., 1995).

2.2.1.3. PRL Varyantları

Hipofiz bezinden salgılanan major prolaktin formu 23 kDa olmasına rağmen, prolaktin varyantları insan genomunun yanı sıra birçok memeli türünde tanımlanmıştır. Prolaktin varyantları birincil transkriptin alternatif splayı, proteolitik bölünme ve

aminoasit zincirindeki diğer post-translasyonel modifikasyonlarının sonucu meydana gelmektedir (Freeman ve ark., 2000).

Prolaktin mRNA'nın alternatif splayı, varyantların bir kaynağı olarak ileri sürülmüştür (Sinha, 1986; 1995). Nitekim ön hipofizde alternatif olarak eklenmiş 137 aminoasit uzunluğunda bir prolaktin varyantının varlığını gösteren kanıtlar bunu doğrular niteliktedir (Emanuele ve ark., 1992; Wilson ve ark., 1992). Bununla birlikte, intronların tutulmasını içeren alternatif splay da mümkündür. Ancak, alternatif splay büyük bir prolaktin varyantının kaynağı olarak kabul edilmemektedir (Freeman ve ark., 2000).

Bugüne kadar tanımlanan bölünmüş formlardan 14, 16 ve 22 kDa uzunluğundaki prolaktin varyantları üzerinde birçok çalışma mevcuttur. 14-kDa NH₂ terminal fragmanı, hipotalamusta sentezlenen ve 16-kDa uzuluğundaki fragmanı ile biyolojik aktiviteyi paylaşan prolaktin geninin post-translasyonel bir ürünüdür (Clapp ve ark., 1994; Torner ve ark., 1995). 16-kDa prolaktin ise kallikrein enzimatik aktivitesinin bir ürünüdür. Kallikrein, golgi sisterna ve laktotropların salgı granüllerinde bulunan östrojen kaynaklı tripsin benzeri serin proteazdır (Powers, 1993). Bu enzim, ratlarda prolaktini tiyole bağımlı bir şekilde parçalamaktadır. Tiyol, kallikreinin bir substrat olarak tanıdığı şekilde prolaktin konformasyonunu değiştirir. Doğal prolaktin'in karboksipeptidaz-B ile işleyişi 22-kDa prolaktin fragmanı ile sonuçlanmaktadır (Anthony ve ark., 1993). Proteolitik bölünmenin yanı sıra, prolaktin varyantlarının çoğunluğu, ön hipofiz bezinde veya plazmada olgun molekülün diğer post-translasyonel işleminin sonucu olabilmektedir. Bunlara dimerizasyon ve polimerizasyon, fosforilasyon, glikozilasyon, sülfatlama ve deamidasyon da dahildir (Sun ve ark., 1996).

2.2.1.4. PRL Sentezi ve Salgılanması

Ön hipofiz bezinin laktotropik hücreleri tarafından sentezlenip salgılanmasının yanı sıra prolaktin ayrıca birçok başka hücre ve doku tarafından da sentezlenmektedir. Ön hipofiz bezine ek olarak, prolaktin gen ekspresyonu beynin çeşitli bölgelerinde, desidua, miyometriyum, lakrimal bez, timus, dalak, dolaşımdaki lenfositler ve kemik iliği lenfoid hücreleri, meme epitel hücreleri ve tümörleri, cilt fibroblastları ve ter bezlerinde de tespit edilmiştir. Dolayısıyla prolaktin, serebrospinal sıvı, amniyotik sıvı, gözyaşı, süt, foliküler sıvı ve ter gibi sıvılar içerisinde de bulunmaktadır (Bole-Feysot ve ark., 1998).

Hipofiz bezinde prolaktin sentezi ve salınımını gerçekleştiren laktotrop hücreler (mamotrop hücre) hayvanın cinsiyetine ve fizyolojik durumuna bağlı olarak ön hipofiz bezi hücrelerinin yaklaşık %20-50'sini oluşturmaktadır. Ontogenetik olarak laktotrop, somatotrop ve tirotroplar hipofiz hücrelerinin PİT-1'e bağlı soyundan gelmektedir (Sharp, 1995; Cohen ve ark., 1996; Gonzalez-Parra ve ark., 1996; Parks ve ark., 1997). Laktotropların morfolojisi ve dağılımı ratlarda, prolaktin içeren hücrelerin ön lobun lateroventral kısmında dağılmış olduğu ve ara lobun (Nakane, 1970) bitişiğinde bir bant olarak (Tougard ve Tixier-Vidal, 1994) tanımlanmıştır. Hücrelerin şekilleri heterojen olup çok düzlemli veya açısallı olarak ta görülmektedir, fakat zaman zaman yuvarlak veya oval de olabilmektedirler (De Paul ve ark., 1997). Laktotrop varyasyonu granül büyüklüklüğü, içeriği (Snyder ve ark., 1976) ve ayrıca mevcut prolaktin ve prolaktin mRNA miktarına bağlı olarak değişmektedir (Velkeniers ve ark., 1988).

Morfolojik heterojenliğin yanı sıra laktotroplar da fonksiyonel heterojenite göstermektedirler. Prolaktin, hipofiz bezinde belirgin bir hücre tipinde büyük ölçüde bulunmuş ve salgılanmış olmasına rağmen, hem prolaktin hem de büyüme hormonu, mammosomatotrop adı verilen ara hücrelerden de salgılanabilmektedir (Neill ve Frawley, 1983; Frawley ve Neill, 1984; Frawley ve ark., 1985; Frawley ve Boockfor 1986). Bu iki fonksiyonlu hücreler östrojen varlığında laktotroplara farklılaşır (Boockfor ve ark., 1986). Mammosomatotroplar aynı zamanda erken laktasyonda (Porter ve ark., 1991) ortaya çıkan maternal bir sinyal varlığında doğumda laktotroplara farklılaşır ve yavrulara anne sütüyle iletilir (Porter ve Frawley, 1991). Ayrıca laktotroplar ön lob içindeki bölgesel dağılımlarına (Mukherjee ve ark., 1991) ve ayrıca salgı etiketlerine karşı duyarlılıklarının doğası bakımından (Boockfor ve Frawley, 1987) fonksiyonel heterojenite gösterdiği görülmektedir. Yani, ön lobun dış bölgesinden gelen laktotroplar, hipofiz bezinin (Boockfor ve Frawley, 1987) ara lobuna bitişik olan iç bölgeye göre Tirotropin salgılayıcı hormona (TRH) daha büyük tepki verirler. Öte yandan, dopamine duyarlı laktotroplar (Arita ve ark., 1991) hipofizin iç kısmında ön hipofizin dış bölgesinden daha fazla miktarda bulunmaktadır. Şaşırtıcı bir şekilde, fonksiyonel heterojenite, bazı laktotrop hücre popülasyonlarında prolaktin gen transkripsiyonu ve prolaktin salınımı arasındaki uyumsuzluğa da yansımaktadır (Ruberg ve ark., 1978; Castano ve ark., 1997). Birlikte ele alındığında ise laktotropların morfolojileri, hormonal fenotipleri, dağılımları veya fonksiyonlarında homojen olmadığı açıkça görülmektedir (Freeman ve ark., 2000).

Prolaktin immünoaktivitesi, farklı memeli türlerinde sayısız hipotalamik alanlarda bulunmaktadır (Thompson, 1982; Alonso ve ark., 1988; Harlan ve ark., 1989; Siaud ve ark., 1989; Nishizuka ve ark., 1990; Griffond ve ark., 1993, 1994). Hipotalamusta bulunan prolaktin, hipofiz bezindeki prolaktin sentezinden bağımsız olarak lokal olarak sentezlenmektedir (Devito, 1988). Hipotalamik ve hipofiz orijinli prolaktin primer yapısının aynı olduğu tespit edilmiştir (Emanuele ve ark., 1992; Wilson ve ark., 1992). Her ne kadar merkezi sinir sisteminde hipotalamik kökenli prolaktin rolü belirgin olmasa da, hipotalamusun 23-kDa uzunluğundaki prolaktin'i 16-kDa ve 14-kDa parçalarına ayırmak için uygun proteolitik enzimler içerdiği belirtilmelidir (Devito ve ark., 1992a). Bazı prolaktin salgılama uyarıcıları da hipotalamik prolaktin üretimini etkilemektedir. Örneğin, yumurtalık steroidlerinin hipotalamik sentezi ve prolaktin salınımını modüle ettiği bilinmektedir (Devito ve ark., 1991, 1992b).

Plasenta, çift yönlü fetomaternal metabolik taşıma fonksiyonlarına ek olarak geniş bir endokrin fonksiyon dizisine de sahiptir. Rat plasentası, hipofiz prolaktin ile yapısal benzerlik gösteren bir prolaktin benzeri molekül dizisi üretmektedir (Soares ve ark., 1998; Linzer ve Fisher, 1999). Bu plasental laktojenler (PL) veya prolaktin benzeri proteinler (PLP), PL-I, PL-II, PL-Im (mozaik), PL-Iv (varyant) (Robertson ve ark., 1982, 1994; Cohick ve ark., 1996) veya PLP-A, -B, -C, -D, -E, -F ve -G olarak çeşitli şekillerde tanımlanmıştır (Deb ve ark., 1993; Conliffe ve ark., 1994; Iwatsuki ve ark., 1996). Öte yandan desidua, insanda hipofiz prolaktininden ayırt edilemeyen bir prolaktin benzeri molekül üretmektedir (Riddick ve ark., 1978; Clements ve ark., 1983; Takahashi ve ark., 1984; Andersen, 1990), ancak ratlarda bu molekül daha farklıdır (Gu ve ark., 1994). Bu ailenin yeni bir üyesi ise gebeliğin erken dönemlerinde desidua tarafından üretilen prolaktin benzeri olan protein J'dir (Toft ve ark., 1999). Bu prolaktin benzeri moleküllerin her biri, prolaktin reseptöre bağlanabilir (Herz ve ark., 1986; Jayatilak ve ark., 1986) ve bunların salgılanması decidua tarafından (Handwerger ve ark., 1983; 1987; 1991; Golander ve ark., 1988; Thrailkill ve ark., 1988; 1989; Gu ve ark., 1996) düzenlenir ancak hipotalamik prolaktin salgılayıcı faktörler (PRF) değildir (Golander ve ark., 1979). Bununla birlikte progesteron ayrıca, prolaktin üretiminin güçlü bir uyarıcısı olarak tanımlanmıştır (Maslar ve Ansbacher, 1986). Yapılan çalışmalarda gebe olmayan uterusun da prolaktin kaynağı olduğu gösterilmiştir. Nitekim gebe olmayan rat

miyometriyumunda (Gellersen ve ark., 1991) hipofiz prolaktininden ayırt edilemeyen desidual benzeri prolaktin üretildiği tespit edilmiştir (Walters ve ark., 1983).

Prolaktin, laktasyon dönemindeki meme bezlerinin (Nolin ve Witorsch, 1976) epitel hücrelerinde ve sütün kendisinde de (Grosvenor ve Keenan, 1992) tespit edilmiştir. Sütte bulunan prolaktinin bir kısmının hipofiz bezinden kaynaklandığı ve dolaşımında meme bezine ulaştığı konusunda belirsizlikler söz konusudur (Grosvenor ve Whitworth, 1976; Mulloy ve Malven, 1979). Prolaktin, önce meme epitel hücre bazal membranını geçerek süte ulaşır, meme epitel hücresi içinde spesifik bir prolaktin bağlayıcı proteine yapışır ve sonuçta ekzositoz yoluyla apikal membrandan alveoler lümene taşınır (Seddiki ve Ollivier, 1991; Ollivier ve ark., 1993). Kandan prolaktin alımına ek olarak, emziren hayvanların meme epitel hücreleri prolaktin sentezleme yeteneğine sahiptir. Prolaktin mRNA'sının varlığı (Kurtz ve ark., 1993; Steinmetz ve ark., 1993) ve ayrıca emziren ratların meme epitel hücreleri tarafından immünoreaktif prolaktin sentezi olduğu bildirilmiştir (Lkhider ve ark., 1996; 1997). Meme bezi ayrıca prolaktin için post-translasyonel süreçte de rol oynamaktadır. Hem insan (Ellis ve Picciano, 1995) hem de rat (Kacsoh ve ark., 1991; 1993) sütündeki prolaktin varyantları sayısal olarak serumda bulunanların çok üstündedir. Süt ile alınan prolaktinin yaklaşık %20'si yenidoğan dolaşımına geçmektedir (Grosvenor ve Whitworth, 1983). Süt prolaktini nöroendokrin (Shyr ve ark., 1986; Shah ve ark., 1988) ve bağışıklık (Grove ve ark., 1991; Gunes ve ark., 1993) sistemlerinin gelişmesine katkı sağlamaktadır.

Lenfositlerin prolaktin kaynağı olabileceğini gösteren birçok çalışma mevcuttur (Russel, 1989; Montgomery ve ark., 1990; Jurcovicova ve ark., 1993; Gala ve Shevach, 1994). Periferik lenfositlerin yanı sıra timus bezi ve dalakta bulunan immün hücreler prolaktin mRNA'sı içermekte ve hipofiz prolaktin ile benzer bir biyoaktif prolaktin salgılamaktadır (Dimattia ve ark., 1988; Gellersen ve ark., 1989a; 1989b; Montgomery ve ark., 1987; 1990; 1992; Sabharwal ve ark., 1992). Her ne kadar hipofiz kökenli prolaktin salgısının kontrolü lenfositik kökenli olanlardan farklı olsa da, lenfositler, lenfositik prolaktin üretimi ve salınımının düzenlenmesinde rol oynayan dopamin reseptörleri içermektedir (Devins ve ark., 1992).

2.2.1.5. Prolaktinin Biyolojik Fonksiyonu

Prolaktin, memeli türlerinde meme bezi fonksiyonları üzerindeki rolü ile birlikte üreme özelliklerine de birçok etkisinin olduğu bilinmektedir. Özellikle kemirgenler başta olmak üzere bazı memelilerde prolaktin, korpus luteumun devamlılığı ve salgılama aktivitesi için önemlidir. Prolaktin'in meme bezi üzerindeki çeşitli etkileri, meme bezinin büyümesi ve gelişmesi (mamogenez), süt sentezi (laktogenez) ve süt salınımını (galaktopoez) içermektedir. Prolaktin geninde (Horseman ve ark., 1997) veya prolaktin reseptöründe (Ormandy ve ark., 1997) gerçekleşen bir mutasyon yetişkin dişi bireylerde lobulo-alveolar birimlerinin tamamen yokluğu ile karakterize olan anormal mamogenez ile sonuçlanmaktadır (Freeman ve ark., 2000).

Galaktopoezisin hormonal gereksinimlerinde memeliler arasında çarpıcı farklılıklar olmasına rağmen, ortak mutlak gereksinim prolaktindir (Freeman ve ark., 2000). Bununla birlikte büyüme hormonunun varlığı da laktasyonun maksimum düzeyde sürdürülebilirliğini artırabilmektedir (Lyons, 1958). Bu eylemlerin hiçbirinin yalnızca prolaktine bağlı olmadığı unutulmamalıdır, prolaktin meme bezini etkileyen büyüme faktörlerinden biridir. Kemirgenler üzerinde *in vivo* koşullarda gerçekleştirilen hipofizektomi, ovariektomi ve adrenaletomi yapılan birçok çalışmada meme bezinin lobuloalveolar büyümesinin ve gelişiminin prolaktin, östrojen, progesteron ve glukokortikoidlere gereksinim olduğunu göstermektedir. Gebelik sürecinde, memedeki süt kanallarının geniş bir şekilde dallanması ve alveollerin gelişimi progesteron, prolaktin ve plasental laktojenin bir fonksiyonudur (Imagawa ve ark., 1994). Yapılan birçok çalışmada insülin, büyüme hormonu, tiroid hormon, paratiroid hormon, kalsitonin, çeşitli büyüme faktörleri ve hatta oksitosinin farklı memeli türlerinde galaktopoezde rol oynadığına dair bulgular vardır (Tucker, 1994). Laktogenez sürecinde prolaktin bazı aminoasitlerin, kazein ve α -laktalbümin gibi süt proteinlerinin, glikoz ve laktozun yanı sıra süt yağı sentezini de uyardığı bilinmektedir (Barber ve ark., 1992; Tucker, 1994).

Prolaktinin luteal fonksiyon üzerindeki etkileri, türlere ve östrus döngülerinin aşamalarına bağlıdır. Örneğin, kemirgenlerde prolaktin çiftleşme sonrası veya çiftleşme uyarıcısının yokluğunda luteotropik olabilmektedir (Freeman ve ark., 2000). Çoğu kemirgende prolaktin, korpus luteumun yapısal ve fonksiyonel bütünlüğünü çiftleşmeden 6 gün sonra da koruyarak luteotropik bir hormon görevi görmektedir (Morishige ve Rotchild, 1974). Prolaktinin ratlarda gösterdiği luteotropik etki arttırılmış progesteron

salınımı ile karakterize edilmektedir. Progesteron östrojen ile birlikte döllenmiş yumurtanın implantasyonu, gebeliğin korunması ve yumurta üretiminin engellenmesi için esastır (Freeman, 1994). Prolaktin yokluğunda ise ratlarda korpus luteum tarafından 20- α hidroksiprogesteron baskın bir şekilde üretilmektedir. Progesteronun bu metaboliti inaktiftir. Prolaktin, progesteron sekresyonunu iki şekilde arttırmaktadır. Birincisi, luteinize edici hormonun (LH) granuloza-luteal hücrelerde steroidojenik etkilerini güçlendirir (Richard ve Williams, 1976). İkinci olarak ta progesteronu etkisizleştiren 20- α hidroksisteroid dehidrojenaz enzimini inhibe eder (Freeman, 1994). Hamsterler gibi diğer kemirgenlerde prolaktin, LH, folikül uyarıcı hormon (FSH) ve prolaktinden oluşan bir luteotropik kompleksin bir parçasıdır (Greenwald, 1967). Prolaktinin köpeklerde (Niswender ve Nett, 1994) ve primatlarda (Richardson ve ark., 1985) bir luteotropik kompleksin parçası olabileceğine dair bazı bulgular vardır. Örneğin, insanlarda yüksek prolaktin seviyeleri, granuloza hücre luteinizasyonunu (McNeilly ve ark., 1982; Adashi ve Resnick, 1987) ve steroidojenezi (Lee ve ark., 1986) inhibe etmektedir. Prolaktin'e luteal bağımlılığın diğer bir göstergesi ise normal luteal fonksiyona sahip olmayan prolaktin reseptörlerinde bulunur ve dolayısıyla azalmış yumurtlama hızı, anormal oogenezi ve implantasyon başarısızlığından dolayı kısırlık görülmektedir. Prolaktin, gebelik sırasında progesteron biyosentezi ve luteal hücre hipertrofisi için esastır. Prolaktinin luteal fonksiyonu üzerindeki etkilerine ek olarak, prolaktin reseptörleri, granuloza hücrelerinde ve oositlerde de sayısız fonksiyonuna aracılık etmektedir (Bole-Feysot ve ark., 1998).

Luteotropik rolünün yanı sıra, ratlarda prolaktinin korpus luteumda (Matsuyama ve ark., 1996; Kanuka ve ark., 1997) programlanmış hücre ölümünü indükleyerek luteolitik olabileceğine dair bilgiler de mevcuttur (Malven ve Sawyer, 1966; Wuttke ve Meites, 1971). Ayrıca, prolaktin "housekeeping" fonksiyonu gerçekleştirebileceğine dair kanıtlar da vardır. Korpus luteum, prolaktinin bu etkisi altında kaldığı zaman işlevsiz olduğu vurgulanmaktadır (Bowen ve ark., 1996; Tsai ve ark., 1997). Prolaktinin hem luteotropik hem de luteolitik olabileceği mekanizma hala belirsizdir. Prolaktin reseptörün hem kısa hem de uzun izoformları ovaryumlarda bulunmaktadır (Shirota ve ark., 1990; Clarke ve ark., 1993). Ovaryumlarda prolaktin reseptörün transkripsiyonu karmaşık hormonal mekanizma ile kontrol edilmektedir (Clarke ve ark., 1997; Telleria ve ark., 1997). Ovaryumlarda prolaktin reseptör geninin transkripsiyonu gonad spesifik promotör I ve

genel kapsamlı promotör III ile düzenlenmektedir. Prolaktin reseptör promotörü I'in temel transkripsiyonel aktivatörü, SF-1 (Hu ve ark., 1996, 1997) tarafından aktive edilen, steroidojenik faktör-1'dür. Ad4BP olarak da bilinen SF-1, spesifik bir zinc finger DNA proteindir (Luo ve ark., 1994). Son zamanlarda, prolaktin reseptör ile ilişkili fosfoprotein (PRAP) ekspresyonu luteal hücrelerde tespit edilmiştir (Duan ve ark., 1996). PRAP, prolaktin reseptörün kısa formuna değil uzun formunun hücre içi alanına bağlanmaktadır ve PRAP ekspresyonu östrojen ve prolaktin tarafından düzenlenmektedir (Duan ve ark., 1997). Yapısal olarak PRAP, yeni karakterize edilmiş bir form olan 17- β hidroksteroid dehidrojenaz (tip 7) ve 17 ketosteroid redüktaz ile %89 oranında homoloji göstermektedir, bu, PRAP'ın estronun estradiole dönüşümünü katalize eden bir enzim olabileceğini göstermektedir (Nokelainen ve ark., 1998).

Prolaktinin üreme davranışını etkilediğini öne süren çalışmalar mevcuttur (Dutt ve ark., 1994). İnsanlarda yüksek prolaktin seviyeleri, yalancı gebelik de dahil olmak üzere psikosomatik reaksiyonlarla ilişkili olduğu öne sürülmüştür (Sobrinho, 1993). Dişi bireylerde cinsel davranışı kontrol eden bir alan olan alt orta hipotalamus çekirdeğinde prolaktin reseptörleri bulunmaktadır (Crume rolle-Arias ve ark., 1993) ve bu bölgeye prolaktinin iyontoforez yöntemi ile uygulanması lokal nöronal elektriksel aktiviteyi artırmaktadır (Haskins ve ark., 1983). Bununla birlikte, beynin üçüncü ventrikül bölgesine östrojen ve progesteron uygulaması yapılmış overektomize edilen ratlarda prolaktin, cinsel duyarlılığı azaltmaktadır (Dudley ve ark., 1982). Ancak, beynin orta kısmına estradiyol uygulaması yapılan overektomize ratlarda prolaktin cinsel duyarlılığı arttırmaktadır (Harlan ve ark., 1983). Dopamin antagonizmasına cevap olarak endojen kaynaklı prolaktin sekresyonunun arttırılmasının dişilerde çiftleşme davranışı üzerinde hiçbir etkisinin olmadığı (Sodersten ve ark., 1983a), oysa emzirme uyarısına cevap olarak prolaktin sekresyonunun yükselmesinin ise cinsel davranışı azalttığı bildirilmiştir (Sodersten ve ark., 1983b). Buna karşın ratlarda proöstrus döneminde dopamin agonisti ile spontan prolaktin salınımının baskılanması cinsel duyarlılığı önemli ölçüde azaltmaktadır (Witcher ve Freeman, 1985). Farelerde prolaktin reseptör geninde gerçekleşecek olan bir null mutasyon prolaktin eksikliğine sebep olsa da, bu tür reseptör eksikliği olan dişilerin normalde heterozigot veya yabanıl tip erkeklerle çiftleştiği görülmektedir (Ormandy ve ark., 1997, Steger ve ark., 1998). Bu nedenle, birlikte değerlendirilen bu veriler ışığında dişilerde prolaktinin cinsel davranış üzerindeki rolünü

belirlemede kesin olarak bir şey söylemek mümkün görünmemektedir. Ancak, prolaktinin ratlarda (Kalra ve ark., 1983; Doherty ve ark., 1985) ve koyunlarda (Gloria ve ark., 1994) sıradan erkek cinsel davranışlarını bastırdığı açıkça görülmektedir.

Prolaktin odaklı davranış çalışmalarında memelilerde maternal davranış en çok çalışılan konu olmuştur (Bridges, 1985; Bridges ve ark., 1996; Sakaguchi ve ark., 1996; Lucas ve ark., 1998). Bu çalışmalar arasında yavruların anne tarafından temizlenerek kurutulması ve diğer annelik özellikleri sayılabilir. Prolaktinin farelerde, tavşanlarda, hamsterlarda, koyunlarda ve özellikle ratlarda bu maternal davranışların indüklenmesi ve sürdürülmesi üzerindeki etkileri konusunda geniş bir literatür vardır (Bridges, 1994; Numan, 1994). Prolaktinin kendi başına anne davranışını başlatmadığı, ancak sadece anne davranışının başlangıcındaki gecikmeyi azalttığı vurgulanmalıdır. İntraserebroventriküler prolaktin infüzyonu, ratlarda maternal davranışın başlamasındaki gecikmeyi azaltmaktadır (Bridges ve ark., 1990). Hiç doğum yapmamış dişi ratlarda 10 gün boyunca hamileliğe benzer şekilde östrojen ve progesteron uygulamasıyla ortalama 5-6 gün gecikmeyle maternal davranış gözlemlenmiştir. Ovaryumlara uygulanan steroid prolaktin uygulaması ise maternal davranış gecikme süresini 1-2 güne kadar azaltmıştır (Bridges, 1984). Buna ek olarak, hipofizektomize edilmiş ratlarda steroid tedavisine cevap olarak maternal davranışın kolaylaştırılmasını gösterememiştir. Diğer yandan hipofizektomize dişi ratların böbrek kapsülünün altına yerleştirilen prolaktin salgılayan hipofiz transplantları, maternal davranışların başlangıcını çarpıcı biçimde iletmiştir (Bridges, 1985).

Ratlarda anne ile yavru arasında kurulan bağın beyindeki uzun form prolaktin reseptör mRNA'nın transkripsiyonunu indüklediği tespit edilmiştir. Kurulan bu temasın prolaktin reseptör ekspresyonu üzerine etkisi, ovariectomi ve hipofizektomi ile önlenebilmektedir (Locatelli ve ark., 1985). Burada anne ile yavru temasının cinsiyete özgü olmadığı görülmektedir. Yukarıda bahsedildiği gibi prolaktin reseptör uzun form mRNA ekspresyonu ve maternal davranış, yavru ile temas eden erkek ratlarda da gözlemlendiği bildirilmiştir. (Sakaguchi ve ark., 1996).

Beyin esas olarak prolaktin reseptörlerinin uzun izoformunu içermesine rağmen, hipotalamus hem uzun hem de kısa formları içermektedir (Chiu ve ark., 1992). Hipotalamusta prolaktin reseptör mRNA içeren nöronlar, anterior kısımda ve mediobazal hipotalamusta bulunmaktadır (Chiu ve ark., 1992; Chiu ve Wise, 1994, 1996). Ayrıca,

uzun prolaktin reseptör formunun mRNA'sı, hipotalamusun periventriküler, paraventriküler, supraoptik ve ventromedial çekirdeklerinde ve ayrıca medial preoptik alanda da bulunmaktadır (Bakowska ve Morrell, 1997). Aynı zamanda bu hipotalamik bölgeler prolaktin reseptör proteinini de içermektedir (Roky ve ark., 1996; Pi ve Grattan, 1998; Lerant ve Freeman, 1998). Beyindeki prolaktin reseptör ekspresyonu yaş (Muccioli ve Dicarlo, 1989; Kvitnitskaya-Ryzhova ve ark., 1994; Chiu ve Wise, 1996), östrojen seviyesi (Mustafa ve ark., 1995; Shamgochian ve ark., 1995), serum prolaktin seviyelerinde yükselme ve yavru teması ile de artmaktadır (Sugiyama ve ark., 1994).

Prolaktin, üreme süreçleri üzerindeki etkilerinin yanı sıra bağışıklık sisteminin düzenlenmesi, ozmotik denge ve anjiyogenez süreçlerinde de rol oynamaktadır (Freeman ve ark., 2000).

2.2.2. PRLR Gen Yapısı ve İşlevi

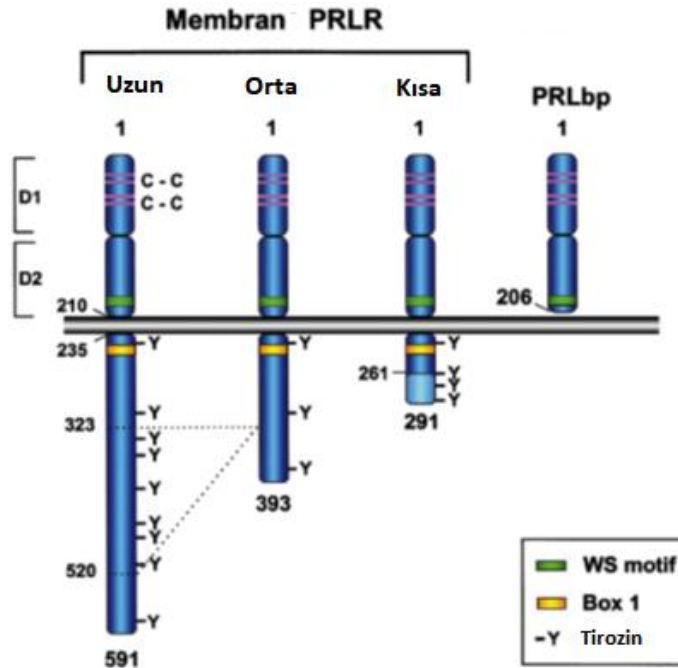
Yirmi yıldan daha uzun bir süre önce, PRLR geni spesifik, yüksek afiniteli ve membran bağlantılı bir protein olarak tanımlanmıştır (Posner ve ark., 1974; 1975; Kelly ve ark., 1974a; 1974b). 1988'de ratlarda PRLR cDNA'sı izole edilmiş ve PRL reseptörleri ile GHR reseptörlerinin birbirleriyle yakından ilişkili olduğu tespit edilmiştir (Leung ve ark., 1987; Boutin ve ark., 1988; Kelly ve ark., 1991). Her iki reseptör de tek geçişli transmembran zincirleri olup çeşitli yapısal ve işlevsel özelliklerde ortak rol almaktadırlar (Kelly ve ark., 1991; Goffin ve Kelly, 1996a; 1996b; Goffin ve ark., 1998a). 1990'lı yılların başında, yeni tanımlanmış membran reseptörleri ile sekanslarının karşılaştırması, hem PRLR hem de GHR dahil olmak üzere yeni bir reseptör ailesinin tanımlanmasına olanak sağlamıştır (Bazan, 1989; 1990; Kelly ve ark., 1991). PRLR geni class 1 cytokine receptors (Sınıf 1 sitokin reseptörleri) gen ailesinin bir üyesidir. Tüm bu membran zincirleri, görünüşte genetik olarak ilişkili olmasa da hem hücre dışı hem de hücre içi alanlarda yüksek oranda korunmuş aminoasit zincirlerini içermektedir (Bole-Feysot ve ark., 1998).

2.2.2.1. PRLR Geni Birincil Yapısı

İnsanlarda PRLR geni kromozom 5 (p13→14) üzerinde bulunur ve yaklaşık olarak 100 kb uzunlukta olup en az 10 ekzon içermektedir (Arden ve ark., 1990). Tek bir

transkriptin proteini kodladığı PRL geninin aksine, birincil transkriptin alternatif bir şekilde birleşmesinden kaynaklanan membran bağlı PRLR çok sayıda izoformu birçok türde tanımlanmıştır (Boutin ve ark., 1988; 1989; Davis ve Linzer, 1989; Shirota ve ark., 1990; Ali ve ark., 1991; Nagano ve ark., 1995). Bu farklı PRLR izoformları, sitoplazmik kuyruklarının uzunlukları ve kompozisyonları bakımından farklılık göstermekte ve boyutlarına göre kısa, orta veya uzun PRLR olarak adlandırılmaktadır (Şekil 2.4.) (Bole-Feysot ve ark., 1998).

Örneğin, ratlarda PRLR izoformları uzunluklarına göre farklı sayıda aminoasit içerirler. Kısa izoform 29 aa, orta izoform 393 aa ve uzun izoform ise 591 aa içermektedir. Farelerde ise bir uzun ve üç kısa izoform tanımlanmıştır. Kısa formlar sadece sitoplazmik kuyruklarının C-terminal kısmındaki birkaç aminoasitle farklılık göstermektedir (Davis ve Linzer, 1989; Clarke ve Linzer, 1993). Membrana bağlı PRLR'e ek olarak, çözünebilir izoformlar da tanımlanmıştır (PRL bağlayıcı protein veya PRLbp), fakat bunların membran bağlı PRLR'nin birincil mRNA'sının veya proteolitik bölünmesinin alternatif bir şekilde birleşmesinden mi kaynaklandığı belirsizdir (Postel-Vinay ve ark., 1991; Fuh ve Wells, 1995; Amit ve ark., 1997). Bununla birlikte, her durumda hücre dışı ligand bağlama alanı, izoform ne olursa olsun aynıdır (Bole-Feysot ve ark., 1998).



Şekil 2.4. PRLR izoformları

2.2.2.1.1. Ekstraselüler Alan (ECD, The Extracellular Domain)

Sitokin reseptörleri arasındaki sekans benzerliklerinin çoğu, ekstraselüler alanlarda bulunmaktadır. Tipik olarak, bir sitokin ekstraselüler alan 200 aa uzunluğunda olup sitokin reseptörü homolojisi (CRH, cytokine receptor homology) bölgesi olarak adlandırılır (Wells ve De Vos, 1996). CRH, her biri fibronektin tip III modülüyle benzerlik gösteren yaklaşık 100 aa uzunluğundaki (D1 ve D2) iki alt alana bölünmektedir (Bazan, 1990; Wells ve De Vos, 1996). Her ne kadar bazı sitokin reseptörleri ek alanlar ihtiva etse de, ligand etkileşimlerinin temel olarak korunmuş fibronektin benzeri bölgeler tarafından yönlendirildiği görülmektedir (Kossiakoff ve ark., 1994; Wells ve De Vos, 1996). İnsan ve ratlarda PRLR ekstraselüler alan, dikkate alınan izoformu ne olursa olsun, 210 amino-terminal bölgeyi kapsamaktadır (Boutin ve ark., 1988; 1989; Kelly ve ark., 1991). Sitokin reseptörü, ekstraselüler alanlarda yüksek oranda korunan iki özellik içermektedir. Birincisi, N-terminal alt alan D1'deki (Cys¹²-Cys²² ve Cys⁵¹-Cys⁶²) iki çift disülfür bağlantılı sisteindir. İkincisi ise "WS" olarak adlandırılan bir pentapeptiddir ve "WS motifi" (Trp-Ser-herhangi bir amino asit-Trp-Ser) C-terminal alt alanı D2'nin membran-proksimal bölgesinde bulunmaktadır (Şekil 2.4.) (Bole-Feysot ve ark., 1998).

Kuşlarda PRLR geni örneği atipiktir. Çünkü güvercin ve tavukta PRLR ekstraselüler alan kopyalanmıştır ve iki tane yüksek oranda homolog olan CRH bölgesini içermektedir (Chen ve Horseman, 1994). N-terminal modülü ise delesyona uğradığı için güvercinlerde PRLR'nin ligand bağlama afinitesi, ligand spesifikliği veya sinyal iletimi (Gao ve ark., 1996) üzerinde herhangi bir işlevsel rol oynamamaktadır.

2.2.2.1.2. Transmembran Alan (TMD, The Transmembrane Domain)

Tüm sitokin reseptörleri gibi PRLR de tek geçişli transmembran zincirine sahiptir. Transmembran alan 24 aa uzunluğundadır (ratlarda 211-234 aa). Reseptörün fonksiyonel aktivitesinde bu bölgenin veya bu bölge içinde herhangi bir önemli aminoasidin işlevi bilinmemektedir (Bole-Feysot ve ark., 1998).

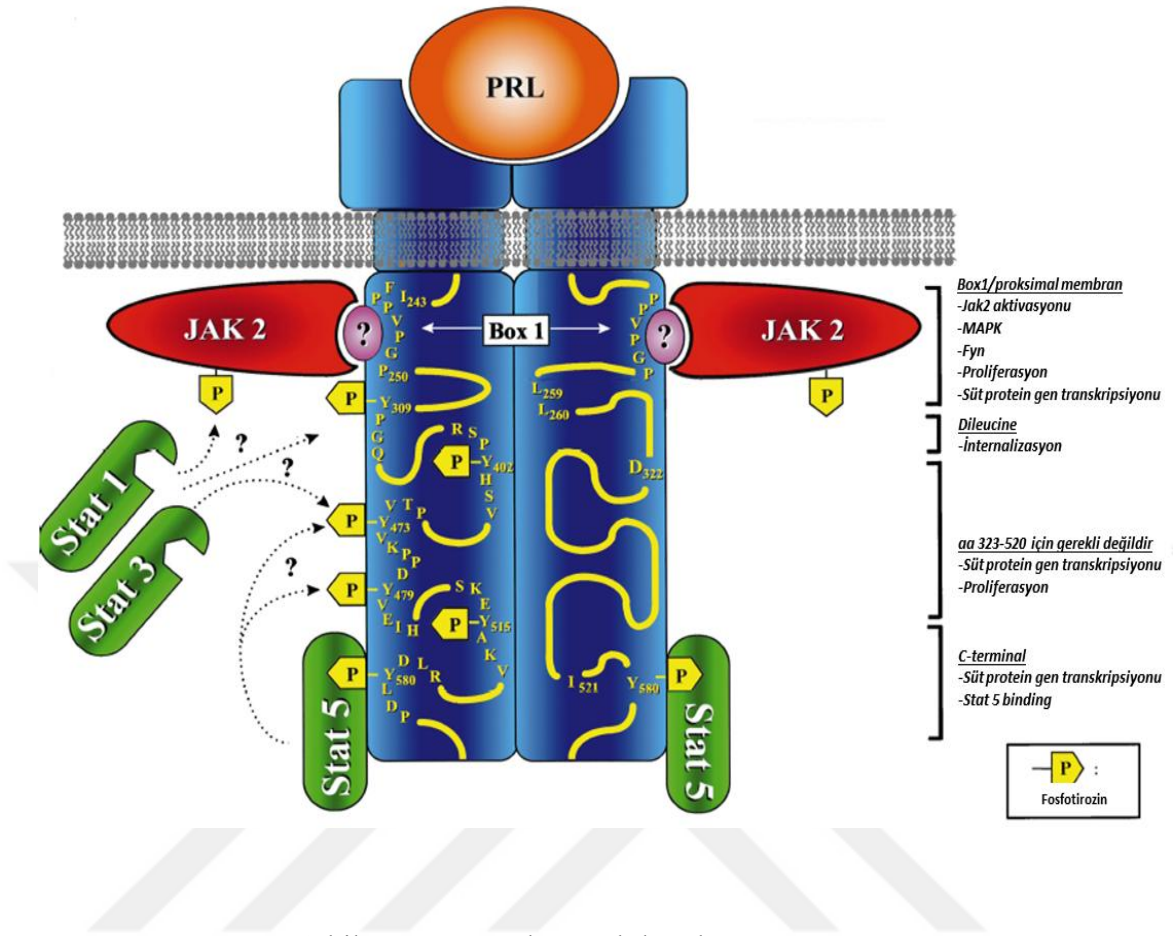
2.2.2.1.3. İntraselüler Alan (ICD, The Intracellular Domain)

Sitokin reseptörlerinin sitoplazmik alanı ekstraselüler alanlara göre daha sınırlı dizi benzerliği sergilemektedir. Box 1 ve Box 2 olarak adlandırılan bu iki bölge nispeten korunmuştur. Box 1, prolinler bakımından zengin olup 8 aminoasitten oluşan proksimal membran bölgesidir ve hidrofobik yapı gösterir (PRLR'de 243-250 aa) (Kelly ve ark., 1991; Murakami ve ark., 1991; Bole-Feysot ve ark., 2012). Prolinlerin yapısal özellikleri nedeniyle korunan P-x-P motifli Box 1 bölgesinin özellikle transdüksiyon molekülleri tarafından tanınan konsensüs katlanmasını benimsediği varsayılmaktadır. İkinci konsensüs bölgesi olan Box 2, Box 1'e nispeten daha az korunur ve hidrofobik, negatif yüklü, sonra pozitif yüklü alanların art arda oluşmasını sağlar. Box 1 tüm membran PRLR izoformlarında korunurken, Box 2 kısa izoformlarda bulunmamaktadır (Kelly ve ark., 1991; Goffin ve ark., 1998a).

2.2.2.2. PRLR Geni Tersiyer Yapısı

Genetiği değiştirilmiş insan PRLR ekstraselüler alanının 3D yapısı kristalografik analizi ile belirlenmiş ve Şekil 2.5.'te (Bole-Feysot ve ark., 1998) sunulmuştur (Somers ve ark., 1994).

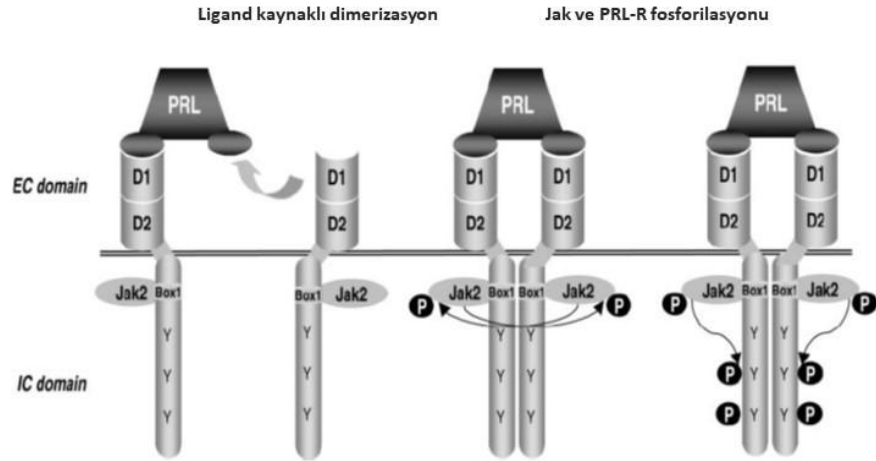
Her bir fibronektin benzeri alt alan (D1 ve D2), iki antiparalel β plakası tarafından tabakalı formda katlanan yedi adet β -strand içermektedir. Bunlardan birincisi A, B ve E olmak üzere üç adet strand ve diğeri ise C, C', F ve G olmak üzere dört farklı strand içermektedir (De Vos ve ark., 1992; Somers ve ark., 1994; Kossiakoff ve ark., 1994; Wells ve De Vos, 1996; Goffin ve ark., 1998b).



Şekil 2.5. PRLR ekstraselüler alanının 3D yapısı

2.2.2.3. Prolaktin Reseptörünün Bağlanması ve Aktivasyonu

Prolaktin reseptörlerinin aktivasyonu, iki bağlama bölgesi içeren prolaktin molekülü tarafından gerçekleştirilen ligand kaynaklı bir dizi reseptörün dimerizasyonunu içermektedir (Bole-Feysot ve ark., 1998). Prolaktin reseptörlerinin aktivasyonu ile ilgili görsel Şekil 2.6.'da sunulmuştur (Freeman ve ark., 2000).



Şekil 2.6. Prolaktin reseptörünün aktivasyon şeması

Öncelikle, prolaktin bağlanma bölgesi 1, bir prolaktin reseptör molekülü ile etkileşime girer (Step 1). Tüm prolaktin reseptör izoformlarının ekstraselüler alanı, NH₂-terminal bölgesi olan D1 ve proksimal membran olan D2 alt etki alanlarından oluşmaktadır (Kelly ve ark., 1991). Bu her iki etki alanları sitokin reseptörlerinde reseptör-ligand etkileşimlerini başlatan fibronektin tip III molekülü ile benzerlikler göstermektedirler (Wells ve De Vos, 1996). İlk hormon-reseptör kompleksinin oluşumu, aynı prolaktin molekülü üzerindeki ikinci bağlanma bölgesinin, ikinci bir prolaktin reseptör ile bağlanması için gereklidir (Step 2) (Bole-Feysot ve ark., 1998). Prolaktin reseptör izoformlarının intraselüler alanlarda uzunluk ve kompozisyon bakımından farklılık gösterse de, Box 1 ve Box 2 olarak adlandırılan korunmuş iki bölge mevcuttur (Murakami ve ark., 1991). İntraselüler bölge prolaktin reseptörlerinin dönüşüm sinyal mekanizmalarının başlatılmasında önemli rol oynamaktadır. Prolin bakımından zengin olan Box 1 (Lebrun ve ark., 1995) ve prolaktin reseptör dimerlerinin homodimerik tam katlanma göstermesi (Ferrag ve ark., 1998), prolaktin reseptörün intraselüler alanda Janus kinaz 2 (Jak2) olarak adlandırılan tirozin kinaz aktivasyonu için mutlaka gereklidir (Lebrun ve ark., 1994). Prolaktin reseptörün ligandla düzenlenen aktivasyonu reseptörün kendisi de dahil (P) olmak üzere pek çok selüler proteinin tirozinle (Y) fosforillenmesine neden olmaktadır (Step 3) (Rui ve ark., 1992; Ferrag ve ark., 1998). Jak2'nin fosforilasyonu, bütün prolaktin reseptör izoformlarının aktivasyonunda önemli bir olay olmasına rağmen, reseptörün tirozin fosforilasyonu intraselüler alanda dört tirozin

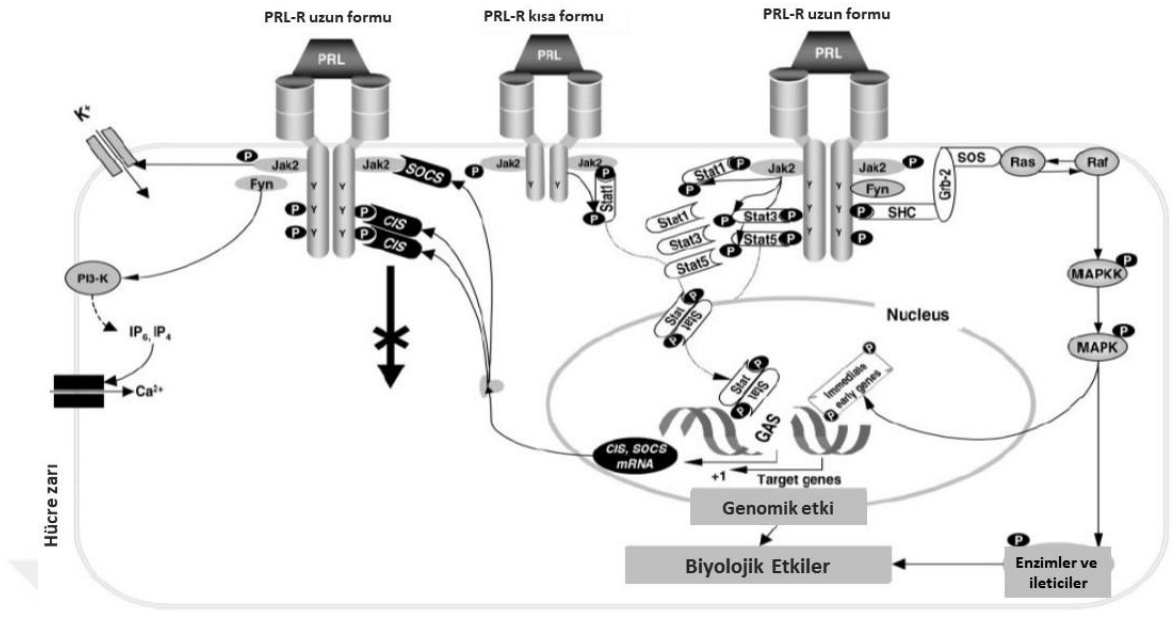
varlığına rağmen prolaktin reseptörün kısa formunun aktivasyonu gerçekleşmemektedir (Goupille ve ark., 1997).

2.2.2.4. PRLR Sinyal İletim Yolakları

2.2.2.4.1. JAK-STAT İletim Yolağı

Sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü (STAT, Signal Transducer and Activator of Transcription) protein ailesinin üyeleri, hücre içerisinde birçok biyokimyasal süreçte rol oynayan transkripsiyon faktörleridir (Ihle ve ark., 1994). STAT ailesi sekiz üyeden oluşmaktadır. Üyeler arasında STAT1, STAT3 ve özellikle STAT5a ve STAT5b, prolaktin reseptörlerin çevirici molekülleri olarak tanımlanmıştır (Goffin ve ark., 1998b; Jabbour ve ark., 1998). STAT proteinleri, DNA-binding domain, SH3-benzeri domain, SH2-benzeri domain ile NH₂- ve COOH-terminal transaktif alan olmak üzere beş ayrı korunmuş özellik içermektedir (Finidori ve Kelly, 1995). STAT aktivasyonunun konsensüs modeline göre, aktive sitokin reseptörünün fosforlanmış bir tirozin tortusu, STAT'ın SH2 alanıyla etkileşime girmektedir (Finidori ve Kelly, 1995; Bole-Feysot ve ark., 1998). STAT proteinleri, reseptöre kenetlenirken reseptörle ilişkili Jak kinaz tarafından fosforile edilir. Fosforile edilmiş STAT protein reseptörden ayrışır ve başka bir fosforile edilmiş STAT molekülünün SH2 alanıyla fosfotirozin kalıntıları vasıtasıyla hetero veya homodimerize olur. Son olarak, STAT protein dimer çekirdek ile yer değiştirir ve bir hedef genin promotöründe bir STAT DNA-bağlanma motifini aktive eder (Bole-Feysot ve ark., 1998; Carter-Su ve Smit, 1998). Jak/STAT iletim yolağında gerçekleşen biyokimyasal süreç Şekil 2.7.'de görülmektedir (Freeman ve ark., 2000).

STAT1, STAT3 ve STAT5 homo veya heterodimerleri tarafından tanınan konsensüs DNA motifi g-interferon aktifleştirilmiş sekans (GAS, G-interferon Activated Sequence) olarak adlandırılır. GAS, bir palindromik sekanstan oluşur: TTCxxxGAA (Horseman ve Yu-Lee, 1994). Çok sayıda promotörün GAS konsensüs motifini içerdiği ve bu promotörleri aktifleştiren çok sayıda sitokin olduğu bildirilmiştir (Gouilleux ve ark., 1995; Ferrag ve ark., 1996). STAT'ın hücre ve sitokin-spesifik bir cevap başlatmak üzere diğer sinyal çeviriciler (örneğin, glukokortikoid reseptörü) ile etkileşime girdiği öne sürülmüştür (Stoecklin ve ark., 1996; 1997).



Şekil 2.7. Jak/STAT iletim yolağı

STAT1, STAT3 ve STAT5 proteinlerinden STAT5 (daha önce meme bezi faktörü, MGF olarak tanımlanmıştır), prolaktin reseptörü için en önemli çevirici protein olduğu bilinmektedir (Liu ve ark., 1997). STAT5'in iki izoformu vardır: STAT5a ve STAT5b. İki farklı gen tarafından kodlanmış %95 sekans homolojisi içerir ve sadece COOH-terminal domainde farklılıklar göstermektedir. Her iki izoform, Jak2 tarafından fosforile edilen bir Tirozin-694'e sahiptir (Gouilleux ve ark., 1994). Tirozin fosforilasyonuna ek olarak, STAT'ın aktivasyonu, serin/treonin fosforilasyonunu da içermektedir. STAT5a ve STATb izoformları arasındaki en büyük fark, serin/treonin fosforilasyon bölgelerinden kaynaklanmaktadır. Protein kinaz C (PKC)- α ve kazein kinaz II, STAT5'i aktive eden serin/treonin kinazlar olarak öngörülmüştür (Beadling ve ark., 1996). Ancak son zamanlarda yapılan çalışmalar, STAT5'in gen transkripsiyonunun düzenlenmesinde inhibitör olarak rol oynayabileceğini göstermektedir (Luo ve Yu-Lee, 1997).

2.2.2.4.2. The Ras/Raf/MAP İletim Yolağı

Her ne kadar Jak/STAT yolağı prolaktin reseptörün aktivasyonu için önemli olsa da, mitojen-aktive eden protein (MAP) kinaz basamaklarının aktivasyonunu da etkilemektedir (Piccoletti ve ark., 1994; Buckley ve ark., 1994; Clevenger ve ark., 1994;

Erwin ve ark., 1995; Das ve Vonderhaar, 1995, 1996; Nohara ve ark., 1997; Nemeth ve ark., 1998). Her ne kadar başlangıçta Jak/STAT ve MAPK yolları bağımsız veya paralel olarak görülse de, bu yolların birlikte çalıştığını gösteren bulgular mevcuttur (Guerra ve ark., 1998).

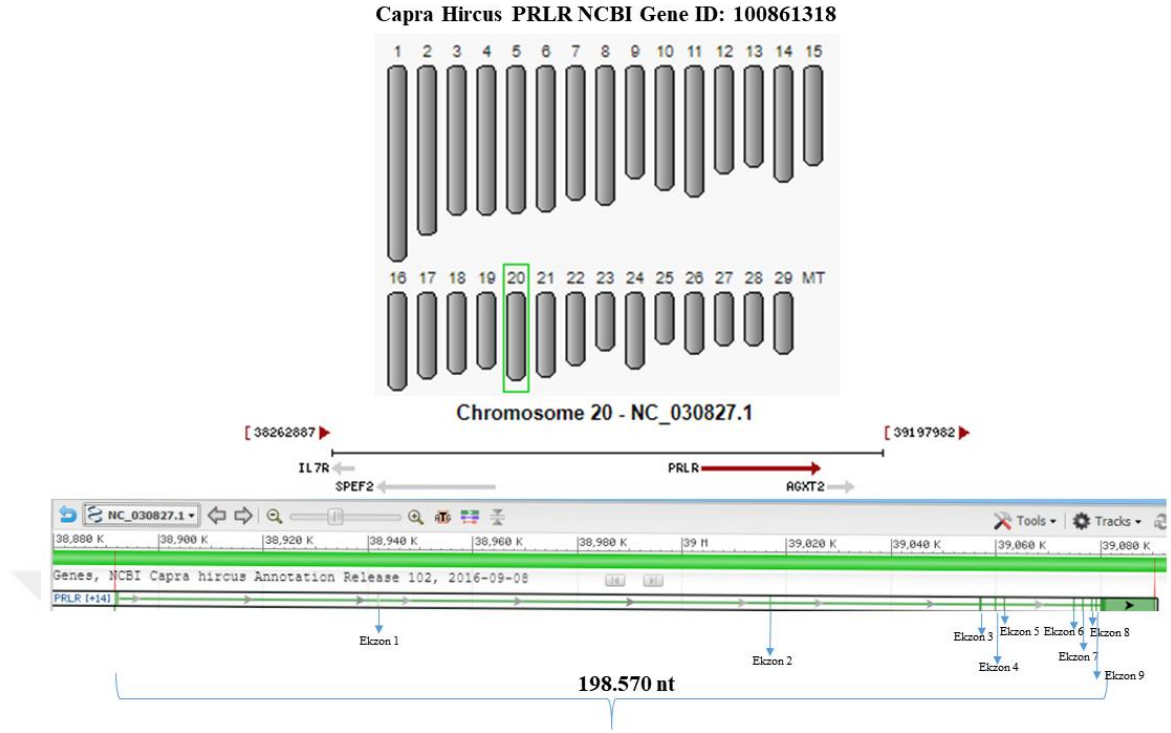
2.2.2.4.3. Diğer İletim Yolları

Diğer kinazlar: c-src ve Fyn; Son zamanlarda yapılan bazı çalışmalar Src kinaz familyası, c-src (Berlanga ve ark., 1995; Campbell-Burk ve Carpenter, 1995; Sorensen ve Sheffield, 1997) ve Fyn (Al-Sakkaf ve ark., 1997) üyelerinin prolaktin kaynaklı aktivasyonu olduğunu göstermektedir. Son zamanlarda, insülin reseptörü substrat-1'in (IRS-1) ve fosfatidilinositol (PI) 3'-kinazın (Berlanga ve ark., 1997; Ratovondrahona ve ark., 1998; Baeuerle, 1998) bir alt ünitesinin prolaktin kaynaklı hızlı şekilde tirozin fosforilasyonunu gerçekleştirdiğini göstermektedir. Bununla birlikte, hem IRS-1 hem de PI 3'-kinazın prolaktin reseptör kompleksi ile ilişkili olduğu görülmektedir. PI 3'-kinazın prolaktin kaynaklı aktivasyonun Fyn aracılığıyla olduğu ileri sürülmüştür (Al-Sakkaf ve ark., 1997).

PRLR geninin farklı çiftlik hayvanı türlerinde farklı verim özellikleri için bugüne kadar yapılan birçok çalışma mevcuttur. Yapılan çalışmalarda aşağıda literatür özeti verilecek olan süt verimi üzerine etkilerinin yanı sıra keçilerde kaşmir lif ağırlığı ve çapı (Zhou ve ark., 2011), döl verimi (Zhang ve ark., 2007; Li ve ark., 2010; Di ve ark., 2011; Wu ve ark., 2014; Hou ve ark., 2014a; Li ve ark., 2011a; 2011b; An ve ark., 2015; Ji ve ark., 2016); koyunlarda döl verimi (Chu ve ark., 2007; Gao ve ark., 2015), meme bezi gelişimi ve farklılaşması (Cassy ve ark., 1998), analık davranışı (Wang, 2015), emme davranışı (Wang ve ark., 2015); sığırlarda fertilizasyon oranı ve embriyoların yaşama gücü (Khatib ve ark., 2009; Huang ve ark., 2009), canlı ağırlık, günlük ortalama canlı ağırlık artışı, vücut yüksekliği ve uzunluğu, boyun genişliği, kalp çevresi (Lü ve ark., 2011a); atlarda östrus başına gebelik oranı (Giesecke ve ark., 2010); domuzlarda ilk östrus yaşı, puberta yaşı, pubertada ulaştığı canlı ağırlık, plasenta ağırlığı ve etkinliği (Van Rens ve Lende, 2002), üreme organlarının gelişimi (Zhang ve ark., 2002), döl verimi (Drogemuller ve ark., 2001; Kmiec ve Terman, 2004; Mihailov ve ark., 2014), toplam ve canlı doğan yavru sayısı, sütten kesilen yavru sayısı (Putnova ve ark., 2002; Xu ve ark., 2003; Terman, 2005; Olmeka ve ark., 2008; Wang ve ark., 2008; Sun ve ark., 2009;

Rempel ve ark., 2010; Tempfli ve ark., 2011), dişi doğum ağırlığı (Xu ev ark., 2003), ejakülat volümü, sperm konsantrasyonu, canlı sperm yüzdesi ve sayısı (Kmieć ve Terman, 2006), meme sayısı (Putnova ve ark., 2002), anne davranış özellikleri (Cui ve ark., 2007), memeyi ilk emme zamanı (Tomas ve ark., 2006), meme bezi gelişimi (Palin ve ark., 2004), kabuk yağı kalınlığı, yarım karkas ağırlığı, longissimus dorsi kas uzunluğu, yağsız et içeriği (Mihailov ve ark., 2014) arasında ilişki bulunurken, gebelik süresi ve meme fonksiyonu (Van Rens ve Lende, 2002) üzerine etkisinin olmadığı bildirilmiştir. Kanatlılarda ise kuluçka özellikleri, kuluçka zamanı, erken yumurta verimi, ortalama yumurta ağırlığı (Dunn ve ark., 1998; Jiang ve ark., 2005; Hong ve ark., 2007; Rashidi ve ark., 2012; Du ve ark., 2013), yıllık yumurta verimi (Chen ve ark., 2012), ilk yumurtlama yaşı (Liu ve ark., 2012), eşeysel olgunluk yaşı (Rashidi ve ark., 2012); farelerde fetüs gelişimi ve plasental laktojen (Tzeng ve Linzer, 1997; Ogren ve Talamantes, 1998), meme bezi gelişimi, uterus içi implantasyon ve üreme anomalileri, düzensiz sikluslar, implantasyon öncesi yetersiz embriyo gelişimi, yalancı gebelik (Ormandy ve ark., 1997), LH reseptör ekspresyonu ve progesteron seviyesi (Grosdemouge ve ark., 2003) ve analık davranışı (Lucas ve ark., 1998) üzerine etkisinin olduğu bildirilmiştir.

PRLR geni sitogenetik lokasyonu sığır ve keçilerde 20. kromozom üzerinde yer almaktadır (Hayes ve ark., 1996). PRLR geni kromozom yeri ve gen yapısı Şekil 2.8.'de sunulmuştur.



Şekil 2.8. PRLR geni kromozom yeri ve gen yapısı

Keçi PRLR geninin nükleotid dizisinin NCBI (Gene ID: 100861318) veri bankasında 198.570 nükleotid, dokuz ekzon ve sekiz introndan oluştuğu bildirilmiştir. POU1F1 geni NCBI veri bankasında NC_030827.1 nolu erişim numarası ile 38.891.738 ve 39.090.307. nükleotidler arasında olup ekzon 1, 125.196-125.237 bç; ekzon 2, 165.310-165.397 bç; ekzon 3, 168.168-168.300 bç; ekzon 4, 169.943-170.112 bç; ekzon 5, 183.114-183.283 bç; ekzon 6, 184.918-185.059 bç; ekzon 7, 186.688-186.787 bç; ekzon 8, 187.471-187.540 bç ve ekzon 9 ise 188.338-189.228 baz çiftleri arasında yer almaktadır.

2.2.3. PRLR Geninin Süt Verim Özellikleri Üzerine Etkisi

Zhang ve ark. (2008), Çin’de yetiştirilen Holştayn ırkı sığırlarda PRLR geni ile süt verim özellikleri arasındaki ilişkiyi PCR-SSCP ve sekanslama yaparak incelemişlerdir. Çalışmada PRLR geninin ekzon 3 bölgesinde iki ve ekzon 7 bölgesinde üç allel tanımlamışlardır. PRLRE3 lokusunda A ve B allel frekansları sırasıyla 0.57 ve 0.43, AA, AB ve BB genotip frekansları 0.48, 0.18 ve 0.34; PRLRE7 lokusunda ise A, B ve C allel frekansları 0.06, 0.76 ve 0.18, AA, AB, AC, BB, BC ve CC genotip frekansları ise 0.02,

0.08, 0.01, 0.56, 0.32 ve 0.01 olarak hesaplamışlardır. PRLRE3 ve PRLRE7 lokuslarında genotipler arasındaki farklılığın süt verimi ($P<0.01$) ve yağ yüzdesi ($P<0.05$) üzerine etkisinin istatistiksel olarak önemli olduğunu tespit etmişlerdir. PRLRE3 lokusunda AB genotipi ve PRLRE7 lokusunda BB genotipine sahip hayvanlar en yüksek süt verimine sahip iken, süt yağ yüzdeleri bakımından PRLRE3 lokusunda AA genotipi ve PRLRE7 lokusunda ise BB genotipine sahip bireylerin daha yüksek değere sahip olduğunu gözlemlemişlerdir. Çalışmada genotip kombinasyonları incelendiğinde ABBB genotipine sahip bireylerin süt verimi ve yağ yüzdesi bakımından en yüksek performansı gösterdiklerini bildirmişlerdir.

Zidi ve ark. (2010), Malaguena ve Murciano-Granadina keçilerinde PRLR geninin ekzon 2 ile ekzon 9 arasında 1.5 kb uzunluğundaki bölgenin süt verim ve kompozisyonu arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. Çalışmada c.177T>C (ekzon 3), c.1131G>A (ekzon 9), c.1201G>A (ekzon 9) ve c.1355C>T (ekzon 9) olmak üzere 4 farklı SNP tespit etmişlerdir. c.177T>C lokusunda CC, CT ve TT genotip frekansları sırasıyla %0.48, %9.86 ve %89.66; c.1131G>A lokusunda AA, AG ve GG genotip frekansları %3.19, %20.05 ve %76.76; c.1201G>A lokusunda AA, AG ve GG genotip frekansları %3.39, %20.10 ve %76.51; c.1355C>T lokusunda ise TT, CT ve CC genotip frekansları %0.00, %8.33 ve %91.67 olarak saptamışlardır. Bununla birlikte c.1131G>A-c.1201G>A ve c.177C>T-c.1355C>T polimorfizmleri arasında kuvvetli bir bağlantı bulunmuştur. Çalışma sonucunda incelenen lokuslar ile süt verimi, süt yağı, laktoz, protein ve kuru madde içeriği arasında herhangi bir ilişki bulunamazken, süt yağ asitlerinden palmitoleik asit içeriği üzerine c.1201G>A ($P=0.007$) ve c.1355C>T ($P=0.025$) lokuslarının istatistiki olarak önemli etkilerinin olduğunu bildirmişlerdir.

Lü ve ark. (2011b), Çin’de yetiştirilen Holştayn ırkı sığırlarda PRLR geninin ekzon 10 bölgesinin süt verim özellikleri ile ilişkisini PCR-SSCP ve DNA sekanslama yöntemi ile incelemişlerdir. İncelenen lokusta iki farklı nükleotid değişimine (g.9206G>A, g.9681C>T) rastlamışlardır. g.9206G>A transisyonu sonucu Glu>Lys ve g.9681C>T transisyonu sonucu ise Ala>Val aminoasit değişimlerinin meydana geldiğini saptamışlardır. g.9206G>A lokusunda 46 bireyde AG, 211 bireyde GG genotipine rastlanmış ancak AA genotipine rastlanmamıştır. g.9681C>T lokusunda ise 186 birey CT heterozigot, 71 birey CC homozigot iken TT homozigot genotip gözlemlenmemiştir. Üzerinde çalışılan Holştayn popülasyonunun g.9206G>A ve g.9681C>T lokusları için de

dengede olduğunu tespit etmişlerdir ($P<0.05$, $P<0.01$). 305 günlük laktasyon süt verimi incelendiğinde, popülasyonda GG ve CC genotipine sahip hayvanların AG ve CT genotiplerine göre yaklaşık 600 kg daha yüksek süt verimine sahip olduklarını gözlemlemişlerdir ($P<0.01$). Süt yağ ve protein yüzdeleri göz önüne alındığında AG genotipine sahip bireylerin GG genotipine göre daha yüksek değere sahip olduğu ($P<0.05$), ancak CT genotipine sahip bireylerde bu parametre CC genotipine göre her ne kadar yüksek olsa da genotipler arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığını bildirmişlerdir. Bununla birlikte genotip kombinasyonları analiz edildiğinde ise GGCC, AGCC ve GGCT genotipine sahip hayvanların süt verimi ve süt yağ içeriği bakımından AGCT genotipine göre çok yüksek değerlere sahip olduğunu ve GGCC genotipinin kombinasyonlar arasında en üstün süt verimine sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Shi ve ark. (2012), Murrah, Nili-Ravi, Çin ve Murrah-Nili mandaları üzerinde yürüttükleri çalışmada PRLR geninin ekzon 3 bölgesindeki S18N mutasyonunu incelemişlerdir. Çin mandalarında PRLR-ekzon 3 fragmentinde 43. nükleotitte bir SNP (C/T) tespit etmişler ve çalışmaya konu olan tüm manda ırklarında S18N mutasyonunda aminoasit değişimine ve süt sığırlarında düşük süt verimine neden olan N allelini gözlemlemişlerdir.

Manjarin ve ark. (2012), domuzlar üzerinde yürüttükleri çalışmada mRNA miktarını belirlemek amacıyla meme parankim dokularından doğum öncesinde, laktasyonun 5. ve 17. günlerinde, süttten kesim sonrasında doku örnekleri biyopsi ile alınarak qPCR yöntemi ile incelemişlerdir. mRNA miktarı doğum öncesi dönem ile kıyaslandığında laktasyonun 5. gününde azaldığını ancak 17. günde arttığını tespit etmişlerdir ($P<0.001$). Süttten kesimden sonra ise laktasyonun 17. gününe kıyasla mRNA miktarının daha az olduğunu saptamışlardır ($P<0.001$). Çalışma sonucunda ortaya çıkan bu farklılıkların PRLR ekspresyon seviyesi ile süt protein mRNA miktarı arasında herhangi bir korelasyon olmadığını ve mRNA miktarındaki artışın her zaman sentezlenen protein artışına sebep olamayacağını bildirmişlerdir.

Hou ve ark. (2013), Çin’de yetiştirilen Saanen ve Guanzhong ırkı keçilerde PRLR geninin protein kodlayan bölgelerini DNA sekanslama, PIRA-PCR ve PCR-RFLP yöntemi ile incelemişlerdir. İnceledikleri intron 2’de g.40452T>C, g.40471G>A ve ekzon 9’da g.61677G>A (Ser485Asn), g.61865G>A (Val548Met) olmak üzere 4 farklı SNP tespit etmişlerdir. g.40452T>C lokusu için Saanen keçilerinde TT genotipine sahip

bireylerin birinci laktasyonda, Guanzhong keçilerinde ise üçüncü laktasyonda daha yüksek süt verimine sahip oldukları gözlemlenmiştir ($P<0.05$). g.61677G>A lokusunda her iki ırk için GG genotipine sahip bireylerin üçüncü laktasyonda daha yüksek süt verimine sahip olduğunu tespit etmişlerdir ($P<0.05$). g.61865G>A lokusu için ise Saanen keçilerinde GG genotipine sahip bireylerin ikinci laktasyonda, Guanzhong keçilerinde ise üçüncü laktasyonda daha yüksek süt verimine sahip olduğunu bildirmişlerdir ($P<0.05$).

Hou ve ark. (2014b), Çin’de yetiştirilen Saanen, Guanzhong ve Boer ırkı keçiler üzerinde yürüttükleri çalışmada PRLR geninin 3’UTR bölgesinde P1 ve P2 lokuslarını RsaI restriksiyon enzimi kullanarak PCR-RFLP yöntemi ile incelemişlerdir. Çalışmada P2 lokusunda g.62130C>T polimorfizmini saptamışlardır. Popülasyonlarda C ve T allel frekansları ile CC, CT genotip frekanslarını Saanen ırkında sırasıyla 0.83, 0.17 ve 0.687, 0.313; Guanzhong ırkında 0.87, 0.13 ve 0.736, 0.264; Boer ırkında ise 0.79, 0.21 ve 0.586, 0.414 olduğunu tespit etmişlerdir. Elde edilen PIC değerlerinin ise üç ırk için de 0.20-0.27 arasında değiştiğini ve popülasyonların Hardy-Weinberg dengesinde olmadığını gözlemlemişlerdir ($P<0.05$). Çalışma sonucunda g.62130C>T lokusunda Saanen ve Guanzhong keçilerinde CC genotipine sahip hayvanların daha yüksek süt verimine sahip olduklarını bildirmişlerdir ($P<0.05$).

Fontanesi ve ark. (2014), İtalya’da yetiştirilen 800 baş Holştayn ırkı sığır üzerinde 25 aday gen içerisinde toplam 58 SNP tespit edilmiştir. PRLR geninin promotor bölgesinde (rs42321611) tespit edilen tek nükleotid polimorfizminin süt verimi, yağ verimi, protein verimi ve sütteki protein yüzdesini artırdığını; somatik hücre sayısı, ekonomik ömür indeksi, doğurganlık indeksi üzerine etkisinin ise negatif olduğunu ancak sütteki yağ yüzdesi üzerine bir etkisinin olmadığını bildirmişlerdir.

Cecchinato ve ark. (2014), İtalya’da yetiştirilen ve 85 farklı sürüden toplamda 1271 baş Brown Swiss ırkı sığır üzerinde yürüttükleri çalışmada Illumnia GoldenGate Assay kitini kullanarak genotipleme yapmışlardır. Çalışmada inceledikleri 54 gen içerisinde toplam 96 SNP tespit edilmiş ancak 44 gen bölgesinde toplamda 76 SNP üzerinde başarılı bir şekilde genotipleme yapabilmişlerdir. Yapılan çalışmada genler içerisinde PRLR geninde tespit edilen tek nükleotid polimorfizminin (rs109428015) Brown Swiss ırkı sığırlarda süt verimi üzerine etkisinin olduğunu bildirmişlerdir.

Pausch ve ark. (2015), Almanya’da yetiştirilen Holştayn ve German Fleckvieh sığırlarında tüm genomu sekanslayarak süt üretimini ve kompozisyonunu kontrol ettiği

tahmin edilen GHR (p.F279Y), PRLR (p.S18N), DGAT1 (p.A232K) ve PROP1 (p.H173R) mutasyonlarını incelemişlerdir. PRLR gen bölgesinde gerçekleşen p.S18N mutasyonunun German Fleckvieh sığırlarında yağ ve süt verimi üzerine etkisinin istatistiksel anlamda önemli olduğunu ($P<0.05$) ancak Holştayn sığırları üzerinde bir etkisinin olmadığını bildirmişlerdir.

Skrzypczak ve ark. (2015), domuzlar üzerinde ekzon 8 bölgesinde 483 bp uzunluğundaki PRLR lokusunda c.1528A>T polimorfizminin sütün kimyasal kompozisyonu ve pH'ı üzerine etkisini PCR-RFLP yöntemi ile NcoI kesim enzimi kullanarak incelemişlerdir. Ekzon 8 bölgesinde meydana gelen c.1528A>T polimorfizminin aminoasit değişikliğine yol açtığını tespit etmişlerdir (p.Met510Leu). Popülasyonda A ve T allel frekanslarını sırasıyla 0.694 ve 0.306; AA, AT ve TT genotip frekanslarını ise 0.495, 0.398 ve 0.107 olduğunu saptamışlardır. PRLR/NcoI polimorfizminin ikinci laktasyondaki TT genotipine sahip hayvanlarda sadece laktasyonun 21 ve 28. günlerinde sütteki kuru madde içeriğinin yüksek olduğunu gözlemlemişlerdir ($P<0.05$). Benzer şekilde yine TT genotipine sahip hayvanların birinci laktasyonun 1. ve 14. günlerinde, ikinci laktasyonun ise 1, 3 ve 7. günlerinde protein içeriğinin yüksek olduğunu saptamışlardır ($P<0.05$). Sütteki yağ içeriği bakımından birinci laktasyonun ilk gününde ve ikinci laktasyonun 7. gününde AA genotipine sahip hayvanların ($P<0.05$), ikinci laktasyonun 3. gününde ise TT genotipine sahip hayvanların yağ içeriklerinin yüksek olduğunu bildirmişlerdir ($P<0.01$).

Morammazi ve ark. (2016), İran'da yetiştirilen Adani keçi popülasyonlarında laktasyonun farklı dönemlerinde meme bezlerindeki PRLR gen ekspresyon seviyelerini incelemişlerdir. Çalışmada süt verimi yönünde hayvanların damızlık değeri çok özellikli şansa bağlı regresyon modeli kullanılarak tahmin edilerek, damızlık değeri düşük (LBV) ve yüksek (HBV) olmak üzere hayvanlar iki gruba ayrılmıştır. Meme bezi örnekleri doğum öncesi, sağım dönemi ve kuru dönemdeki hayvanlardan biyopsi ile alınmıştır. Meme bezlerinden alınan örneklerdeki PRLR geninin transkripsiyon seviyesi qRT-PCR ile analiz edilmiş ve damızlık değeri, örnekleme zamanı ve birbirleriyle olan interaksiyonlarını incelemişlerdir. Kuru dönemdeki hayvanların meme bezlerindeki mRNA transkripsiyon seviyesinin doğum öncesi ve sağım dönemleri ile kıyaslandığında istatistiksel açıdan önemli derecede yukarı regülasyon gösterdiği tespit edilmiş ancak sağım dönemindeki ekspresyon seviyesinin doğum öncesi ile kıyaslandığında ise aşağı

regülasyon gösterdiğini gözlemlemişlerdir ($P<0.01$). Sağım döneminde LBV ve HBV grupları arasında gen ekspresyon seviyeleri arasındaki farklılığın istatistiki açıdan önemli olduğunu ve LBV grubunda mRNA transkripsiyon seviyesinin daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir ($P<0.01$).

Diler ve Turgut (2016), Siyah Alaca sığırları üzerinde yaptıkları çalışmada PRLR gen ekspresyon seviyesinin süt bileşenleri üzerine etkisini RT-PCR yöntemi ile incelemişlerdir. PRLR gen ekspresyon seviyesi arttıkça süt verimi artışına bağlı olarak %yağ oranında bir düşüş olduğunu ve farklılıkların istatistiksel açıdan önemli olduğunu gözlemlemişlerdir ($P<0.05$). Bununla birlikte ekspresyon seviyesinin artışına bağlı olarak günlük protein veriminin arttığını gözlemlemişlerdir ($P<0.01$). Çalışma sonucunda PRLR gen ekspresyon seviyesinin süt verimi ile ilişkisinin istatistiksel anlamda önemli olmadığını ancak süt verimi üzerine pozitif bir etkisinin olduğunu ve yüzde protein oranını ise etkilemediğini bildirmişlerdir.

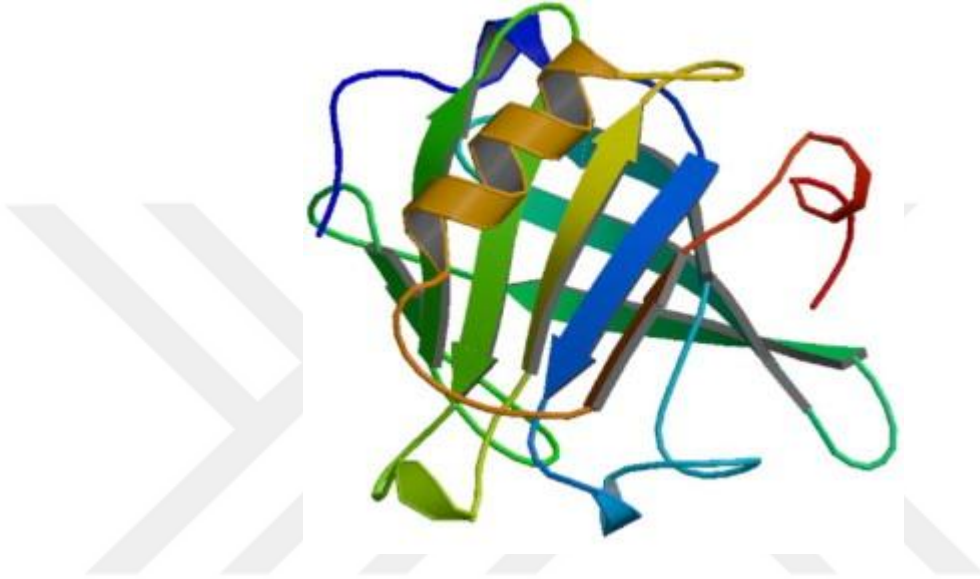
Cosenza ve ark. (2018), İtalyan mandaları üzerinde yaptıkları çalışmada PRLR genine ait ekzon 3 ve ekzon 10 arasındaki bölgeyi sekanslamışlardır. Sekanslama sonucunda intronlarda 24 ve ekzonlarda 13 adet SNP tespit etmişlerdir. Bununla birlikte ekzon 10'un 3'UTR bölgesinde 1102 ve 1103 nükleotidleri arasında CACTACC delesyonuna rastlamışlardır. Ekzon 10 bölgesindeki g.11188A>G polimorfizminin aminoasit değişimine (p.His328Arg) sebep olduğunu ve yapılan genotipleme sonucunda ise AA genotipine sahip hayvanlardan elde edilen sütlerin çoklu doymamış yağ asidi içeriği bakımından daha zengin olduğunu bildirmişlerdir ($P<0.05$).

2.3. β -LAKTOGLOBULİN Geni

2.3.1. β -laktoglobulin Gen Yapısı ve İşlevi

β -laktoglobulin, ruminant sütlerinde bulunan peynir altı suyu proteindir (Mercier ve Violette, 1993). Bu protein, hidrofobik molekül taşıyıcılarının veya lipokalinlerin üst ailesinin bir üyesidir (Flower, 1996). Ruminant sütlerinde, bu protein türler arasında farklılık gösteren allel varyantlarının sayısı ile birlikte bir dimer olarak bulunmaktadır. β -laktoglobulin (β -LG) protein alt birimi, 162 polipeptide karşılık gelen yaklaşık 18.000 Da moleküler ağırlığa sahiptir (Perez ve Calvo, 1995; Flower, 1996). β -laktoglobulin proteininin birçok varyantı olmakla birlikte yaygın olarak A varyantının varlığı karşımıza

çıkmaktadır. β -laktoglobulinin dördüncül yapısı pH'a bağlı olarak değişmektedir. pH 5.2 ile 7 arasında iken yaklaşık 36.700 Da'lık bir moleküler ağırlığa sahip bir dimer olarak; pH 3.5 ile 5.2 arasında iken yaklaşık 140.000 Da'lık bir moleküler ağırlığa sahip bir oktamer olarak ve pH 3.0 veya 8.0'in üzerinde iken ise 18.277 Da moleküler ağırlığına sahip monomer halinde bulunmaktadır. (Madureira ve ark., 2007). β -laktoglobulinin'in monomer yapısı Şekil 2.9.'da sunulmuştur (Kuwata ve ark., 1999).



Şekil 2.9. β -laktoglobulinin monomer yapısı

β -laktoglobulinin işlevi henüz tam olarak anlaşılamamakla birlikte sütte yağ asitleri ve retinol taşınması ile ilgili olduğu düşünülmektedir (Perez ve Calvo, 1995; Flower, 1996). β -laktoglobulinin pasif bağışıklığı yenidoğana aktardığı, meme bezindeki fosfor metabolizmasını düzenlediği (Farrell ve ark., 1987) ve yeni doğanlar için önemli bir aminoasit kaynağı olduğu bilinmektedir (Kontopidis ve ark., 2004). Glutasyon sentezinde önemli bir aminoasit olan sistein bakımından zengin olduğundan dolayı kas büyümesini teşvik ettiği düşünülmektedir (Wit, 1998). β -laktoglobulin retinol, yağ asitleri, D vitamini, kolesterol, aromatik bileşikler ve triasilgliseroller gibi küçük hidrofobik ligandlara bağlanarak bu moleküllerin taşıyıcısı olarak kullanılabilir (Madureira ve ark., 2007). Isı ile kararsızlaştırıldığında ise β -laktoglobulin güçlü jeller oluşturmakla beraber peynir altı suyu proteini konsantrasyonlarının ve izolatlarının jel oluşturu özelliklerinden sorumlu ana proteinlerden biri olarak rol oynamaktadır (Mulvihill ve Kinsella, 1987).

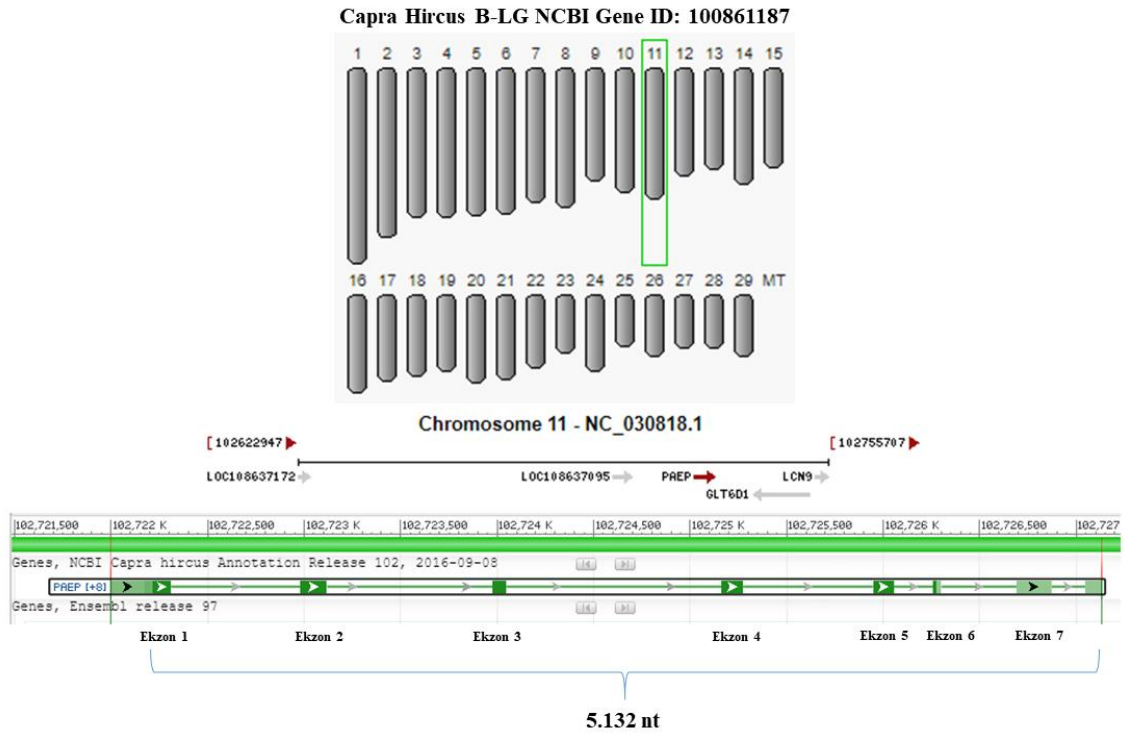
β -laktoglobülini kodlayan gen, laktasyon sırasında özellikle meme bezinde yüksek oranda olarak eksprese edilmektedir (Mercier ve Violette, 1993). β -laktoglobülinin ekspresyonu karmaşık bir hormonal mekanizmayla düzenlenmektedir. Ana laktojenik uyarıcı, fosforilasyon ve STAT5 transkripsiyon faktörünün aktivasyonu ile biten bir sitoplazmik sinyal aşamalarını içeren ve β -laktoglobulin gen ekspresyonunu aktive eden prolaktindir (Burdon ve ark., 1994; Demmer ve ark., 1995). Koyunlarda, β -laktoglobulin gen ekspresyonunun aktivasyonunda promotör bölgesini çevreleyen kromatin yapısındaki değişiklikler eşlik etmektedir (Whitelaw ve Webster, 1998). Özellikle, laktasyonun son dönemlerinde meydana gelen ekspresyonda ilk büyük artıştan önce promotörün hemen aşağı yönünde güçlü bir DNaseI yıkımına aşırı duyarlı bölge (HS) tespit edilmiştir. Ardından, artan ekspresyonla birlikte bu intronik HS kaybolur ve proksimal promoter bölge DNaseI yıkımına karşı aşırı duyarlı bir hale gelir. Bu süreç laktasyon boyunca yüksek miktarda protein eksprese edilirken devam etmektedir (Pena ve ark., 1998).

Keçiler ve koyunlar çok yakından ilişkili ruminant türleridir. Keçi β -laktoglobülin geni yapısal olarak ekzonların büyüklüğü ve iyi korunmuş intronların varlığı açısından koyun genomuna çok benzemektedir. Keçi ve koyun β -laktoglobulin geni arasındaki nükleotidik benzerlik, olgun protein kodlama bölgesinde %98.8 ve intronlarda ise %95.6 oranda olup oldukça yüksektir (Folch ve ark., 1994). Proksimal 5' flanking bölgelerindeki dizi arasındaki benzerlik de %96 oranında olup oldukça benzerdir. Özellikle, STAT5 (Watson ve ark., 1991) transkripsiyon faktörü için üç bağlanma bölgesi, keçi ve koyun arasında tam bir kimlik göstermektedir (Folch ve ark., 1994). Bu iki tür arasında var olan benzerliklere rağmen, bu proteinin farklı seviyeleri evrimsel olarak ilişkili ruminant türlerinin sütlerinde bulunmaktadır. Koyun sütü, keçi sütünden üç kat daha fazla β -laktoglobulin proteini içermektedir (Simons ve ark., 1987; Perez ve ark., 1990; Hambling ve ark., 1992). Transkripsiyon faktörlerinin kendi bağlanma bölgelerine erişimini kolaylaştırmak için bir geni içeren kromatin genellikle transkripsiyonel olarak aktive edildiğinde yeniden düzenlenmektedir. Özellikle transkripsiyonel kontrol mekanizmasında görev alan elemanlar ile ilişkili bölgeler DNaseI yıkımına aşırı duyarlılık göstermektedir (Elgin, 1998). Bunun aksine, kromatinin DNaseI ile yıkımı, aşırı duyarlı bölgelerin (HS) mevcudiyetine ve dolayısıyla gen regülasyonunda yer alabilecek bölgelerin bulunup bulunmamasına olanak tanımaktadır (Pena ve ark., 1998).

Bir geni içeren kromatin, genellikle o genin ekspresyon durumunu yansıtmaktadır. Genellikle, destekleyici bölge ile ilişkilendirilen farklı bir DNaseI HS paterninde ortaya çıkmakta ve transkripsiyon kompleksi oluşumunu veya nükleozomun yeniden yapılanmasını yansıttığı varsayılmaktadır (Elgin, 1998). Laktasyondaki koyunlarda kromatin spesifik bir DNaseI HS seti sergilemektedir (Whitelaw ve ark., 1992; Whitelaw ve Webster, 1998). Spesifik olarak, proksimal promotör kuvvetli bir şekilde aşırı duyarlı (HSIII) iken daha zayıf bir bölge 2.1 Kb'de (HSI) bulundurmaktadır (Pena ve ark., 1998).

β -laktoglobulin geninin farklı çiftlik hayvanı türlerinde farklı verim özellikleri için bugüne kadar yapılan birçok çalışma mevcuttur. Yapılan çalışmalarda aşağıda literatür özeti verilecek olan süt verimi üzerine etkilerinin yanı sıra süt kompozisyonu ve peynir yapım özellikleri (Ng-Kwai ve Grosclaude, 1992; Garzon ve Martinez, 1992; Hill, 1993; Mackle ve ark., 1999; Auldust ve ark., 2000), pıhtılaşma süresi ve peynir verimi (Lopez-Galvez ve ark., 1993, 1994, 1998), süt kalitesi (Lunden ve ark., 1997; Yang ve ark., 2012), yağ, protein ve laktoz içeriği (Giaccone ve ark., 2000; Mroczkowski ve ark., 2004; Ramos ve ark., 2009; Corral ve ark., 2010; Yousefi ve ark., 2013a), peyniraltı suyu protein yüzdesi (Dario ve ark., 2005, 2008), kazein içeriği (Martinez ve ark., 1993) üzerinde etkili olduğu ifade edilirken, bazı araştırmacılar ise incelenen özellikler ile ilgili gen arasında herhangi bir ilişki bulamadıklarını bildirmişlerdir (Lopez-Galvez ve ark., 1994; Recio ve ark., 1997; Nudda ve ark., 2003; Mele ve ark., 2007; Kawecka ve Radko, 2011). Bununla birlikte β -laktoglobulin geninin koyunlarda et evrimi, kaba karışık yapağı, ince yapağı ve deri üzerine etkisini konu alan birçok çalışma da mevcuttur (Arora ve ark., 2010; Elyasi ve ark., 2010; El-Shazly ve ark., 2012; Yousefi ve ark., 2013a; Jyotsana ve ark., 2014).

β -LG geni sitogenetik lokasyonu sığır ve keçilerde 11q28, koyunlarda ise 3p28 pozisyonunda yer almaktadır (Hayes ve Petit, 1993). PRLR geni kromozom yeri ve gen yapısı Şekil 2.10.'da sunulmuştur.



Şekil 2.10. β -laktoglobulin geni kromozom yeri ve gen yapısı

Keçi β -LG geninin nükleotid dizisinin NCBI (Gene ID: 100861187) veri bankasında 5.132 baz çiftinden, yedi ekzon ve altı introndan oluştuğu bildirilmiştir. POU1F1 geni NCBI veri bankasında NC_030818.1 nolu erişim numarası ile 102.722.000 ve 102.727.131. nükleotidler arasında olup ekzon 1, 177-312 bç; ekzon 2, 980-1119 bç; ekzon 3, 1.976-2.049 bç; ekzon 4, 3.165-3.275 bç; ekzon 5, 3.950-4.055 bç, ekzon 6, 4.262-4.302 ve ekzon 7, 4.692-4.869 baz çiftleri arasında yer almaktadır.

2.3.2. β -laktoglobulin Geni Süt Verim Özellikleri Üzerine Etkisi

Prinzenberg ve Erhardt (1999), Almanya’da yetiştirilen Merinos ırkı koyunlar üzerinde yaptıkları çalışmada β -laktoglobulin geninin ekzon 5, intron 5 bölgesinde G/A transisyonunu tespit etmişlerdir. İlk mutasyon MspI kesim bölgesinin 148. pozisyonundaki Arg/Gln mutasyonu sonucu oluşmuş ve değişim sonucu C alleli için AluI kesim enzimi ile tespit edilebileceğini ortaya koymuşlardır. Yine C alleli için tespit edilen ikinci nükleotid değişimi ise intron 5 bölgesinde MspI kesimi sonucu ortaya çıkmıştır. Çalışma sonucunda mutasyonların bağlantılı olup sadece C allele özgü olduklarını ve popülasyonda nadir görülen bu allelin ileriki çalışmalara ışık tutacağını bildirmişlerdir.

Pena ve ark. (2000), Fransa ve İspanya keçi ırkları üzerinde yürüttükleri çalışmada β -laktoglobulin geninin ekzon 7 bölgesini PCR-RFLP metoduyla SacII restriksiyon enzimi kullanarak incelemişlerdir. Çalışma sonucunda İspanya keçi ırklarında S₁I₂, S₂I₂ ve S₂I₃ genotip frekanslarını sırasıyla 0.703, 0.226 ve 0.071; Fransa keçi ırklarında ise yine aynı sıra ile 0.687, 0.313 ve 0.0 olarak tespit etmişlerdir.

Mroczkowski ve ark. (2004), Polonya'da yetiştirilen 207 baş Merinos koyununda β -laktoglobulin gen polimorfizminin süt verimi, süt yağı oranı, süt protein yüzdesi, laktoz oranı ve kuru madde özellikleri üzerine etkisini incelemişlerdir. Çalışmada A ve B allel frekanslarını sırasıyla 0.498 ve 0.502; AA, AB ve BB genotip frekanslarını ise 0.251, 0.493 ve 0.256 olarak tespit etmiş ve popülasyonun bu lokus için Hardy-Weinberg dengesinde olduğunu saptamışlardır. Çalışmada BB genotipine sahip hayvanların incelenen özellikler bakımından daha yüksek değerlere sahip olduğunu, ancak sadece protein yüzdesi bakımından genotipler arasındaki farklılığın istatistiksel anlamda önemli olduğunu bildirmişlerdir.

Ballester ve ark. (2005), 11 farklı keçi ırkı (Alpin, Saanen, Malaguena, Murciano-Granadina, Tinerfena, Palmera, Majorera, Teramana, Girgentana, Cashmere, Sahelian) üzerinde yürüttükleri çalışmada β -laktoglobulin geninde promotor, ekzon 1, ekzon 2, ekzon 3 ve ekzon 6 bölgelerini sekanslamışlardır. Sekanslama sonucunda 134., 118., 64. ve 60. pozisyonlarda sırasıyla T/G, T/C, A/G ve T/C polimorfizmlerini gözlemlemişlerdir. 134. pozisyonundaki T/G polimorfizmi Sahelian dışındaki ırklarda gözlemlenmiş ve T allel frekansının 0.03 ile 0.32 arasında değiştiği saptanmıştır. 118. pozisyonundaki T/C polimorfizmi ise Alpin, Saanen ve Malaguena ırkı keçilerde gözlemlenmiş ve T allel frekansının 0.02 ile 0.10 arasında değiştiği tespit edilmiştir. 64. pozisyonundaki A/G polimorfizmi incelendiğinde ise sadece İtalya keçi (Teramana, Girgentana) ırklarında A allel frekansının 0.05 ile 0.21 arasında, 60. pozisyonda gözlemlenen polimorfizmde ise T allel frekansının ise 0.03 ile 0.34 arasında değiştiğini bildirmişlerdir.

Chen ve ark. (2005), Çin'de yetiştirilen Xinong Saanen keçileri üzerinde yaptıkları çalışmada PCR-RFLP metodunu kullanarak β -laktoglobulin geninin süt verimi üzerine etkilerini incelemişlerdir. 5' flanking bölgesinde AA genotipine sahip hayvanların ikinci, üçüncü laktasyon ve ortalama süt verimlerinin AB genotipine sahip hayvanlara göre daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir ($P<0.05$).

Tsiaras ve ark. (2005), Holştayn ırkı sığırlar üzerinde β -laktoglobulin lokusunun süt ve üreme performansı üzerine etkilerini inceledikleri çalışmada süt verimi (AB>AA), yağ verimi (BB ve AB>AA), yağ yüzdesi (BB>AA ve AB) ve laktoz verimi (AB>AA) bakımından genotipler arasında istatistiki olarak önemli farklılıkların olduğunu tespit etmişlerdir ($P<0.05$). Bununla birlikte AB genotipine sahip hayvanların AA genotipine sahip olanlara göre daha yüksek protein verimine yatkın olduklarını, ancak incelenen lokusun protein ve laktoz yüzdesi üzerine istatistiksel anlamda önemli bir etkisinin olmadığını gözlemlemişlerdir.

Kumar ve ark. (2006), Hindistan'da yetiştirilen sekiz farklı keçi ırkında toplamda 1098 hayvan üzerinde β -laktoglobulin geninin ekzon 7 ile 3' flanking bölgesi arasında kalan 426 baz çifti uzunluğundaki bölgeyi SDS-PAGE ve PCR-RFLP metodu ile SacII restriksiyon enzimi kullanarak incelemişlerdir. Çalışmada, AA ve AB genotip frekanslarını sırasıyla Jamunapari keçilerinde 0.81 ve 0.19, Barbari keçilerinde 0.89 ve 0.11, Marwari keçilerinde 0.50 ve 0.50, Sirohi keçilerinde 0.80 ve 0.20, Jakhrana keçilerinde 0.84 ve 0.16, Beetal keçilerinde 1.00 ve 0.00, Local UP ırkında 0.98 ve 0.02, Local MP ırkında ise 0.95 ve 0.05 olarak tespit etmişlerdir. İncelenen lokusta S_1S_1 , S_1S_2 ve S_2S_2 genotiplerine rastlanmış ve S_2S_2 genotip frekansının farklı ırk popülasyonlarında 0.42 ile 1.00 arasında dağıldığını gözlemlemişlerdir. Çalışma sonucunda Jamunapari ve Barbari keçilerinde AA genotipine sahip hayvanların AB genotipine sahip olanlara göre daha yüksek süt verimine sahip olduklarını bildirmişlerdir ($P<0.01$).

Elmacı ve ark. (2006), Kıvırcık, Gökçeada ve Sakız koyunları üzerinde yürüttükleri çalışmada β -laktoglobulin geninde RsaI restriksiyon enzimi ile PCR-RFLP metodunu kullanmışlardır. Çalışmada A allel frekansının Kıvırcık, Gökçeada ve Sakız ırklarında sırasıyla 0.78, 0.76 ve 0.98 olduğunu; AA, AB ve BB genotip frekanslarının ise Kıvırcık koyunlarında 0.59, 0.38, 0.03, Gökçeada koyunlarında 0.55, 0.42, 0.03 ve Sakız koyunlarında 0.95, 0.05, 0.00 olduğunu tespit etmiş ve üç ırka ait popülasyonların Hardy-Weinberg dengesinde olduğunu bildirmişlerdir.

Elmacı ve ark. (2008), Saanen keçileri üzerinde β -laktoglobulin geninin ekzon 7 ile 3' flanking bölgesi arasındaki 426 baz uzunluğundaki bölgede SacII polimorfizmini PCR-RFLP yöntemi ile belirlemişlerdir. Popülasyonda S_1 ve S_2 allel frekanslarını sırasıyla 0.64 ve 0.36, S_1S_1 , S_1S_2 ve S_2S_2 genotip frekanslarını ise 0.43, 0.43 ve 0.14 olarak tespit

etmişlerdir. Çalışma sonucunda popülasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olduğunu bildirmişlerdir.

Sumantri ve ark. (2008), Endonezya’da yetiştirilen yerli koyun ırkları üzerinde β -laktoglobulin geninin ekzon 7 bölgesindeki 420 bç uzunluğundaki bölgeyi SSCP yöntemi ile incelemişlerdir. Çalışma sonucunda incelenen lokusun süt verimi ve süt kalitesi üzerine bir etkisinin olmadığını bildirmişlerdir.

Ramos ve ark. (2009), Portekiz’de yetiştirilen Serra da Estrela, Beyaz Merinos ve Siyah Merinos ırkı koyunlarda β -laktoglobulin geninin süt verim özellikleri ile ilişkisini PCR-RFLP metodu ile incelemişlerdir. Popülasyonda A, B, C allel frekanslarını Serra da Estrela, Beyaz Merinos ve Siyah Merinos koyun ırklarında sırası ile 0.62, 0.378, 0.002; 0.464, 0.535, 0.001 ve 0.391, 0.607, 0.001 olarak tespit etmişlerdir. Serra da Estrela ve Merinos koyunlarında AA genotipine sahip hayvanların daha düşük süt verimine sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Süt protein içeriği bakımından Serra da Estrela koyunlarında BB genotipine, süt yağ içeriği bakımından ise Merinos koyunlarında AA genotipine sahip bireylerin daha yüksek verime sahip olduklarını bildirmişlerdir.

Karimi ve ark. (2009), İran’da yetiştirilen Najdi sığırlarında β -laktoglobulin geni üzerindeki 247 bç uzunluğundaki bölge ile süt verim özellikleri arasındaki ilişkiyi HaeIII PCR-RFLP metodu ile incelemişlerdir. Üzerinde çalışılan lokus için A ve B allel frekanslarını 0.0875 ve 0.9125; AA, AB ve BB genotip frekanslarını ise sırasıyla 0.00, 0.175 ve 0.825 olarak tespit etmişlerdir. Popülasyonda BB genotipine sahip hayvanların süt yağ içeriği, AB genotipine sahip hayvanların ise süt verimi ve süt protein içeriği bakımından daha yüksek verime sahip olduklarını, ancak genotipler arasındaki bu farklılığın istatistiksel olarak önemli olmadığını bildirmişlerdir.

Heidari ve ark. (2009), İran’da yetiştirilen Holştayn ırkı sığırlarda β -laktoglobulin geni üzerindeki 247 bç uzunluğundaki bölge ile süt verim özellikleri ile ilişkisini HaeIII enzimi kullanarak PCR-RFLP yöntemi ile incelemişlerdir. A ve B allel frekanslarını sırasıyla 0.53 ve 0.47; AA, AB ve BB genotip frekanslarını ise 0.257, 0.544 ve 0.198 olarak tespit etmiş ve popülasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olduğunu saptamışlardır. Holştayn ırkı sığırlarda AA genotipine sahip hayvanların süt verimlerinin yüksek olduğunu ve genotipler arasındaki farklılığın istatistiksel olarak önemli olduğunu bildirmişlerdir ($P<0.01$).

Yardibi ve ark. (2009), Diyarbakır, Hatay ve Kars bölgelerinde yetiştirilen Güneydoğu Anadolu ve Doğu Anadolu Kırmızısı sığır ırkı üzerinde yürüttükleri çalışmada β -laktoglobulin geni üzerinde 854 bp uzunluğundaki bölgeyi PCR-RFLP metodu ile MspI, Sau3AI, AvaI ve RsaI restriksiyon enzimlerini kullanarak genotipleme yapmışlardır. Popülasyonda MspI, Sau3AI, AvaI ve RsaI lokuslarında B allel frekansının 0.25 ile 0.96 arasında değiştiğini tespit etmişlerdir.

El-Hanafy ve ark. (2010), Mısır'da yetiştirilen Barki, Damascus keçileri ve bu ırkların melezlerinde β -laktoglobulin geni ekzon 7 ve 3' flanking bölgesinde 426 bp uzunluğundaki bölgeyi SacII restriksiyon enzimi kullanarak PCR-RFLP metodu ile genotiplemişlerdir. İncelenen lokus için Barki, Damascus ve melezlerinde A ve B allel frekanslarını sırası ile 0.5, 0.5; 0.9, 0.1 ve 0.66, 0.33; AA, AB ve BB genotip frekanslarını ise yine aynı sıra ile 0.1, 0.8, 0.1; 0.85, 0.1, 0.05 ve 0.41, 0.51, 0.08 olarak tespit etmişlerdir. Damascus ırkı keçilerde AA genotip frekansı Barki ve Barki x Damascus melezlerine göre daha yüksek bulunmuş ve bu genotipe sahip hayvanların daha fazla süt verimine sahip olduğunu saptamışlardır.

Staiger ve ark. (2010), Doğu Friz koyunlarında β -laktoglobulin geninin intron 1 ve ekzon 2 bölgesinde 120 bp uzunluğundaki bölgeyi RsaI enzimi kullanarak genotipleme yapmışlardır. Popülasyonda A ve B allel frekansını sırasıyla 0.69 ve 0.31; AA, AB ve BB genotip frekanslarını ise sırasıyla 0.44, 0.51 ve 0.05 olarak tespit etmişlerdir. Çalışmada β -laktoglobulin/RsaI polimorfizminin bu popülasyonda süt verimi üzerine bir etkisinin olmadığını bildirmişlerdir.

Erdoğan (2010), Çine Çapari koyunlarında β -laktoglobulin RsaI gen polimorfizminin süt verim özellikleri ile ilişkisini incelediği çalışmada A ve B allel frekanslarını sırasıyla 0.3047 ve 0.6953; AA, AB ve BB genotip frekanslarını ise 0.078, 0.453 ve 0.469 olduğunu tespit etmiştir. AA genotipine sahip hayvanların laktasyon süresinin daha uzun ve laktasyon süt verimlerinin de daha yüksek ve genotipler arasındaki bu farklılığın ise istatistiksel olarak önemli olduğunu saptamıştır ($P<0.05$). Günlük ortalama süt verimleri açısından her ne kadar istatistiki olarak önemli olmasa da AA genotipine sahip bireylerin süt verimlerinin daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir.

Kawecka ve Radko (2011), Polonya dağ koyunu, Doğu-Friz, Merinos ve Avusturya Bergschaf koyunlarında PCR-RFLP yöntemi ile β -laktoglobulin/RsaI polimorfizminin süt verim özellikleri ile ilişkisini inceledikleri çalışmada A ve B allel frekansları ile AA,

AB ve BB genotip frekanslarını sırasıyla Polonya dağ koyunlarında 0.50, 0.50 ve 0.235, 0.530, 0.235; Doğu-Friz ırkında 0.66, 0.34 ve 0.323, 0.645, 0.320; Merinoslarda 0.48, 0.52 ve 0.167, 0.625, 0.208; Avusturya Bergschaf koyunlarında ise 0.55, 0.45 ve 0.257, 0.621, 0.122 olarak tespit etmişlerdir. Üzerinde çalışılan popülasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olduğunu gözlemlemişlerdir. β -laktoglobulin RsaI lokusunun bu ırklar üzerinde süt verimi, süt yağı, protein ve laktoz oranı üzerine etkisinin olmadığını bildirmişlerdir.

Şahin ve ark. (2011), Türkiye’de yetiştirilen yağlı kuyruklu koyun ırklarında PCR-RFLP metodunu kullanarak β -laktoglobulin geninde ekzon 2 üzerindeki 120 bp uzunluğundaki bölgede A ve B allel tespiti için RsaI, C allelini tespit etmek için ise MspI restriksiyon enzimini kullanmışlardır. Çalışmada İvesi, Dağlıç, Akkaraman, Tuj, Karakaş, Norduz, Güney Karaman ve Kangal koyun popülasyonlarında A allel frekansının 0.43 ile 0.72 arasında değiştiğini ve en yüksek değerin Tuj ırkı koyunlarda olduğunu tespit etmişlerdir. Popülasyonda genel olarak en yaygın genotipin AB olduğunu ve Kangal koyunlarında gözlemlediklerini, BB genotipini ise Norduz koyunlarında gözlemlediklerini bildirmişlerdir. Üzerinde çalıştıkları koyun ırklarında ise C allel varlığına ise rastlamamışlardır.

Öner ve ark. (2011), Bursa’da yetiştirilen İsviçre Esmeri ve Siyah Alaca sığır popülasyonlarında β -laktoglobulin/HaeIII polimorfizmini PCR-RFLP yöntemi ile incelemişlerdir. İsviçre Esmer sığırlarında A ve B allel frekanslarını sırasıyla 0.3430 ve 0.6570, Siyah Alacalarda ise 0.5480 ve 0.4520 olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmada her iki popülasyonun bu lokus bakımından dengede olduğunu gözlemlemişlerdir. Siyah Alaca ırkında AA ve AB genotip frekanslarının İsviçre Esmeri sığırlara göre daha yüksek olduğunu, İsviçre Esmeri sığırlarında ise BB genotip frekansının daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Doosti ve ark. (2011), İran’da yetiştirilen Holştayn ve yerli sığır ırklarında β -laktoglobulin/HaeIII polimorfizmini genin ekzon 4 üzerinde bulunan 247 bp uzunluğundaki bölgeyi PCR-RFLP yöntemi ile incelemişlerdir. Holştayn ve yerli sığır ırklarında A ve B allel frekansını sırasıyla 0.53, 0.47 ve 0.23, 0.77 olarak tespit etmişlerdir. Çalışmada AA, AB ve BB genotip frekansların Holştayn sığırlarda sırasıyla 0.280, 0.220 ve 0.500, yerli sığır popülasyonunda ise yine aynı sıra ile 0.052, 0.592 ve

0.354 olduğunu gözlemlemiş ve popülasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olduğunu bildirmişlerdir.

Ağaoğlu ve ark. (2012), Türkiye’de yetiştirilen Kıl, Saanen ve Honamlı keçilerinde β -laktoglobulin geninin ekzon 7 bölgesinde SacII polimorfizmini PCR-RFLP metodu ile incelemişlerdir. Kıl, Saanen ve Honamlı keçilerinde A allel frekansını sırası ile 0.42, 0.37 ve 0.53; B allel frekansını ise 0.58, 0.63 ve 0.47 olarak tespit etmişlerdir. Popülasyonlarda AA, AB ve BB genotip frekansları sırasıyla Kıl keçilerinde 0.13, 0.59, 0.28; Saanen keçilerinde 0.12, 0.49, 0.39 ve Honamlı keçilerinde ise 0.19, 0.68, 0.13 olarak saptanmış ve popülasyonların incelenen lokuslar bakımından Hardy-Weinberg dengesinde olduğunu bildirmişlerdir.

Jain ve ark. (2012), Hindistan’da yetiştirilen Jamunapari ve Jakhrana keçilerinde β -laktoglobulin genine ait polimorfizmleri tespit etmek amacıyla SSCP ve DNA sekanslayarak incelemişlerdir. Çalışmada promotor bölgesinde 66. pozisyonunda C/T nükleotid polimorfizmini saptamışlardır. İntron 2, 3 ve 6 bölgelerinde ise 962 (C/T), 986 (T/C), 1907 (C/T) ve 4143 (G/A) pozisyonlarında dört farklı SNP’e rastlamışlardır. Ekzon bölgeleri incelendiğinde ise ekzon 3, 6 ve 7’de 1806 (C/T), 4122 (T/C), 4601 (G/A) ve 4603 (G/C) pozisyonlarında toplam dört farklı nükleotid polimorfizmini tespit etmişlerdir. Çalışmada protein kodlayan bölgelerde meydana gelen SNP’lerin herhangi bir aminoasit değişimine neden olmadığını bildirmişlerdir.

Heidari ve ark. (2012), Holştayn sığırlarında intron 4 ve ekzon 4 bölgelerini içeren 247 bp uzunluğundaki β -laktoglobulin/HaeIII lokusunu PCR-RFLP yöntemi ile incelemişler ve A ile B allel frekansının sırasıyla 0.529 ve 0.471 olduğunu tespit etmişlerdir. β -laktoglobulin/HaeIII lokusun sığırlarda süt verimi üzerine etkisinin istatistiki olarak önemli ($P<0.01$) olduğunu ve AA genotipine sahip hayvanların BB genotipine sahip hayvanlara göre daha fazla süt verimine sahip olduklarını bildirmişlerdir.

Vohra ve ark. (2012), Hindistan’da yetiştirilen Murrah, Bhadawari, Mehsana ve Surti mandalarında β -laktoglobulin geninin ekzon 1 bölgesinin süt verimi ile ilişkisini PCR-SSCP ve sekanslama yaparak incelemişlerdir. Popülasyonlarda Murrah ve Surti mandalarında 5 genotip (AA, BB, CC, AB ve AC), Mehsana (AA, BB, AB ve AC) ve Bhadawari (BB, CC, AB ve AC) mandalarında ise 4 genotip gözlemlemişlerdir. AA, BB, CC, AB ve AC genotip frekanslarını sırasıyla Murrah mandalarında 0.10, 0.24, 0.20, 0.26

ve 0.20; Surti mandalarında 0.14, 0.22, 0.28, 0.16, 0.20; Mehsana mandalarında AA, BB, AB ve AC genotip frekanslarını 0.13, 0.06, 0.48, 0.33 ve Bhadawari mandalarında BB, CC, AB ve AC genotip frekanslarını ise 0.09, 0.09, 0.48 ve 0.34 olduğunu tespit etmişlerdir. Dört farklı manda ırkında genotipler ve laktasyon süt verimi ve ortalama günlük süt verimi arasındaki ilişki istatistiksel olarak önemli bulunmuş ($P<0.05$), ancak Surti mandalarında genotipler ile ortalama günlük süt verimleri arasındaki ilişkinin önemli olmadığını saptamışlardır. Murrah, Bhadawari ve Mehsana mandalarında BB genotipine sahip hayvanlar en yüksek süt verimine sahip iken, Bhadawari mandalarında CC genotipinin, Mehsana mandalarında ise AC genotipine sahip hayvanların süt verimlerinin en düşük olduğu tespit edilmiştir. Popülasyonda süt verimleri açısından AA ve BB genotipleri arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli olmadığı ancak bu iki genotipin AB ve AC genotiplerinden farklı olduğunu bildirmişlerdir.

Mohammadi ve ark. (2013), İran'da yetiştirilen Holştayn sığırlarında β -laktoglobulin geni ile süt verim özellikleri ile ilişkisini PCR-RFLP yöntemi ile HaeIII restriksiyon enzimlerini kullanarak incelemişlerdir. Popülasyonda A ve B allel frekanslarını sırasıyla 0.57, 0.43; AA, AB ve BB genotip frekanslarını ise 0.43, 0.28 ve 0.29 olarak tespit etmişlerdir. BB genotipine sahip bireylerin süt protein içeriğinin daha yüksek olduğu ($P<0.05$), ancak süt verimi, yağ verimi ve somatik hücre bakımından genotipler ile bu lokus arasında bir ilişkinin olmadığını bildirmişlerdir.

Kahilo ve ark. (2014), Mısır'da yetiştirilen Nubian, Damascus, Balady melezleri ve Alpin keçilerinde ekzon 7'de 682 bp uzunluğundaki bölgede β -laktoglobulin/SacII polimorfizminin süt verimi ile ilişkisini PCR-RFLP yöntemi ile incelemişlerdir. Çalışmada Nubian keçilerinde AB genotipine sahip hayvanların AA genotipine göre süt verimleri daha yüksek iken ($P<0.05$), Alpin keçilerinde AA genotipine sahip hayvanların AB genotipine kıyasla daha yüksek süt verimine sahip olduğunu tespit etmişlerdir ($P<0.05$). Diğer yandan Damascus ve Balady melezlerinde ise genotipler arasında süt verimi açısından önemli bir farklılığın olmadığını bildirmişlerdir.

Mir ve ark. (2014), Pakistan'da yetiştirilen Sahiwal sığırlarında β -laktoglobulin geninin ekzon 4'te 282 bp uzunluğundaki bölgeyi SNaPshot SNP metodu ile incelemişlerdir. Popülasyonda A ve B allel frekanslarını sırasıyla 0.09 ve 0.91; AA, AB ve BB genotip frekanslarını ise 0.056, 0.056 ve 0.89 olarak tespit etmişlerdir. İncelenen

lokusta genotipler ile birinci ve ikinci laktasyon süt verimleri arasındaki ilişkinin istatistiksel olarak önemli olmadığını bildirmişlerdir.

Vidovic ve ark. (2014), Sırbistan'da yetiştirilen Holştayn ırkı sığırlarda β -laktoglobulin gen polimorfizmi ile süt verim ve kalitesi arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. Popülasyonda AA, AB ve BB genotip frekanslarını sırası ile 0.23, 0.58 ve 0.19 olarak tespit etmişlerdir. Çalışmada AA genotipine sahip bireylerin süt ve yağ verimi açısından daha avantajlı olduğu, ancak genotipler arasındaki farklılığın istatistiksel olarak önemli olmadığı gözlemlenmiştir. BB genotipine sahip bireylerin ise diğer genotiplere göre daha yüksek miktarda süt verimine sahip olduğunu bildirmişlerdir ($P<0.01$).

El-Hanafy ve ark. (2015), Sudi Arabistan'ın Cidde kentinde yetiştirilen Ardi, Habsi ve Harri keçilerinde ekzon 7 ve 3' flanking bölgesinde 426 bp uzunluğundaki bölgede β -laktoglobulin/SacII polimorfizmini PCR-RFLP yöntemi ile incelemişlerdir. Popülasyonda A ve B allel frekansları ile AA, AB ve BB genotip frekanslarını Ardi keçilerinde sırasıyla 0.28, 0.72 ile 0.08, 0.40, 0.52; Habsi keçilerinde 0.43, 0.57 ile 0.23, 0.41, 0.36; Harri keçilerinde ise 0.26, 0.74 ile 0.09, 0.34 ve 0.57 olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmada her üç ırk için de AA genotipine sahip hayvanların süt verimlerinin diğer genotiplere göre yüksek olduğunu bildirmişlerdir ($P<0.05$).

Dettori ve ark. (2015), İtalya'da yetiştirilen Sarda ırkı keçilerde β -laktoglobulin geninin promotor ve 3'UTR (ekzon 7) bölgesinde meydana gelen SNP ile süt verimi ve kompozisyonu arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. Çalışmada incelenen lokusta meydana gelen c.-381C>T ve c.-420C>A polimorfizmlerinin süt verimi ile günlük yağ ve protein verimi ile ilişkili olduğunu tespit etmiş, CT ve AC genotipine sahip hayvanların ise süt verimlerinin daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir ($P<0.01$ ve $P<0.05$).

Cardona ve ark. (2015), Kolombiya'da yetiştirilen Alpin, Saanen ve melezlerinde β -laktoglobulin/SacII polimorfizmi ile süt verim özellikleri arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. İncelenen lokusun laktasyon eğrisi üzerinde sütün pik noktası, süt yağ ve protein verimi üzerine etkisinin istatistiksel olarak önemli olduğunu bildirmişlerdir ($P<0.05$).

Doğru (2015), Montofon ırkı sığırlarda süt protein genotipleri ile süt verim özellikleri arasındaki ilişkiyi incelemiş A ve B allel frekanslarını sırasıyla 0.375, 0.625; AA, AB ve BB genotip frekanslarını ise 0.17, 0.41 ve 0.42 olarak tespit etmişlerdir. Popülasyonun genotip frekansları bakımından Hardy-Weinberg dengesinde olduğunu

gözlemlemişlerdir. Çalışmada incelenen protein genotipleri ile süt verimi, yağ verimi, yağ yüzdesi ve laktasyon uzunluğu arasında herhangi bir ilişkinin olmadığını bildirmişlerdir.

Molee ve ark. (2015), Tayland'da yetiştirilen Holştayn melezi sığırlarda β -laktoglobulin ve GH genleri ile süt verimi ve kompozisyonu ile ilişkiyi PCR-RFLP metodu ile incelemişlerdir. Popülasyonda β -laktoglobulin lokusunda A ve B allel frekanslarını sırasıyla 0.44, 0.56; AA, AB ve BB genotip frekanslarını ise 0.18, 0.54 ve 0.28; GH lokusunda ise V ve L allel frekanslarını sırasıyla 0.57 ve 0.43, VV, VL ve LL genotip frekanslarını ise 0.14, 0.86 ve 0.00 olarak tespit etmişlerdir. Çalışmada AA genotipinin süt verimi üzerine büyük ölçüde pozitif etkisinin olduğunu saptamışlardır ($P<0.05$). Bununla birlikte, GH ile β -laktoglobulin arasındaki gen interaksyonları incelendiğinde VVAA bileşik genotipinin süt verimi üzerine etkisi maksimum düzeyde olmakla birlikte süt proteini üzerine etkisinin ise istatistiksel olarak önemli olduğunu gözlemlemişlerdir ($P<0.05$).

Cardona ve ark. (2016), Kolombiya'da yetiştirilen sütçü keçilerde β -laktoglobulin/SacII polimorfizmini ekzon 7 bölgesinde PCR-RFLP yöntemi ile genotiplemiş ve 10 farklı mikrosatellit markör (BM1329, BM1818, BM6526, CSSM31, ETH10, ETH225, ILSTS011, ILSTS005, INRA64 ve MAF065) kullanarak genetik yapıyı değerlendirmişlerdir. Popülasyonda AA, AB ve BB genotip frekanslarını sırasıyla 0.384, 0.530 ve 0.086 olarak tespit etmişlerdir. Laktasyon eğrisi incelendiğinde AA genotipine sahip hayvanların laktasyonun farklı evrelerinde (erken dönem, pik dönem, laktasyon ortası ve laktasyonun son evresi) BB genotipine göre daha üstün performans gösterdiğini gözlemlemişlerdir. Ayrıca çalışmada β -laktoglobulin geni için aditif ve dominant gen etkilerini tahmin etmişlerdir. İncelenen lokusun süt yağı, süt proteini ve kuru madde miktarı üzerinde laktasyon boyunca aditif etkisi istatistiksel olarak önemli olmasına rağmen ($P<0.05$), laktasyonun son dönemlerinde süt verimi açısından aditif etkisinin önemli olmadığını bildirmişlerdir. Ayrıca lokusun sadece laktasyonun erken ve pik dönemlerinde yağ verimi üzerine dominant etkisinin istatistiksel olarak önemli olduğunu saptamışlardır ($P<0.05$). Sonuç olarak, A allelinin süt verimi ve kalitesi üzerine genetik açıdan pozitif etkisinin olduğunu bildirmişlerdir.

Mahmood ve ark. (2016), Pakistan'da yetiştirilen Beetal ve Daera Din Panah keçilerinde β -laktoglobulin gen polimorfizminin süt verimi ve kompozisyonu üzerine etkisini SDS-PAGE yöntemi ile incelemişlerdir. Beetal keçilerinde A ve B allel

frekansları ile AA, AB ve BB genotip frekanslarını sırasıyla 0.55, 0.45 ile 0.28, 0.55 ve 0.17; Daera Din Panah ırkı keçilerde ise sırasıyla 0.59, 0.41 ile 0.33, 0.53 ve 0.14, ve ayrıca her iki popülasyon Hardy-Weinberg dengesinde olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmada β -laktoglobulin gen polimorfizminin her iki ırk üzerinde süt verimine bir etkisinin olmadığını bildirmişlerdir.

Karslı ve ark. (2016), Antalya'da yetiştirilen Kıl keçilerinde β -laktoglobulin geni üzerinde ekzon 7 ile 3' flanking bölgesinde SacII polimorfizmini PCR-RFLP yöntemi ile incelemişlerdir. Popülasyonda A ve B allel frekansları 0.545, 0.455 ve AA, AB ve BB genotip frekanslarının ise 0.285, 0.529 ve 0.186 olduğunu bildirmişlerdir.

Gharedaghi ve ark. (2016), Tahran'da yetiştirilen Mahabadi keçilerinde β -laktoglobulin lokusunun ekzon 7 üzerinde bulunan 177 bp uzunluğundaki bölgeyi PCR-SSCP ve DNA sekanslayarak incelemişlerdir. İncelenen lokusta dokuz yeni mutasyon tanımlamışlardır. Bu mutasyonlar, 93. nükleotid pozisyonunda eklenme veya çıkarılma (InDel, insertion or deletion) sonucu meydana gelen T (-/T) nükleotid farklılığı ile 99., 124., 126., 134., 147., 156., 176. ve 177. nükleotid pozisyonlardaki sırasıyla T/C, T/G, T/C, G/T, T/G, T/C, G/A ve A/T nükleotid değişimleridir. Popülasyonda genotipik farklılıkların 93. nükleotid pozisyonundaki T InDel mutasyonu ve 177. pozisyonundaki A/T nükleotid farklılığından meydana geldiğini tespit etmişlerdir. 93. pozisyonundaki T (-/T) nükleotidinin yokluğu ve varlığı durumunda allel frekansını sırasıyla 0.22 ve 0.78; 177. pozisyonundaki A ve T allel frekanslarını ise 0.16 ve 0.84 olduğunu gözlemlemişlerdir. Çalışmada incelenen lokusun süt protein yüzdesi üzerine etkisinin istatistiksel anlamda önemli olduğu ($P<0.05$), ancak süt verimi ve süt yağ yüzdesi üzerine önemli bir etkisinin olmadığını bildirmişlerdir.

Özmen ve Kul (2016), Sakız, Akkaraman ve İvesi ırkı koyunlarda β -laktoglobulin/RsaI polimorfizminin süt verimi ile ilişkisini PCR-RFLP yöntemi ile incelemişlerdir. Çalışmada Sakız, Akkaraman ve İvesi koyunlarında A allel frekansının sırası ile 0.90, 0.98 ve 1.00 olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmada İvesi koyunlarında incelenen ekzon 2 bölgesinin monomorfik olduğunu saptamışlardır. Sakız ırkında genotipler arası farklılığın süt verimi, süt yağı ve proteini üzerine etkisinin istatistiksel olarak önemli olduğunu ve AB genotipine sahip bireylerin daha yüksek süt verimine sahip olduğunu bildirmişlerdir ($P<0.001$).

Zaglool ve ark. (2016), Mısır'da yetiştirilen Holştayn sığırlarında β -laktoglobulin geninin intron 3, ekzon 4 ve intron 4 kısımlarını içeren 447 bp uzunluğundaki bölgeyi HaeIII restriksiyon enzimi kullanarak PCR-RFLP ve DNA sekanslayarak incelemişlerdir. Popülasyonda A ve B allel frekanslarını sırasıyla 0.36, 0.64; AA, AB ve BB genotip frekanslarını ise 0.50, 0.22 ve 0.28 olarak tespit etmiş ve popülasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olmadığını saptamışlardır ($P<0.05$). Çalışmada AA genotipine sahip bireylerin daha yüksek süt verimi ve protein içeriğine sahip olduğu, BB genotipine sahip hayvanların ise daha yüksek süt yağ içeriğine sahip olduğunu gözlemlemişlerdir ($P<0.05$). İncelenen lokusun laktoz üzerine herhangi bir etkisinin olmadığını bildirmişlerdir. Yapılan DNA sekanslama sonucunda ise ekzon 4 bölgesinde iki SNP (T301C ve C390T), intron bölgelerinde ise iki SNP (T226C ve C276T) tespit etmişlerdir. T301C nükleotid değişiminin Asparajin aminoasidine karşılık gelen sessiz mutasyon (silent mutation) ve diğer C390T nükleotid değişiminin ise Valin amino asidinin Alanin aminoasidine dönüşmesine neden olan eş anlamlı olmayan (non-synonymous mutation) bir mutasyon olduğunu bildirmişlerdir.

Maletic ve ark. (2016), Sırbistan'da yetiştirilen Busha ve Holştayn sığırlarında β -laktoglobulin/HaeIII polimorfizmini PCR-RFLP yöntemi ile incelemişlerdir. Busha sığırlarında A ve B allel frekanslarını sırasıyla 0.72, 0.28, AA, AB ve BB genotip frekanslarını 0.44, 0.56 ve 0.00; Holştayn sığırlarında ise A ve B allel frekanslarını 0.58, 0.42, AA, AB ve BB genotip frekanslarını ise 0.26, 0.63 ve 0.11 olduğunu ve her iki ırk içinde popülasyonların Hardy-Weinberg dengesinde olduğunu tespit etmişlerdir.

Işık ve ark. (2017), Saanen keçilerinde β -laktoglobulin/SacII polimorfizminin süt verim özellikleri ile ilişkisini belirlemek amacıyla 427 bp uzunluğundaki ekzon 7 bölgesini PCR-RFLP yöntemi ile incelemişlerdir. Popülasyonda S_1 ve S_2 allel frekanslarını sırasıyla 0.59, 0.41; S_1S_1 , S_1S_2 ve S_2S_2 genotip frekanslarını ise 0.38, 0.43 ve 0.19 olduğunu ve popülasyonun bu lokus için Hardy-Weinberg dengesinden sapma göstermediğini tespit etmişlerdir. Çalışmada laktasyon süt verimi yönünden S_1S_1 , S_1S_2 ve S_2S_2 genotipleri arasındaki fark istatistiksel anlamda önemli bulunmasa da S_1S_1 genotipine ait bireylerin laktasyon süt verimlerinin diğer genotiplere göre daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

El-Shazly ve ark. (2017), Sudi Arabistan'da yetiştirilen Ardi ve Suriye keçilerinde ekzon 7'de 780 bp uzunluğundaki bölgede β -laktoglobulin/SacII polimorfizmini PCR-

RFLP yöntemi ile incelemişlerdir. Ardi keçilerinde AA, AB ve BB genotip frekanslarını sırasıyla 0.14, 0.46 ve 0.40; Suriye keçilerinde ise 0.22, 0.17 ve 0.61 olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmada süt yağ içeriği ve toplam kuru madde bakımından Ardi keçilerinde AB genotipine sahip bireylerin, Suriye keçilerinde ise AA genotipine sahip bireylerin daha yüksek değere sahip olduğunu saptamışlardır ($P<0.05$). İncelenen lokusun süt protein ve laktoz üzerine bir etkisinin olmadığını bildirmişlerdir.

Triantaphyllopoulos ve ark. (2017), Yunanistan'da yetiştirilen Chios ve Karagouniko ırkı koyunlarda ekzon 2'de 120 bp uzunluğundaki bölgede β -laktoglobulin/RsaI polimorfizmini PCR-RFLP yöntemi ile incelemişlerdir. Chios koyun popülasyonunda A ve B allel frekansını sırasıyla 0.439, 0.561, AA, AB ve BB genotip frekansını 0.121, 0.636 ve 0.243; Karagouniko koyun popülasyonunda ise A ve B allel frekansını 0.576, 0.424, AA, AB ve BB genotip frekansını 0.373, 0.407 ve 0.220 olarak tespit etmişlerdir. Chios koyun popülasyonunda Hardy-Weinberg dengesinden sapma olduğu ($P\leq 0.05$), ancak Karagouniko popülasyonunun dengede olduğu gözlemlenmiştir. Çalışmada her iki ırk için ilgili lokusun somatik hücre sayısı ve laktoz içeriği üzerine etkisinin önemli olduğu ($P\leq 0.05$), AA genotipine sahip bireylerin daha yüksek somatik hücre sayısına, AB genotipine sahip bireylerde ise daha yüksek laktoz içeriğine sahip olduğu saptanmıştır. İncelenen lokusun günlük süt verimi, süt yağ ve protein içeriği, yağ/protein oranı, toplam kuru madde üzerine etkisinin olmadığını bildirmişlerdir.

Şahin (2017), Holştayn sığırlarında β -laktoglobulin/HaeIII polimorfizmini PCR-RFLP yöntemi ile incelemiştir. Popülasyonda A ve B allel frekansını sırasıyla 0.47 ve 0.53 olarak tespit etmiş ve popülasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olduğunu belirlemişlerdir. Çalışmada β -laktoglobulin/HaeIII polimorfizminin süt verimi ile arasında istatistiki olarak bir ilişki olmadığını bildirmiştir.

2.4. GH Geni

2.4.1. GH Yapısı ve İşlevi

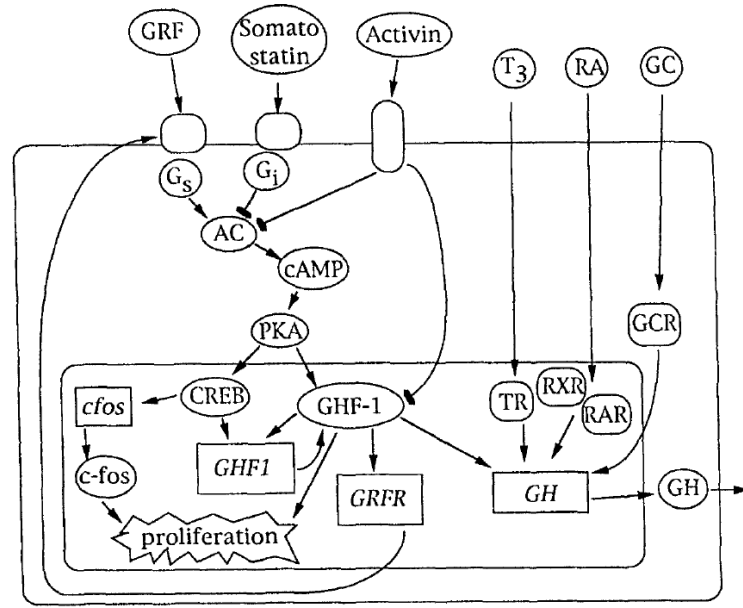
Gen duplikasyonu sonucu ortaya çıktığı düşünülen GH geni, prolaktin (PRL) ve plasental laktojenleri (CS, Chorionic Somatomammotropins) de içeren geniş bir gen ailesine aittir (Slater ve ark., 1986; Ohta, 1993; Harvey ve Scanes, 1995). Büyüme hormonu (GH) özellikle ön hipofiz bezindeki somatotrop hücrelerinden eksprese edilir

ve GH transkripsiyonu, hücre tipine özgü olan hormonal mekanizmalar ile kontrol edilmektedir. Bu nedenle, GH organ gelişimi sırasında gen ekspresyonunun hücre tipine özgü kontrol mekanizmasının anlaşılması noktasında önemli bir model haline gelmiştir (Tuggle ve Trenkle, 1996).

Çoğu memeli türünde GH tek bir gendir, ancak primatlarda tek bir genomik lokasyonda GH benzeri gen kümeleri oluşturmak için daha fazla sayıda duplikasyon gerçekleşmiş ve GH-N, GH-V ve daha az ilişkili olan CS genlerini içermektedir. CS genleri ve GH-V geni plasental dokuda eksprese edilirken, GH-N geni hipofiz somatotrop hücrelerinde eksprese edilmektedir. Yapılan çalışmalarda sadece keçilerde GH cDNA'sını kodlayan genler çoklu GH genlerini tanımlamak için kullanılmıştır (Yamano ve ark., 1991). GH geni çoğu memeli türünün yanı sıra bazı balık türleri içinde yaklaşık 2.6 ile 3.0 kb çifti uzunluğunda olup beş ekzon ve dört intron bölgesinden oluşmaktadır (Zhu ve ark., 1992; Tang ve ark., 1993). Bununla birlikte, tavuk ve bazı alabalıklarda GH geni, daha büyük boyutta intron bölgelerine sahip olmaları nedeniyle yaklaşık olarak 3.5 kb ve 4.5 kb uzunluğundadır (Agellon ve ark., 1988; Tanaka ve ark., 1992).

İnsanlarda GH-N RNA'sının alternatif splayı, 26 aminoasitlik bir sinyal dizisinin bölünmesi ile 22 kDa ve 20 kDa uzunluğunda olmak üzere iki polipeptidi kodlayan iki olgun mRNA oluşumuna sebep olmaktadır. İnsan büyüme hormonunun büyük bir kısmının (%70-75) 22 kDa formunda olduğu bilinmektedir (Baumann, 1991).

Büyüme hormonu regülasyonu bazal, hücreye özgü ve hormonal olarak ekspresyonu içeren üç kısma ayrılmaktadır (Şekil 2.11.) (Tuggle ve Trenkle, 1996). Büyüme hormonunun bazal veya düşük seviyede gerçekleşen ekspresyonu hipofiz dışı hücrelerde görülmektedir (Theill ve Karin, 1993; Harvey ve ark., 1995). Bazal ekspresyon, hem pozitif hem de negatif olarak etki edebilen birkaç doku ve bazı genel faktörler tarafından kontrol edilmektedir. Bu faktörler arasında Spl, NF-I/AP-2 ve USF'nin yanı sıra bazı hücre tiplerinde eksprese edilen zinc finger proteini olan Zn-15 bulunmaktadır (Lipkin ve ark., 1993). Yüksek seviyede gerçekleşen somatotrop spesifik GH ekspresyonu ise temel olarak PIT-1 tarafından kontrol edilmektedir (Harvey ve ark., 1995). GH somatotrop-spesifik gen ekspresyonu ve sinyal iletimi ile ilgili görsel Şekil 2.11.'de sunulmuştur.



Şekil 2.11. Somatotrop-spesifik gen ekspresyonu ve sinyal iletimi

İntraselüler alanda cAMP (Siklik Adenozin Monofosfat) seviyeleri, somatotropların çoğalmasını ve ayrıca GH sentezini modüle etmektedir (Harvey ve ark., 1995). Ratlarda, tiroid hormonunun (TH, Triiyodotironin) GH sentezinin kontrolünde önemli bir role sahip olduğunu gösteren bulgular mevcuttur (Martial ve ark., 1977; Dobner ve ark., 1981; Spindler ve ark., 1982; Evans ve ark., 1982; Yaffe ve Samuels, 1984; Diamond ve Goodman, 1985; Crew ve Spindler, 1986; Flug ve ark., 1987; Brent ve ark., 1988; Wight ve ark., 1988; Suen ve Chin, 1993). Yapılan çalışmalarda, somatotropik tümör hücre hatlarında TH ilavesi, GH transkripsiyonunu, GH mRNA birikimini ve GH protein seviyelerini arttırmaktadır. Tiroidektomize edilmiş kemirgenlerde, GH mRNA ve protein seviyeleri önemli ölçüde azalırken, TH uygulaması ile GH ekspresyonu geri kazanılmaktadır (Mulloy ve ark., 1992). Diğer yandan, yapılan çalışmalarda TH reseptörünün hipofiz-spesifik izoformları (TR β 2) tanımlanmıştır. TR β 2 mRNA seviyesi hücre kültürü çalışmalarında hipofiz hücrelerine TH uygulaması ile önemli ölçüde azalırken, hipofiz-spesifik olmayan izoform olan TR β 1 seviyeleri bu durumdan etkilenmemiştir. Bu nedenle, tiroid hormonu reseptörlerinin ekspresyonunu kontrol etmek üzere gen düzenlemesi üzerinde hipofiz-spesifik etkilere de sahip olabileceği düşünülmektedir (Hodin ve ark., 1989). Glukokortikoid (GC) uygulaması ise doku kültür modellerinde olduğu gibi in vivo olarak da uygulandığında GH gen ekspresyon seviyesini artırmaktadır (Dobner ve ark., 1981; Evans ve ark., 1982). Yine,

tümör hücre hatlarında, retinoik asit (RA) uygulamasının GH transkripsiyonunu ve protein sentezini uyardığı bilinmektedir (Bedo ve ark., 1989; Morita ve ark., 1990; Garcia-Vallalba ve ark., 1993). Retinoik asit, GH ekspresyonunu aktive etmek için tiroid hormonu ve glukokortikoidlerle birlikte sinerjik bir şekilde çalışmaktadır. Aktivin proteinleri (dönüştürücü büyüme faktörü β ailesinin bir üyesi) GH ekspresyonunu negatif olarak düzenlemektedir. Aktivin hem bazal hem de GH sentezini uyaran ve salgılayan hormon (GNRH, Growth Hormone Releasing Hormone) sentezini azaltır, önce GH aktivatör proteini olan PIT-1'in seviyesini düşürmek için hareket eder ve ardından GH mRNA sentezini azaltır (Struthers ve ark., 1992). Ayrıca, insülin GH promotör aktivitesini de baskılamaktadır (Yamashita ve ark., 1986; Yamashita ve Melmed, 1987; Prager ve ark., 1990). Transfeksiyon çalışmalarında GH promotörünün 500 bp uzunluğundaki dizi üzerinde insüline duyarlı bölgelerin olduğu bildirilmiştir (Prager ve ark., 1990).

2.4.2. Koyun ve Keçilerde GH Gen Duplikasyonu

Çoğu memeli türünde GH tek tarafından kodlanır ancak primatlarda bir istisna görülmektedir. İnsanlarda kromozom 17 üzerinde beş farklı gen kümesi tarafından GH benzeri proteinler kodlanmaktadır. Hipofiz, GH'un salgılandığı bir yer olmakla birlikte plasentadan diğer dört farklı GH benzeri genler eksprese edilmektedir. Bu genler, plasental laktojen için iki gen, bir plasental laktojen benzeri bir protein ve bir GH varyantı olarak sayılabilir (Chen ve ark., 1989). Maymunlarda, cDNA üzerine yapılan çalışmalar, bir tanesi hipofizde eksprese edilen GH benzeri proteinleri kodlayan en az beş gen olduğunu, ancak bunların insan GH ile benzeri genlerle tam olarak eşleşmediğini göstermektedir (Golos ve ark., 1993). GH benzeri bu gen kümeleri muhtemelen çoğu memelide bulunan tek GH gen duplikasyonunun ve evrimin bir sonucu olarak ortaya çıktığı savunulmaktadır (Wallis 1994; 1996). Son birkaç on yıla kadar, memelilerde GH gen duplikasyonunun primatlarla sınırlı olduğu ortaya çıkmıştır. Plasental laktojenler diğer bazı memeli gruplarında da (ruminantlar, kemirgenler) bulunmaktadır. Ancak, prolaktin geninin duplikasyonu primatlarda bulunanlardan bağımsız olarak ortaya çıkmış gibi görünmektedir (Schuler ve Kessler, 1992; Wallis, 1992). Bununla birlikte, bazı ruminantlarında (koyun ve keçi) duplike GH genlerinin bulunduğunu gösteren birçok

bulgu olmakla birlikte GH geninin ruminantlarda evrimi için ilginç sonuçlara sahip olduğu bilinmektedir (Wallis ve ark., 1998).

Valinsky ve ark. (1990), GH gen lokusunda koyun ve keçilerde iki allel olduğunu tespit etmişlerdir. Koyunlarda, bir allelde (Gh1), GH geni bir tek kopya (GH1 geni), diğer allelde ise (Gh2) GH geninin duplike olduğu saptanmıştır (5' GH2-N ve 3' GH2-Z). Koyunlarda, Gh1 ve Gh2 lokuslarına ait restriksiyon haritaları, GH1, GH2-N ve GH2-Z genlerinin birbirlerine çok benzer olduğunu göstermektedir. GH1 ve GH2-N genlerinin 5' uçlarını çevreleyen dizi benzemekle birlikte GH2-Z geninkinden farklı olduğu tespit edilmiştir (Lacroix ve ark., 1996; Ofir ve Gootwine, 1997; Wallis ve ark., 1998). Bu nedenle, gebeliğin erken dönemlerinde hipofiz kaynaklı GH ekspresyonu ile biraz farklı bir protein kodlayan yeni bir GH geninin duplikasyonu zaman içerisinde gelişmiştir. GH2-Z kopyası, hipofizde eksprese edilmediğinden dolayı GH2-N kopyasından farklı şekilde düzenlenmiştir (Gootwine ve ark., 1996). Bu durum heterozigot GH1/GH2 ve homozigot GH2/GH2 genotipine sahip kuzuların büyüme hızı, vücut kompozisyonu ve GH profilleri açısından neden GH1/GH1 genotipine sahip kuzulardan farklı olmadığını açıklamaktadır (Gootwine ve ark., 1998).

Plasenta tarafından büyümeyi teşvik eden maddelerin sekresyonu, benzer durumlarda benzer bileşiklerin üretiminin çeşitli durumlarda maternal organlarla düzenlenmesinden farklı meydana gelmektedir. Gen duplikasyonu, plasental-spesifik endokrin aktivitesinin gelişimini kolaylaştıran mekanizmalardan biridir. Sığır, koyun ve keçiler evrimsel olarak ilişkili olsalar da, evrimsel süreçte plasental büyüme hormonu ve prolaktin benzeri hormonlar birbirlerinden önemli ölçüde farklılık göstermektedir. Sığırlarda, GH geni tek bir kopya içermektedir ve plasental GH ekspresyonu olduğuna dair henüz bir kanıt bulunamamıştır. Diğer yandan, koyun ve keçilerde GH duplikasyonu sonucu ve GH'un diğer kopyası, gebeliğin erken aşamalarında plasentada eksprese edilmektedir. Ruminantlarda prolaktin gen duplikasyonu, plasental laktojen (PL) geni dahil olmak üzere, plasentada eksprese edilen spesifik-prolaktin ile ilgili genlerin oluşumu ile sonuçlanmıştır. Homolog durumda ise koyunlarda PL, PRL aktivitesi gösterir, ancak GH aktivitesini de yönlendirmektedir. Koyunlarda, PRL reseptörleri veya PRL ve GH reseptörlerinin hetero-dimerizasyonu aracılığıyla aktive olan PL aktivasyonu, aynı hücrelerde hem GH hem de PRL reseptörlerinin bir arada bulunmasına bağlı olarak somatojenik aktivite için yeni bir düzenleyici mekanizma sağlamaktadır. Spesifik-

plasental endokrin aktivitesi için bir başka mekanizma ise allellerin genetik imprinting yoluyla susturulmasıdır. Plasental genlerin genetik baskısının bozulması, somatik hücre nükleer transferi tarafından üretilen klonlanmış fetüslerin kaybına ilişkin açıklamalardan biri olarak gösterilmektedir (Gootwine, 2004).

2.4.3. GH Biyolojik Fonksiyonları

Büyüme hormonu (GH), adından da anlaşılacağı gibi, büyüme ve gelişme için zorunlu bir hormondur. Bununla birlikte, cinsel farklılaşma ve pubertal olgunlaşma süreçlerinde de yer almaktadır ve gonadal steroidogenez, gametogenez ve yumurtlamaya katılmakla birlikte gebelik ve laktasyon üzerine de etkisi vardır. Bu eylemler, hipofiz GH'nin doğrudan endokrin eylemlerini yansıtabilir veya indüksiyonuna aracılık edebilmektedir. Bununla birlikte, GH gonadal, plasental ve meme dokularında da eksprese edildiği için, hipofiz tarafından salgılanan GH parakrin veya otokrin yollarla hareket edebilmektedir (Hull ve Harvey, 2001).

GH, pek çok hücre tipinin büyümesi ve farklılaşmasını kontrol ederek direkt veya indirek olarak oldukça geniş fizyolojik etkilere sahiptir. Postnatal büyümenin yanı sıra hipofiz bezi kaynaklı GH, metabolik olarak yağ moleküllerinin trigliseritlere parçalanması, protein anabolizmasının düzenlenmesi, glikoz salınımının düzenlenmesi, azot ve mineral dengesi, vücutta kemik, kas ve yağ doku üzerinde önemli role sahip olduğu bilinmektedir. Bununla birlikte laktasyon, meme gelişimi, üreme özellikleri üzerine etkisinin olduğuna dair birçok çalışma mevcuttur (Secchi ve Borromeo, 1997; Ge ve ark., 2003; Moller ve Jorgensen, 2009).

GH genellikle cinsel olgunlaşmanın zamanlaması için gereklidir. GH'nin cinsel olgunlaşmadaki önemi bazı çalışmalarda, maymunlara ve GH eksikliği olan çocuklara GH uygulamasının cinsel olgunlaşmayı hızlandırması ile ortaya konmuştur (Darendeliler ve ark., 1990; Stanhope ve ark., 1992). GH, luteinize edici hormonu (LH) aktive ederek (Bartke ve ark. 1999) veya kuvvetlendirici androjen etkisinin artırılmasıyla da cinsel olgunlaşma sürecini hızlandırabilmektedir (Ilondo ve ark. 1982).

İn vivo olarak yapılan çalışmalar, GH'nin gametogenezi ve steroidogenezi etkilemek için yumurtalık üzerinde de önemli bir role sahip olduğunu göstermektedir. İn vivo koşullarda GH uygulamasından kaynaklanan insülin benzeri büyüme faktörü-I (IGF-I, Insulin-like Growth Factor-I) artışı ve IGF-I'in yumurtalık aktivitesini uyarma üzerine

etkisi de ortaya konmuştur (Adashi ve ark., 1985). Aslında, dışarıdan GH uygulaması, hem GH hem de IGF-I'in yükselmesine sebep olmaktadır. Ancak, IGF-I'deki fizyolojik artışlar normal olarak hipofiz kaynaklı GH sekresyonunda düşüşe yol açmaktadır. Ancak çok sayıda in vitro çalışma ovaryumlarda GHR mRNA ve proteinin bulunması, GH'nin direkt yumurtalık eylemlerinin gonadotropine bağımlı ve bağımsız fonksiyonlarında önemli bir modülasyon sağladığını göstermektedir. Canlı gametlerin ve yeterli miktarda steroid üretilmesi, folikül ve oosit içinde meydana gelen bir dizi biyokimyasal süreci de beraberinde getirmektedir. GH, folikül ve gametin olgunlaşmasını etkilemekte ve dolayısıyla yumurta verimin artmasını sağlamaktadır (Hull ve Harvey, 2001).

GH, özellikle foliküler gelişimde önemli bir rol oynamaktadır. Yapılan çalışmalarda GH bağlanma aktivitesi domuz foliküllerinde (Quesnel, 1999) ve balık yumurtalıklarında erken folikülogenez sırasında zirve yaptığı gözlemlenmiştir (Gomez ve ark., 1998). Bununla birlikte, foliküler büyüme ve intraovaryan kaynaklı IGF-I, GH uygulamasını takiben erken folikülogenezde IGF-I'i de içermektedir (Yoshimura ve ark., 1993; 1994).

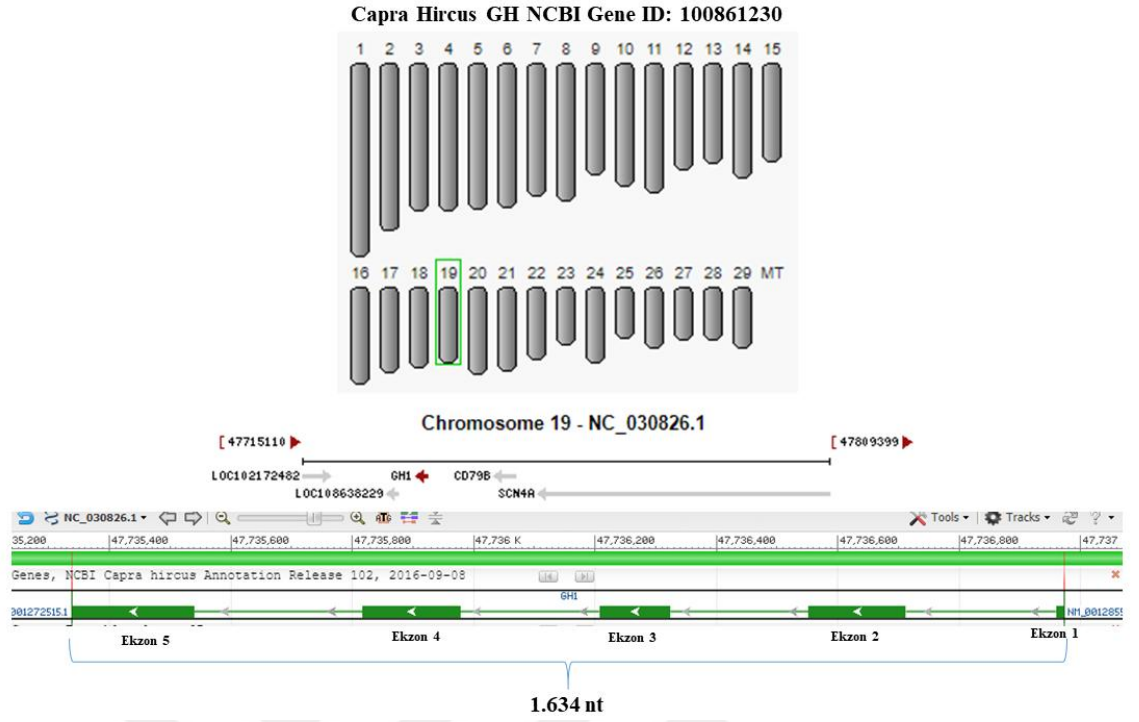
GH, folikülogenez ve luteinizasyonun daha sonraki aşamalarını uyarmak için gonadotropinler ile birlikte hareket etmektedir (Eckery ve ark., 1997). GH, folikül seçiminde de rol oynamaktadır. Domuz granuloza hücrelerinde GH bağlayıcı bölgeler, atretik foliküllerde kaybolduğu (Quesnel, 1999) ve sığırlarda dominant folikülün gelişiminin büyüme hormonu reseptörü (GHR, Growth Hormone Receptor) eksikliği sebebiyle etkilendiği yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (Chase ve ark., 1998). GH, LH etkisini kuvvetlendirerek foliküllerin canlı kalmasını ve hücre proliferasyonunu arttırabilmektedir. Çünkü GH eksikliği LH reseptörlerinin azalması ile ilişkilidir. İnsanlarda, GH'nun granuloza hücrelerinde folikülojenik etkisi, FSH'ye bağımlı olup IGF-I'den bağımsızdır (Ovesen ve ark., 1994; Ovesen 1998).

GH, ovülasyonda esansiyel olmayan fakat kolaylaştırıcı bir rol oynamaktadır. Örneğin, GH tek başına koyunlarda ovülasyona neden olamasa da (Davis ve ark., 1990), domuzlar (Gilbertson ve ark., 1991) ve tavşanlarda (Yoshimura ve ark., 1993), gonadotropin kaynaklı ovülasyon, dışarıdan GH uygulaması ile önemli ölçüde artırıldığı bildirilmiştir (Yoshimura ve ark. 1994).

GH geninin farklı çiftlik hayvanı türlerinde farklı verim özellikleri için bugüne kadar yapılan birçok çalışma mevcuttur. Yapılan çalışmalarda aşağıda literatür özeti

verilecek olan süt verimi üzerine etkilerinin yanı sıra keçilerde, sütten kesim öncesi günlük canlı ağırlık artışı, sütten kesim ağırlığı, cidago yüksekliğı, vücut uzunluğı, göğüs vresi (Hua ve ark., 2009; An ve ark., 2010), döl verimi, korpus luteum sayısı (Zhang ve ark., 2011); koyunlarda sütten kesim ağırlığı, sütten kesim öncesi günlük canlı ağırlık artışı (Tahmoorespur ve ark., 2011; Hajihosseino ve ark., 2013; Cauveri ve ark., 2016), 3, 6 ve 9 ay canlı ağırlık (Moradian ve ark., 2013), kesim öncesi canlı ağırlık, karkas ağırlığı, yarım karkas ağırlığı, bazı karkas özellikleri, et randımanı (Garlov ve ark., 2017; Meira ve ark., 2019), kalp vresi, skrotum vresi (Marques ve ark., 2006), elyaf uzunluğı, lle apı (Yousefi ve Azari, 2012; Farag ve ark., 2016), kuzulama oranı (Yousefi ve ark., 2013b), fetüs büyüme ve gelişimi (Koch ve ark., 2010); sığırlarda süt yağı (Khatami ve ark., 2005), süt protein yüzdesi (Lagziel ve ark. 1996, 1999), günlük canlı ağırlık artışı, canlı ağırlık, karkas verimi, mermerleşme (Beauchemin ve ark., 2006; Maylinda, 2011), doğıum ağırlığı (Biswas ve ark., 2003), sütten kesim ağırlığı (Hernandez ve ark., 2016), üreme zellikleri (Mullen ve ark., 2011; ner ve ark., 2017; Amiri ve ark., 2018); boğalarda canlı ağırlık artışı, kabuk yağı kalınlığı (Thomas ve ark., 2007), sperm konsantrasyonu, sperm motilitesi, sperm hacmi, ortalama testis vresi ve uzunluğı (Lechniak ve ark., 1999; Gorbani ve ark., 2009); domuzlarda meme sayısı, kalp ağırlığı, akciğer ağırlığı, karkas uzunluğı, gerdan ağırlığı (Faria ve ark. 2006), yağı depolama (Knorr ve ark., 1997) ve döl verimi (Kmiec ve ark., 2008) zerine etkisi olduğı bildirilmiştir.

GH geni sitogenetik lokasyonu sığırlarda 19q26 ve koyunlarda 11q25 (Hediger ve ark., 1990) ve keçilerde 19q22 kromozom (Schibler ve ark., 1998; Pinton ve ark., 2000) zerinde yer almaktadır. GH geni kromozom yeri ve gen yapısı şekil 2.12.'de sunulmuştur.



Şekil 2.12. GH geni kromozom yeri ve gen yapısı

Keçi GH geni nükleotid dizisinin NCBI (Gene ID: 100861230) veri bankasında 1.634 baz çiftinden, beş ekzon ve dört introndan oluştuğu bildirilmiştir. GH geni NCBI veri bankasında NC_030826.1 nolu erişim numarası ile 47.735.339-47.736.972 nükleotidler arasında olup ve ekzon 1, 1-13 bç; ekzon 2, 261-421 bç, ekzon 3, 649-765 bç, ekzon 4, 995-1.156 bç ve ekzon 5, 1.434-1.634 baz çiftleri arasında yer almaktadır.

2.4.4. GH Geni Süt Verim Özellikleri Üzerine Etkisi

Yao ve ark. (1996), Holştayn sığırlarında GH gen polimorfizmi ile süt verimi arasındaki ilişkiyi PCR-SSCP yöntemi ile incelemişlerdir. Sekanslama sonucunda 2.7 kb uzunluğundaki bölgede toplamda 6, ancak süt verimi ile ilişkilendirdikleri intron 3 bölgesinde T>C transisyonu (GH4.1) ve ekzon 5 bölgesinde A>C transversiyonu (GH6.2) olmak üzere iki polimorfizm tespit etmişlerdir. GH4.1^c/ GH4.1^c genotipine sahip bireylerin GH4.1^c/ GH4.1^t ve GH4.1^t/ GH4.1^t genotiplerine göre daha yüksek miktarda süt ($P \leq 0.05$), yağ ($P = 0.0076$) ve protein ($P = 0.0018$) verimine sahip olduğunu saptamışlardır. Benzer şekilde GH6.2 lokusunda da süt verim özellikleri açısından GH6.2^a allelinin daha avantajlı olduğunu gözlemlemişlerdir. Çalışmada GH4.1 ve GH6.2

gen ikame ortalama etkisinin laktasyonda ± 300 kg süt verimi, ± 8 kg yağ içeriği ve ± 7 kg protein içeriği olduğunu bildirmişlerdir.

Falaki ve ark. (1997), İtalya’da yetiştirilen Simental ırkı sığır ve boğalarda GH/TaqI polimorfizmini ile süt verim özellikleri arasındaki ilişkiyi PCR-RFLP yöntemi ile incelemişlerdir. Popülasyonda AA, AB ve BB genotip frekanslarını sığırda sırasıyla 0.853, 0.140 ve 0.007; boğalarda ise 0.797, 0.183 ve 0.020 olarak tespit etmişlerdir. Çalışmada incelenen lokusun sığırda süt verim özellikleri ile ilişkisi istatistiksel olarak önemli olmasa da, boğalarda süt verimi açısından BB genotipine sahip bireylerde damızlık değerinin AA genotipine göre yüksek olduğunu bildirmişlerdir ($P < 0.05$).

Malveiro ve ark. (2001), Algarvia keçilerinde GH geninin ekzon 1, ekzon 2, ekzon 3, ekzon 4 ve ekzon 5 bölgelerinin süt verimi üzerine etkisini PCR-SSCP yöntemi ile incelemişlerdir. Ekzon 4 bölgesindeki polimorfizmden kaynaklanan F/F genotipi ve ekzon 5 bölgesindeki A/A genotipine sahip bireylerin süt verimlerinin yüksek olduğunu bildirmişlerdir ($P < 0.05$).

Dybus (2002a), Polonya’da yetiştirilen Siyah ve Beyaz sığırda intron 3 lokusunda 329 bç uzunluğundaki bölgede GH/MspI polimorfizminin birinci, ikinci ve nc laktasyondaki süt verim özellikleri ile ilişkisini PCR-RFLP yöntemi ile incelemiştir. Popülasyonda GH⁺ ve GH⁻ allel frekanslarını sırasıyla 0.873 ve 0.127; +/+, +/-, -/- genotip frekanslarını ise 0.766, 0.215 ve 0.019 olarak tespit etmiştir. İncelenen lokus için süt verimi bakımından genotipler arası farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmuş ve GH +/+ genotipine sahip bireylerin süt verimlerinin (laktasyon I, $P \leq 0.01$; laktasyon II ve III, $P \leq 0.05$), süt yağ verimi (laktasyon I, $P \leq 0.01$), süt yağ içeriği (laktasyon I ve II, $P \leq 0.05$; laktasyon III, $P \leq 0.01$), süt protein verimi ($P \leq 0.01$), süt protein içeriği (laktasyon II, $P \leq 0.05$) bakımından avantajlı olduğunu bildirmiştir.

Dybus (2002b), Polonya’da yetiştirilen Siyah ve Beyaz sığırda ekzon 5 lokusunda GH/AluI polimorfizminin (Leu/Val) birinci, ikinci ve nc laktasyondaki süt verim özellikleri ile ilişkisini PCR-RFLP yöntemi ile incelemiştir. Popülasyonda GH^L ve GH^V allel frekanslarını sırasıyla 0.815 ve 0.185; LL, LV ve VV genotip frekanslarını ise 0.653, 0.324 ve 0.023 olarak tespit etmiştir. Çalışmada Leu/Val polimorfizminin süt, yağ ve protein verimi üzerine etkisi sadece birinci laktasyonda istatistiksel anlamda önemli bulunmuş ve LL genotipine sahip bireylerin en yüksek verime sahip olduğunu bildirmiştir ($P \leq 0.01$).

Marques ve ark. (2003), Serrana keçilerinde ekzon 1, ekzon 2, ekzon 3, ekzon 4, ekzon 5 bölgesinde GH gen polimorfizmini PCR-SSCP yöntemi ile incelemişlerdir. Çalışmada Ribatejano ekotipi için ekzon 4 bölgesinde A/B genotipinin süt, yağ ve protein verimi üzerine, ekzon 1 bölgesinde A/B ve ekzon 2 bölgesinde B/B genotiplerinin protein yüzdesi ($P<0.05$) üzerine pozitif etkisinin olduğu saptanmış, Jarmelista ekotipi için ise ekzon 2 bölgesinde A/B genotipinin süt veriminin yüksek olduğunu bildirmişlerdir ($P<0.05$).

Lan ve ark. (2007c), Çin’de yetiştirilen bazı keçi ırklarında GH geni üzerinde beş farklı lokusun süt verimi üzerine etkisini PCR-SSCP ve PCR-RFLP yöntemleri ile incelemişlerdir. Çalışmada incelenen lokuslara ilişkin primerler GH1 ve GH2 (5’ UTR); GH3 ve GH4 (ekzon 2 ve flanking bölgesi) ve GH5 (ekzon 5 ve 3’ UTR) olarak belirlenmiştir. PCR-SSCP sonuçlarına göre incelenen lokuslarda ekzon 5 bölgesinin üçüncü ve dördüncü laktasyonda süt verimi üzerine etkisinin istatistiki anlamda önemli olduğunu tespit etmişlerdir ($P=0.044$, $P=0.034$). Genomda çoğaltılan bölgelere ilişkin çok fazla varyasyon tespit edilmiş, ancak ekzon 5 ve 3’ UTR bölgesinde meydana gelen 1651T>G mutasyonu için KpnI restriksiyon enzimi kullanılarak genotipleme yapmışlardır. Genotipleme sonucunda Xinong Saanen, Laoshan, Guanzhong, Shaannan White, Guizhou White, Angora ve Boer keçi ırklarında GH-G allel frekansını sırasıyla 0.142, 0.092, 0.032, 0.131, 0.059, 0.050 ve 0.00 olarak saptamışlardır. Popülasyonlar arasında TG genotipi ve G allel frekansının süt verimi yüksek olan keçi ırklarında (Saanen ve Loashan) daha yüksek olduğu ve daha düşük süt verimi olan keçilerde (Guanzhong) daha düşük frekansta olduğunu ($P<0.05$, $P<0.01$), TT genotipi ve T allel frekansının ise Boer keçilerinde (yüksek canlı ağırlık, düşük döl verimi) ve diğer keçi ırklarında ise yüksek döl verimi ile ilişkilendirmişlerdir ($P<0.05$, $P<0.01$). Sonuç olarak TT ve TG genotipinin süt verimi, döl verimi ve doğum ağırlığı üzerine etkisinin olduğunu bildirmişlerdir.

Pawar ve ark. (2007), Hindistan’da yetiştirilen Kankrej, Gir ve Holştayn ırkı sığırlarda GH1/AluI (ekzon 5), GH2/MspI (intron 3) ve GH3/HaeIII (3’ UTR) lokusları ile laktasyon süt verimi arasındaki ilişkiyi PCR-RFLP yöntemi ile incelemişlerdir. Kankrej sığır popülasyonu GH1 lokusu için monomorfik olduğu tespit edilmiş ve GH2 lokusu için CC, CO ve DO genotip frekansları sırasıyla 0.07, 0.21 ve 0.72, GH3 lokusu için EE, EF ve FF genotip frekansları 0.13, 0.07 ve 0.80 olarak saptamışlardır. Gir sığır

popülasyonunda GH1, GH2 ve GH3 lokusları için sırasıyla AA, AB, BB genotip frekansları 0.98, 0.02 ve 0.00; CC, CO ve DO genotip frekansları 0.02, 0.27 ve 0.71; EE, EF ve FF genotip frekansları 0.08, 0.22 ve 0.72 olarak tespit edilmiştir. Holştayn sığırlarında ise GH1, GH2 ve GH3 lokusları için sırasıyla AA, AB, BB genotip frekansları 0.54, 0.40 ve 0.06; CC, CO ve DO genotip frekansları 0.86, 0.10 ve 0.04; EE, EF ve FF genotip frekansları 0.40, 0.54 ve 0.06 olarak saptanmıştır. Çalışma sonucunda Kankrej, Gir ve Holştayn sığırlarında genotipler arasındaki farklılığın etkisi birinci laktasyonda istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Ancak Kankrej ve Gir sığırlarında laktasyon süt veriminin Holştayn sığırlarından daha düşük olduğunu bildirmişlerdir ($P \leq 0.05$).

Hua ve ark. (2009), Boer keçilerinde GH1 ve GH2 polimorfizmini incelediği çalışmada GH1 bölgesinde tanımlanan A ve B allel frekanslarının sırasıyla 0.5812 ve 0.4188; AA ve AB genotip frekanslarının ise 0.1623, 0.8377 olduğunu tespit etmiştir. Aynı çalışmada GH2 bölgesine ait C ve D allel frekansını sırasıyla 0.9286 ve 0.0714; CC ve CD genotip frekanslarını ise 0.8571, 0.1429 ve 0.16 olduğunu saptamıştır. Popülasyonun Hardy Weinberg dengesinden sapma gösterdiğini bildirmiştir ($P < 0.001$).

Komisarek ve ark. (2011), Polonya’da yetiştirilen Jersey ırkı sığırlarda ekzon 5 bölgesindeki GH/AluI polimorfizmini PCR-RFLP yöntemi ile incelemişlerdir. İncelenen lokusta C ve G allel frekanslarını sırasıyla 0.53 ve 0.47; CC, CG ve GG genotip frekanslarını ise 0.31, 0.44 ve 0.25 olarak gözlemlemiş ve popülasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olduğunu saptamışlardır. Çalışmada incelenen lokusun süt verimi, süt yağ ve protein miktarı üzerine etkisi istatistiksel anlamda önemli bulunmasa da buzağılama aralığı ve servis periyodu üzerine etkisinin önemli olduğu ($P \leq 0.01$), bununla birlikte CC genotipine sahip bireylerde bu sürelerin daha kısa olduğunu gözlemlemişlerdir.

Öner ve ark. (2011), İsviçre esmeri ve Holştayn ırkı sığırlarda GH/MspI polimorfizmini PCR-RFLP yöntemi ile incelemişlerdir. Her iki ırka ait popülasyonlarda MspI (+) allel varlığı predominant olarak belirlenmiş ve MspI (+) allel frekansının İsviçre Esmeri ve Holştayn ırkı sığırlarda sırasıyla 0.9623 ve 0.8158 olduğunu tespit etmişlerdir. Her iki ırk için popülasyonların Hardy-Weinberg dengesinde olduğunu bildirmişlerdir.

Krasnopiorova ve ark. (2012), Litvanya’da yetiştirilen 10 farklı sığır ırkı üzerinde GH/AluI polimorfizmini PCR-RFLP yöntemi ile incelemişlerdir. Popülasyon genelinde A ve B allel frekansını sırasıyla 0.751 ve 0.249 olduğunu ve A allel frekansının (0.900) Hereford ırkında, B allel frekansının (0.438) ise Simental ırkında yaygın olduğunu tespit

etmişlerdir. AA, AB ve BB genotip frekanslarının ise popülasyon genelinde sırasıyla 0.629, 0.244 ve 0.127 olduğunu ve AA, AB ve BB genotip frekanslarının sırasıyla Hereford (0.900), Lithuanian Black (0.556) ile Lithuanian Black ve White (0.375) sığır popülasyonlarında yaygın olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmada incelenen lokusun laktasyon süt verimi, süt yağ oranı ve protein verimi üzerine etkisi istatistiksel anlamda önemli bulunurken ($P<0.05$), A allelinin süt yağ yüzdesini artırdığı ve B allelinin ise laktasyon boyunca süt volümünü artırdığını bildirmişlerdir.

Heidari ve ark. (2012), Holştayn sığırlarında intron 4 ve ekzon 5 bölgelerini içeren 282 bç uzunluğundaki GH/AluI lokusunu PCR-RFLP yöntemi ile incelemişler ve L ile V allel frekansının sırasıyla 0.884 ve 0.116 olduğunu tespit etmişlerdir. GH/AluI lokusun sığırlarda süt verimi üzerine etkisinin istatistiki olarak önemli ($P<0.05$) olduğunu belirtmişlerdir. İncelenen lokusta LL genotipine sahip hayvanların LV genotipine sahip hayvanlara göre daha fazla süt verimine sahip olduklarını ($P<0.05$) ancak VV genotipine sahip bireylerin diğer genotiplere göre daha yüksek süt verimine sahip olsalar da bu farklılığın istatistiksel düzeyde önemli olmadığını bildirmişlerdir.

Dettori ve ark. (2013), İtalya’da yetiştirilen Sarda keçilerinde GH gen polimorfizmi ile süt verim özellikleri ile ilişkisini PCR-SSCP yöntemi ve sekanslama yaparak incelemişlerdir. Ekzon 1 ve ekzon 5 arasındaki bölge sekanslanmış ve 14 polimorfik, 7 monomorfik olmak üzere toplamda 21 adet SNP tespit etmişlerdir. Çalışmada ekzon 2, ekzon 3, ekzon 4 ve ekzon 5’in süt verimi; ekzon 1 ve ekzon 3’ün süt yağ oranı; ekzon 1, ekzon 3, ekzon 4 ve ekzon 5’in ise süt protein oranı üzerine etkisinin istatistiksel anlamda önemli olduğunu bildirmişlerdir ($P<0.01$).

Rincon ve ark. (2013), Kolombiya’da yetiştirilen Holştayn sığırlarında intron 3 bölgesini içeren GH/MspI polimorfizmi ile süt verimi ve kompozisyonu arasındaki ilişkiyi PCR-RFLP yöntemi ile incelemişlerdir. Popülasyonda +/+, +/- ve -/- genotip frekansları sırasıyla 0.73, 0.26 ve 0.01 olarak saptamışlardır. Bununla birlikte incelenen lokusun süt verimi ve süt protein oranı üzerine etkisi önemli bulunurken ($P<0.05$), +/+ genotipine sahip bireylerinin süt verimlerinin yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Hadi ve ark. (2015). İran’da yetiştirilen Holştayn ırkı sığırlarda ekzon 5’te yer alan 428 bç uzunluğundaki bölgede GH/AluI polimorfizmini PCR-RFLP yöntemi ile incelemişlerdir. Popülasyonda L ve V allel frekansını sırasıyla 0.69 ve 0.31; LL, LV ve VV genotip frekanslarını ise yine aynı sıra ile 0.39, 0.61 ve 0.00 olarak saptamışlardır.

Çalışmada incelenen lokusun süt verimi üzerine etkisinin istatistiksel anlamda önemli olmadığını bildirmişlerdir.

Mete (2016), Kıl keçilerinde GH1 ve GH2 polimorfizmini incelediği çalışmada GH1 bölgesinde tanımlanan A ve B allel frekanslarını sırasıyla 0.51 ve 0.49; AA, AB ve BB genotip frekanslarını ise 0.19, 0.65 ve 0.16 olduğunu tespit etmiştir. Aynı çalışmada GH2 bölgesine ait C ve D allel frekansını sırasıyla 0.50 ve 0.50; CC, CD ve DD genotip frekanslarını ise 0.16, 0.68 ve 0.16 olduğunu saptamıştır. Popülasyonun Hardy Weinberg dengesinden sapma gösterdiğini bildirmiştir ($P<0.001$).

Arslan ve ark. (2016), Holştayn sığırlarında GH1 geni ile süt verimi arasındaki ilişkiyi inceledikleri çalışmada C ve T allel frekanslarını sırasıyla 0.847 ve 0.153; CC, CT ve TT genotip frekanslarını ise yine aynı sıra ile 0.73, 0.24 ve 0.03 olarak tespit etmişlerdir. Çalışmada genotipler ile ekspresyon seviyeleri arasında istatistiksel anlamda önemli bir ilişki olmadığını saptamışlardır. İncelenen lokusta genotipler arası farklılığın laktasyon süt verimi üzerini bir etkisi olmazken günlük süt verimi üzerine etkisi istatistiksel anlamda önemli olduğunu tespit edilmiş ($P<0.05$) ve TT genotipine sahip bireylerin günlük süt verimlerinin daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Çalışmanın Yürütüldüğü Bölgeye Ait Bilgiler

Kilis ili Hatay-Maraş oluğu ile Fırat ırmağı arasında uzanan Gaziantep platosunun güneybatı kısmında olup Türkiye-Suriye sınırı boyunca yer alır. Bu konumuyla saha, Akdeniz ve Güneydoğu Anadolu Bölgeleri arasındaki geçiş kuşağı üzerinde bulunur (Kesici, 1994). Kilis ili 38 derece 27' ve 38 derece 01' boylamları ile 36 derece 38' ve 37 derece 32' arasında bulunmakta ve yüzölçümü 1.428 km² olduğu bildirilmektedir (Anonim, 2019c). Meteoroloji Genel Müdürlüğü'nün son 59 yıllık verileri incelendiğinde Kilis'te yıllık sıcaklık ortalaması 17.2 °C, yıllık ortalama en yüksek sıcaklık 23.4 °C ve en düşük sıcaklık ise 11.8 °C'dir. Bununla birlikte, yıllar arasında en yüksek sıcaklığın 44.9 °C ve en düşük sıcaklığın ise -12 °C'ye ulaştığı görülmektedir (Anonim, 2019d).

Kilis ilinde bitkisel üretim ve hayvancılık önemli bir gelir kaynağıdır. TÜİK 2018 yılı verilerine göre il nüfusu 142.541 olduğu görülmektedir. Kilis ili yüzölçümü 1.428 km², bu toprakların yaklaşık %70'ini tarım arazileri oluşturmaktadır. Bununla birlikte Çiftçi Kayıt Sistemi'ne (ÇKS) kayıtlı arazi varlığının 526.304 da ve ÇKS'ye kayıtlı çiftçi sayısının ise 8.795 kişi olduğu bilinmektedir (TÜİK, 2019). Kilis ilinin coğrafi konumu Şekil 3.1.'de sunulmuştur (Anonim, 2019c).



Şekil 3.1. Kilis ilinin coğrafi konumu

3.1.2. Hayvan Materyali

Türkiye’de genellikle Kilis, Hatay, Gaziantep, Adana, Adıyaman, Mersin ve Kahramanmaraş illerinde yetiştiriciliği yapılan ve yerli gen kaynaklarımızdan olan Kilis keçileri sütçü bir ırk olup ekstansif ve yarı entansif şartlarda yetiştirilmektedir. Kilis keçilerinin yetiştirici koşullarında Osmanlı Devleti zamanından bu yana Suriye orjinli olan Damascus (Şam) keçileri ile yerli keçi ırklarımızdan olan Kıl keçilerinin kontrolsüz olarak çiftleştirilmesi sonucu ortaya çıkmış olduğu düşünülmektedir. Kilis keçilerinin morfolojik olarak Kıl keçilerinden daha iri ve Damascus keçilerinden ise daha küçük yapıda olduğu görülmektedir. Bununla birlikte uzun kulak yapısı, dış bükey burun, meme yapısı ve kıl örtüsü ile benzerlik göstermektedir. T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı HAYBİS Veteriner bilgi sistemi kayıtlarında ırk olarak kayıtlı olmasa da birçok ilde yetiştiriciliği yapılan Kilis keçilerinin sayısal varlığının yaklaşık 500.000 baş civarında olduğu tahmin edilmektedir (Keskin ve ark., 1996; Keskin, 2000; Keskin ve ark., 2016; Keskin ve ark., 2017a; 2017b).

Kilis keçileri geçmişten günümüze yüksek süt ve döl verimi özellikleri nedeniyle birçok araştırmacıya çalışma konusu olmuştur (Yarkın ve Sönmez, 1961; Şengonca, 1974; Tuncel ve Aşkın, 1982; Tuncel ve ark., 1983; Yalçın, 1986; Özcan, 1989; Baltacı, 1990; Güney ve ark., 1992; Keskin, 1995; Keskin ve ark., 1996; Özder, 2006; Aktepe, 2009; Alizadehasl ve Ünal, 2011; Gül ve ark., 2016; Keskin ve ark., 2016; Keskin ve ark., 2018; Özdemir ve Keskin 2018). Kilis keçileri morfolojik olarak genellikle siyah renkli uzun kıl örtüsüne sahip olmakla birlikte sürülerde gri-kahverengi ve alaca renklere de rastlanmaktadır. Kulaklar uzun ve sarkıktır. Boynuzlu ve boynuzsuz tipler de mevcuttur. Boynuzlar dişi keçilerde küçük ve arkaya kıvrık, tekelerde ise kuvvetli ve uzundur. Kemik ve kas gelişimi ile iyi bir vücut yapısı, gelişmiş meme yapısı ile de sütçü tip görünümü öne çıkmaktadır. Cidago yüksekliği tekelerde 56-75 cm, dişi keçilerde ise 60-70 cm olmakla birlikte canlı ağırlık tekelerde 50-60 kg, dişi keçilerde ise 35-45 kg dolaylarındadır. Sütçü bir ırk olarak kabul edilen Kilis keçilerinin laktasyon süreleri ortalama 260 gün, laktasyon süt verimleri 200-300 kg olmasının yanında iyi bakım besleme koşulları altında 400-500 kg’a kadar ulaşmaktadır. Özcan ve ark. (1974) bildirişine göre Kilis keçilerinin 171 günlük laktasyonda 204.5 kg süt verimi ve doğum başına düşen döl verimi ise 1.1 olarak saptanmıştır. Eker (1968) tarafından sütlerindeki

yağ oranının diğer ırklardan daha yüksek olduğu ve keçi başına ortalama 500-600 g kıl verimine sahip olduğu bildirilmiştir (Özder, 2006; Güney, 2010).

Yapılan çalışmalarda Kilis keçilerinin gebelik oranı %100, doğuran keçiye göre oğlak verimi %128.2, laktasyon süresi 177.9 gün ve pazarlanabilir süt veriminin 95.24 l olduğu (Keskin ve ark., 1996) ve Kilis keçisi oğlaklarında ise doğum ağırlıklarının 2.33 ile 5.60 kg arasında değiştiği bildirilmiştir (Keskin ve Tüney, 2015). Kilis keçilerinin ekstansif şartlarda doğuran keçiye göre oğlak verimi %115.56, pazarlanabilir süt verimi 215.5 l, laktasyon süresi 212.5 gün, laktasyon süt verimi 293.7 l; yarı entansif şartlarda ise doğuran keçiye göre oğlak verimi %131.1, pazarlanabilir süt verimi 304.1 l, laktasyon süresi 256.5 gün, laktasyon süt verimi ise 408.3 l olarak bildirilmiştir (Gül ve ark., 2016). Kilis x Kıl melezi keçilerde tek doğum oranı %50, ikiz doğum oranı %50, doğum ağırlığı 3.5 kg, sütten kesim ağırlığı 10.1 kg ve pazarlanabilir süt verimi 298.6 l olarak hesaplanmıştır (Keskin ve ark., 2016). Yine Kilis keçilerinde 2013, 2014 ve 2015 yıllarına ait laktasyon süresi sırasıyla 226.8, 207.1 ve 232.4 gün; laktasyon süt verimi 347.6, 315.7 ve 375.6 kg; doğum oranı %89.0, %87.3 ve %90.0; doğum ağırlığı 3.7, 3.5 ve 3.4 kg; sütten kesim ağırlığı 11.9, 12.8 ve 12.1 kg; döl verimi 1.36, 1.23 ve 1.33; tek doğum oranı %67.2, %64.3 ve %68.5; ikizlik oranı %30.4, %31.4 ve %29.7; üçüzlük oranı %2.4, %4.3 ve %1.8 ve yaşama gücünün ise %83.2, %91.4 ve %92.7 olduğu bildirilmiştir (Keskin ve ark., 2017b). Bir diğer çalışmada ise Kilis keçilerinde pazarlanabilir süt veriminin 295.2 l olduğu bildirilmiştir (Gül ve ark., 2018). Kilis keçilerinde yıllık ortalama doğum oranı %87.3-90, döl verimi 1.23-1.36, doğum ağırlığı 3.4-3.7 kg, sütten kesim ağırlığı 11.9-12.8 kg, laktasyon süresi 207-232 gün ve laktasyon süt verimlerinin 315-375 kg arasında değiştiği bildirilmiştir (Keskin ve ark., 2018). Kilis ve Gaziantep illerinde yapılan bir çalışmaya göre ise ikizlik oranı sırasıyla %35.9 ve %27.1; doğum ağırlığı, 3.5 kg ve 3.6 kg; sütten kesim ağırlığı, 12.7 ve 13.1 kg; laktasyon süresi 227.7 ve 165.6 gün ve pazarlanabilir süt verimi 308.8 ve 212.8 l olduğu bildirilmiştir (Özdemir ve Keskin, 2018).

Bu çalışma kapsamında kullanılan Kilis keçilerine ait bir görünüm Şekil 3.2.'de sunulmuştur (Fotoğraf: Sabri Gül). Fotoğraftan da anlaşılacağı üzere siyah kıl örtüsü popülasyonda dominant olarak karşımıza çıkarken farklı renkte kıl rengine sahip olan bireylerde görülmektedir.



Şekil 3.2. Kilis keçisi sürüsünden bir görünüm

Çalışma, “Halk Elinde Ülkesel Küçükbaş Hayvan Islahı” projesinin alt projesi olan, T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü (TAGEM) ile Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü Öğretim Üyesi Prof. Dr. Mahmut KESKİN liderliğinde gerçekleştirilen ve Kilis Koyun Keçi Yetiştiricileri Birliği tarafından ortaklaşa yürütülen “Kilis Keçilerinin Halk Elinde Islahı” projesi kapsamında yürütülmüştür. Kilis ilinde bu proje kapsamında üzerinde durulan gen bölgelerinin süt verim özellikleri ile ilişkilerini tespit etmek amacıyla 4 elit sürüden toplamda 227 baş dişi keçiden kan örneği alınmıştır. Çalışmada örnekleme yapılan sürülere ait bilgiler ve hayvan sayıları aşağıda Çizelge 3.1.’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Denemede kullanılan sürülere ait bilgiler

Yetiştirici Adı	Kısaltma	Lokasyon	Örnek Sayısı	Sürü
Abdi SÜRÜCÜ	ASR	Merkez, Kuzuni	33	Elit
Ökkaş DOĞANYILMAZ	ÖDY	Merkez, Yukarı Beşenli	56	Elit
Cemil KAYA	CKY	Merkez, Çengel	95	Elit
Osman ÇOBAN	OÇB	Merkez, Karataş	43	Elit
Toplam			227	

3.2. Yöntem

Çalışmada POU1F1 (intron 5, ekzon 6, 3' flanking bölgesi), PRLR (3' UTR), β -laktoglobulin (ekzon 7, 3' UTR), GH1 (ekzon 2, intron 2 ve ekzon 3) ve GH2 (ekzon 4) genleri üzerinde belirtilen lokuslardaki polimorfizmler belirlenmiş ve genotipler ile ele alınan süt verim özellikleri arasında bir ilişkinin olup olmadığı tespit edilmiştir. Söz konusu gen bölgelerindeki polimorfizmleri belirlemek amacıyla alınan kan örneklerinden DNA ekstraksiyonu, elde edilen DNA'ların kalite ve miktar tayini, incelenecek olan genler üzerinde belirlenen bölgelerin PCR ile çoğaltılması, çoğaltılan bölgelerde polimorfizm varlığı ya da yokluğunu saptamak amacıyla PCR-RFLP analizi ve genotipleme yapılmıştır. Çalışmanın laboratuvar analizleri Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tarımsal Biyoteknoloji ve Gıda Güvenliği Uygulama ve Araştırma Merkezi (ADÜ-TARBIYOMER) bünyesinde gerçekleştirilmiştir. Çalışmada araştırma yönteminin işlem basamakları sırasıyla aşağıda verilmiştir.

Projenin Etik Kurul izni Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu yönergesine uygun bulunarak 29.09.2016 tarih 2016/8-1 numaralı karar ile tarafımıza bildirilmiştir.

3.2.1. Kilis Keçilerine Ait Fenotipik Verilerin Toplanması

Laktasyon süt verimi hesaplamak için, 2017 yılında oğlakların doğumunu takiben Ocak ve Ekim ayları arasında 28'er günlük dönemler halinde süt verim kontrolleri yapılmıştır. Süt veriminin tespiti, ICAR yöntemi ATC metoduna göre yapılmıştır (Eşitlik 3.1). Daha sonra her keçi için laktasyon süt verimlerinin hesaplanmasında Fleischman metodu (Eşitlik 3.2) kullanılmıştır (Keskin, 2000).

$$K_{SV} = B_A \frac{S_T}{S_A} \quad (3.1)$$

K_{SV} , Kontrol günü süt verimi, kg

B_A , Bireyin akşam süt verimi, kg

S_T , Sürünün sabah ve akşam toplam süt verimi, kg

S_A , Sürünün akşam toplam süt verimi, kg

$$Y = A_1X_1 + (A_2 - A_1) \frac{X_1+X_2}{2} + \dots + (A_n - A_{(n-1)}) \frac{X_{(n-1)}+X_n}{2} \quad (3.2)$$

Y, süt verimi, kg

A, iki süt kontrolü ara süre, gün

X, kontrol günü süt verimi, kg

Laktasyon süresi, oğlakların doğması neticesinde laktasyonun başlaması ile son süt kontrolünün yapıldığı tarihler arasındaki gün sayısı olarak hesaplanmıştır.

Ortalama günlük süt verimi, hesaplanan laktasyon süt veriminin laktasyon süresine bölünmesi ile hesaplanmıştır.

3.2.2. Kan Örneklerinin Toplanması ve Muhafaza Edilmesi

Kan örnekleri tekniğine uygun olarak hayvanların Vena Jugularis'ine hafif baskı yapılarak iğne tutucuya (holder) yerleştirilen iğne ile antikoagülant olarak K3-EDTA içeren vakumlu tüplere kontrollü bir şekilde dolması sağlanmıştır (Şekil 3.3). Yaklaşık 9 ml kan toplanan tüplerin üzerine hayvanın kulak numarası, işletme bilgileri ve tarih yazılmış, +4 °C'de laboratuvara getirilmiş ve moleküler genetik analizlerin gerçekleştirileceği tarihe kadar -20 °C'de muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.3. Kilis keçilerinden kan örneği alınırken bir görünüm

3.2.3. DNA İzolasyonu

Genetik materyalde bilgi, canlı organizmaların hücre çekirdeğinde, organellerde, mitokondride DNA veya RNA şeklinde depolanmaktadır. DNA ve RNA moleküler düzeyde bir azotlu baz, bir pentoz şekeri (5 karbonlu şeker) ve bir fosfat grubu içermektedir (Klug ve ark., 2005). DNA molekülü kullanılarak yapılacak çalışmalarda yüksek molekül ağırlığına sahip DNA molekülünün saf bir şekilde elde edilmesi çalışmanın ve sonuçların doğruluğu açısından önemlidir (Cseke ve ark., 2004). Bu bağlamda DNA izolasyonu için birçok teknik geliştirilmiş ve günümüzde fenol-kloroform (Sambrook ve Russel, 2006), tuzla çöktürme (Miller ve ark., 1988; Montgomery ve Sise, 1990) ve ticari DNA izolasyon kitleri gibi birçok yöntem kullanılmaktadır.

DNA izolasyonu için temel basamaklar aşağıdaki gibidir (Doyle, 1996; Watson ve ark., 2004; El-Ashram ve ark., 2016).

- Lysis; Hücre duvarının ve membranının çeşitli kimyasal ve enzimler aracılığıyla parçalanarak (Tris, EDTA, SDS, Proteinaz K gibi) DNA molekülünün serbest bırakılması ve DNA'yı hidrolize eden enzimlerin inaktive edilmesi işlemidir.
- Purifikasyon; Bazı yöntemler ile (organik ekstraksiyonu, tuzla çöktürme, sezyum klorid yoğunluk gradiyenti gibi) protein bileşiklerinin ve RNA'nın DNA molekülünden uzaklaştırılması ve çözünür hale getirilmesi işlemidir.
- Presipitasyon; Çözünebilir hale gelen DNA molekülünün soğuk etanol ile yıkanması ile yoğunlaştırılması sonucu görünür hale gelmesiyle Tris-EDTA ile çözdürülmesi işlemidir.

Çalışmada, keçilerden alınan kan örneklerinden DNA ekstraksiyonu, Miller ve ark. (1988) ile Montgomery ve Sise (1990) tarafından bildirilen tuzla çöktürme protokolü esas alınarak yapılmıştır (Şekil 3.4). Analizlerde kullanılan stok çözeltilerin içerikleri ile DNA ekstraksiyon protokolüne ait bilgiler Ek 1 ve Ek 2'de sunulmuştur. Ek 2'de belirtilen protokole ek olarak DNA miktarı ve kalitesini arttırmak amacıyla protokolde bazı modifikasyonlar yapılmıştır.



Şekil 3.4. Çalışmada kullanılan kan örnekleri ve elde edilen genomik DNA

3.2.4. Kalite ve Miktar Tayini

Spektrofotometreler, sıvı içerisine belli dalga boyunda ışık gönderildikten sonra ışığın sıvı içerisinde ne kadarının absorbe edilip edilmediği esasına dayanarak çalışır. Sıvı içerisindeki madde miktarına bağlı olarak soğurulan ışığın miktarı değişir. Gönderilen ve geçen ışık oranı absorbans adı verilen optik dansite (OD) değeri ile ölçülür. Spektral ölçümlerde nükleik asitler (DNA, RNA) 260 nm ve proteinler ise 280 nm maksimum absorbansa sahiptir. Bu iki dalga boyunda elde edilen absorbansların oranı (A_{260}/A_{280}) ise saflık derecesini verir. Beklenen saflık değeri ise DNA için ~ 1.8 , RNA için ise ~ 2.0 olarak kabul edilir. Benzer şekilde 230 nm dalga boyunda elde edilen absorbans değerleri ise bize kontaminasyon (fenol, trizol, glikojen, protein, vs) varlığını göstermektedir (Sambrook ve ark., 1989).

DNA izolasyonu sonucunda elde edilen genomik DNA'larda kalite tayini yapmak ve miktarını saptamak üzere NanoDrop Spektrofotometre (Thermo Fisher 2000/2000c, USA) cihazı kullanılmıştır. Örneklerin saflığı için A_{260}/A_{280} değeri 1.7-2.0 aralıkta, miktarı ise 50-100 ng/ μ L aralığında olacak şekilde optimize edilmiştir. Elde edilen genomik DNA'lar %1'lik agaroz jel elektroforezde yürütülerek kontrol edilmiş ve PCR işlemi gerçekleştirilinceye kadar +4 °C'de muhafaza edilmiştir. Elektroforez aşamasında kullanılan TBE Elektroforez/Jel Tampon Çözeltisi ile ilgili protokol Ek 3'te sunulmuştur.

Çalışmada DNA izolasyonu sonrasında kalite ve miktar tayini yapmak üzere kullanılan NanoDrop Spektrofotometre cihazı (Thermo Fisher Scientific, USA) Şekil 3.5'te görülmektedir.



Şekil 3.5. NanoDrop Spektrofotometre cihazı

3.2.5. PCR ile DNA Çoğaltımı

PCR (Polymerase Chain Reaction, Polimeraz Zincir Reaksiyonu), herhangi bir organizmaya ait bir hücre döngüsünde doğal olarak gerçekleşen DNA kopyalama işleminin, in vitro koşullarda Thermal Cycler (termal döngüleyici) cihazı kullanılarak çeşitli kimyasallar yardımıyla bir tüp içerisinde taklit edilmesidir (Mullis, 1990). PCR temel işlem basamakları aşağıdaki gibidir.

➤ Denaturation (DNA zincirinin açılması)

Genomik DNA'nın yaklaşık 5 dakika süre boyunca 92-95 °C derece aralığında denatüre edilerek ikili sarmal yapı arasındaki hidrojen bağlarının kırılması sonucu açılarak çift sarmal yapıdan tek zincir haline gelmesi işlemidir. İşlem sonucunda iki yeni komplementer (tamamlayıcı) zincir elde edilmektedir (Watson ve ark., 1992).

➤ Annealing (Primerlerin açılan DNA zincirine bağlanması)

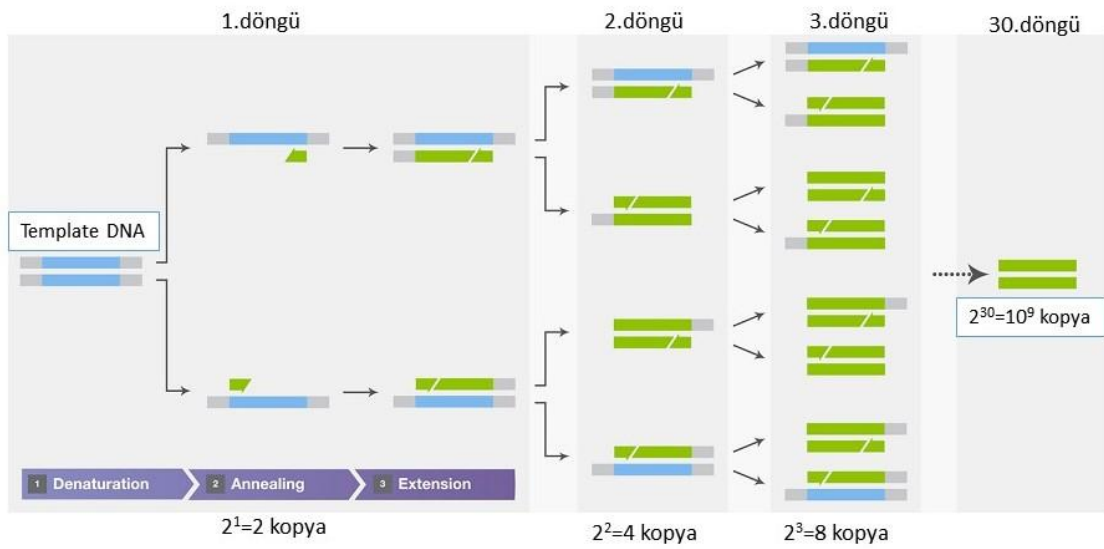
Genomik DNA üzerinde hedeflenen bölgenin çoğaltılması amacıyla primerlerin belirlenen sıcaklıkta komplementer zincirlere yapışması sağlanır. Bu basamakta Thermal Cycler cihazında 30-90 saniye süre için hesaplanan annealing sıcaklığına (37-65 °C) düşürülmektedir. Annealing sıcaklığı genel olarak primer üzerindeki nükleotidler dikkate alınarak $2(A+T) + 4(C+G)$ şeklinde hesaplanmaktadır. Oligonükleotid primerler tasarlanırken ise primer-dimer yapısı oluşturmayacak şekilde sentezlenmelidir (Innis ve Gelfand, 1990).

➤ Primer Extension (Bağlanan primerlerin uzaması)

Komplementer zincirlere bağlanan primerler optimum çalışma sıcaklığı olan 72 °C’de yaklaşık 5 dakika süre boyunca DNA polimeraz enzimi aracılığıyla çözelti içinde bulunan dNTP (deoksiribonükleozid trifosfatlar) bazlarının (A,C,T,G) 5’ → 3’ yönünde primerin 3’ OH ucuna eklenerek yeni oluşan zincirin uzamasını sağlar (Erlich ve ark., 1991). Çoğaltılması hedeflenen bölge, iki oligonükleotid primerinin arasında kalan bölgenin uzunluğu kadardır (Hadidi ve ark., 1995; McPherson ve Moller, 2000).

Bu işlem basamakları Thermal Cycler’da 25-45 defa tekrarlanarak çoğaltılmak istenen DNA fragmentinin milyarlarca kopyası elde edilir (Şekil 3.6.). PCR işlemi sonucunda elde edilen DNA fragmentleri çeşitli boyalar ile boyanarak elektroforezde gözlemlenir (Hadidi ve ark., 1995).

Termal döngüleyicide gerçekleşen reaksiyon esnasında hedef bölgelerin çoğaltımı ile ilgili görsel Şekil 3.6.’da sunulmuştur (Anonim, 2019e).



Şekil 3.6. PCR döngüsü

Çalışmada POUF1, PRLR, B-LG, GH1 ve GH2 genine ait kullanılan primerler ile ilgili bilgiler Çizelge 3.2.’de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan primerlerin baz dizilimleri

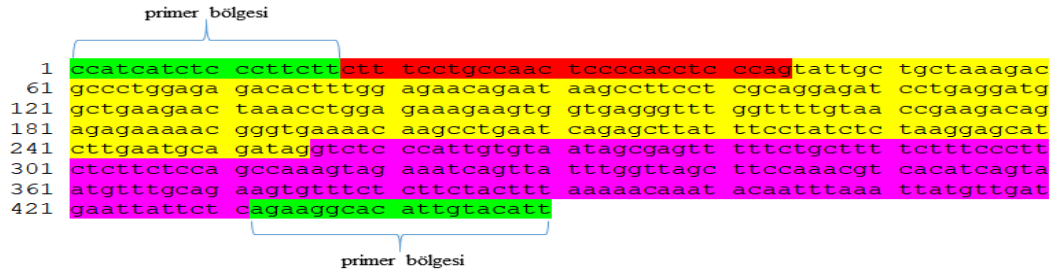
Primer ismi	Primer Baz dizisi	Ürün boyutu
POU1F1_F	5'-CCA TCA TCT CCC TTC TT-3'	450 bç
POU1F1_R	5'-AAT GTA CAA TGT GCC TTC T-3'	
PRLR_F	5'-AGT GAG AGT TAT GGA AGG ATG-3'	443 bç
PRLR_R	5'-AAG GTT AAG CAA CTG GTC TT-3'	
β-LG_F	5'-CGG GAG CCT TGG CCC CTC TG-3'	427 bç
β-LG_R	5'-CCT TTG TCG AGT TTG GGT GT-3'	
GH1_F	5'-CTC TGC CTG CCC TGG ACT-3'	422 bç
GH1_R	5'-GGA GAA GCA GAA GGC AAC C-3'	
GH2_F	5'-TCA GCA GAG TCT TCA CCA AC-3'	116 bç
GH2_R	5'-CAA CAA CGC CAT CCT CAC-3'	

NCBI gen bankası MH892432.1 erişim numaralı referans nükleotid dizisi verilen POU1F1 geni intron 5'in bir kısmı (1-44 bç), ekzon 6 (45-255 bç) ve 3' flanking bölgesini (256-450 bç) içeren 450 baz çifti uzunluğundaki gen bölgesinin baz dizilimi Şekil 3.7.'de verilmiştir.

POU1F1 geni hedeflenen bölge için POU1F1-F (CCATCATCTCCCTTCTT) ve POU1F1-R (AATGTACAATGTGCCTTCT) primerleri kullanılarak PCR ile amplifikasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu primerlerin birçok araştırmacı tarafından da kullanıldığı bilinmektedir (Lan ve ark., 2007b; Lan ve ark., 2009b; Feng ve ark., 2012; Li ve ark., 2016; Işık, 2016). Ancak, araştırmacıların da literatürlerinde bildirdikleri bu primerler laboratuvar analizleri yapılırken PCR aşamasında üzerinde çalışılan popülasyon için genomda hedeflenen bölgeye spesifik olarak bağlanamadığı tespit edilmiş ve primerler üzerinde bazı modifikasyonlar yapılmıştır. Bu bağlamda, anılan araştırmacıların literatürlerinde belirtilen PRLR-R primerinin ucundaki son üç nükleotid olan -GAG- dizisi çıkartılarak primerler sentezletirilmiştir.

PCR amplifikasyonu sırasında kullanılan reaksiyon bileşenleri için toplam 30 µl PCR karışımı; ~100 ng genomik DNA, 1X PCR Buffer (10 mM Tris-HCl pH 8.3, 50 mM KCl, NEB), 2 mM MgCl₂, 200 µM dNTP mix (ABM), 0.5 µM forward ve reverse primer, 0.625 U Taq DNA polimeraz (NEB) olacak şekilde hazırlanmış ve Çizelge 3.3.'te sunulmuştur.

Termal Cycler protokolü, ilk denatürasyon 95°C'de 5 dk, denatürasyon 94°C'de 45 sn (36 döngü), bağlanma 52°C'de 45 sn, uzama 68°C'de 1 dk ve son uzama 68°C'de 10 dk olacak şekilde düzenlenmiştir. Termal Cycler protokolü ise Çizelge 3.4.'te verilmiştir.



Şekil 3.7. POU1F1 geni üzerinde çoğaltılan bölge

NCBI gen bankası KJ572972.1 erişim numaralı referans nükleotid dizisi verilen PRLR geni 3' UTR (1-443 bp) içeren 443 baz çifti uzunluğundaki gen bölgesinin baz dizilimi Şekil 3.8.'de verilmiştir.

PRLR geni üzerinde hedeflenen bölgeyi çoğaltmak üzere PRLR-F (AGTGAGAGTTATGGAAGGATG) ve PRLR-R (AAGGTTAAGCAACTGGTCTT) primerleri kullanılarak PCR ile amplifikasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu primerler bir çok araştırmacı tarafından da kullanılmıştır (Hou ve ark., 2014b; An ve ark., 2015)

PCR amplifikasyonu sırasında kullanılan reaksiyon bileşenleri için toplam 30 µl PCR karışımı; ~100 ng genomik DNA, 1X PCR Buffer (750 mM Tris-HCl pH: 8.8, 200 mM (NH₄)₂SO₄, 0.1 %(v/v) Tween 20, Thermo Scientific, USA), 2 mM MgCl₂, 200 µM dNTP mix (ABM), 1 µM forward ve reverse primer, 1 U Taq DNA polimeraz (Thermo Scientific, USA) olacak şekilde hazırlanmış ve Çizelge 3.3.'te sunulmuştur.

Termal Cyler protokolü, ilk denatürasyon 95°C'de 5 dk, denatürasyon 94°C'de 40 sn (35 döngü), bağlanma 51.4°C'de 40 sn, uzama 72°C'de 1 dk ve son uzama 72°C'de 10 dk olacak şekilde düzenlenmiştir. Termal Cyler protokolü ise Çizelge 3.4.'te verilmiştir.



Şekil 3.8. PRLR geni üzerinde çoğaltılan bölge

NCBI gen bankası Z33881.1 erişim numaralı referans nükleotid dizisi verilen β -LG geni ekzon 7'nin bir kısmı (1-174 bç) ve 3' UTR (175-427 bç) içeren 427 baz çifti uzunluğundaki gen bölgesinin baz dizilimi Şekil 3.9.'da verilmiştir.

β -LG geni hedeflenen bölge için β -LG-F (CGGGAGCCTTGGCCCCTCTG) ve β -LG-R (CCTTTGTCGAGTTTGGGTGT) primerleri kullanılarak PCR ile amplifikasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu primerler birçok araştırmacı tarafından da kullanılmıştır (El-Hanafy ve ark., 2010; 2015).

PCR amplifikasyonu sırasında kullanılan reaksiyon bileşenleri için toplam 30 μ l PCR karışımı; ~100 ng genomik DNA, 1X PCR Buffer (10 mM Tris-HCl pH 8.3, 50 mM KCl, NEB), 1.5 mM MgCl₂, 200 μ M dNTP mix (ABM), 0.5 μ M forward ve reverse primer, 0.625 U Taq DNA polimeraz (NEB) olacak şekilde hazırlanmış ve Çizelge 3.3.'te sunulmuştur.

Termal Cycler protokolü, ilk denatürasyon 95°C'de 5 dk, denatürasyon 95°C'de 40 sn (35 döngü), bağlanma 60.9°C'de 1 dk, uzama 68°C'de 90 sn ve son uzama 68°C'de 10 dk olacak şekilde düzenlenmiştir. Termal Cycler protokolü ise Çizelge 3.4.'te verilmiştir.



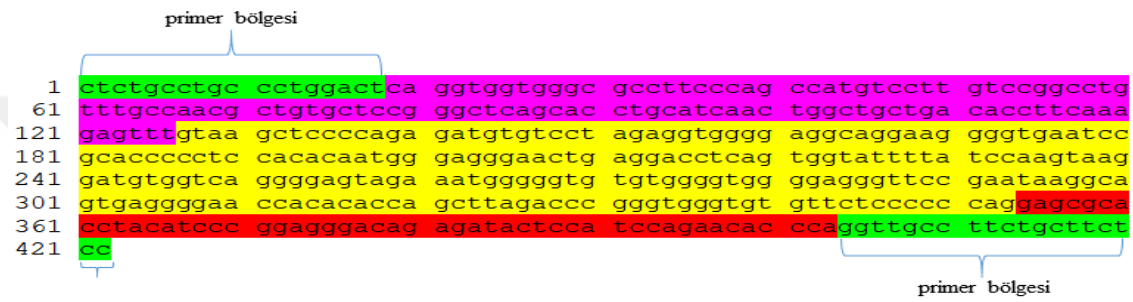
Şekil 3.9. β -LG geni üzerinde çoğaltılan bölge

NCBI gen bankası D00476.1 erişim numaralı referans nükleotid dizisi verilen GH1 geni ekzon 2'nin bir kısmı (1-126 bç), intron 2 (127-353 bç) ve ekzon 3 bölgesinin (354-422 bç) bir kısmını içeren 422 baz çifti uzunluğundaki gen bölgesinin baz dizilimi Şekil 3.10.'da verilmiştir.

GH geni üzerinde iki farklı bölge incelenmiştir. GH geni GH1 bölgesi için GH1-F (CTCTGCCTGCCCTGGACT) ve GH1-R (GGAGAAGCAGAAGGCAACC) primerleri kullanılarak PCR ile amplifikasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu primerler birçok araştırmacı tarafından da kullanılmıştır (Hua ve ark., 2009; Mete, 2016).

PCR amplifikasyonu sırasında kullanılan reaksiyon bileşenleri için toplam 30 µl PCR karışımı; ~100 ng genomik DNA, 1X PCR Buffer (750 mM Tris–HCl pH: 8.8, 200 mM (NH₄)₂SO₄, 0.1%(v/v) Tween 20, Thermo Scientific, USA), 2 mM MgCl₂, 200 µM dNTP mix (ABM), 0.6 µM forward ve reverse primer, 1 U Taq DNA polimeraz (Thermo Scientific) olacak şekilde hazırlanmış ve Çizelge 3.3.’te sunulmuştur.

Termal Cyclor protokolü, ilk denatürasyon 95°C’de 5 dk, denatürasyon 95°C’de 30 sn (36 döngü), bağlanma 63°C’de 30 sn, uzama 72°C’de 45 sn ve son uzama 72°C’de 10 dk olacak şekilde düzenlenmiştir. Termal Cyclor protokolü ise Çizelge 3.4.’te verilmiştir.



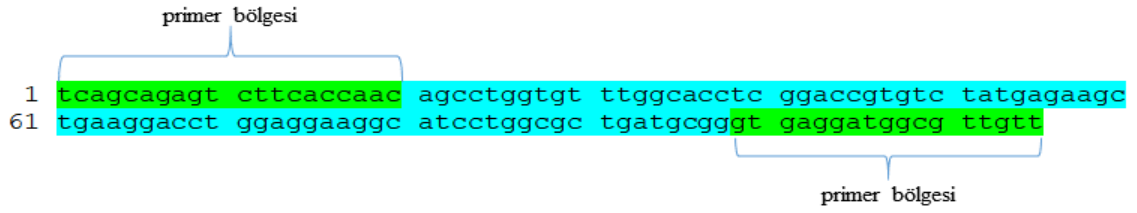
Şekil 3.10. GH geni üzerinde çoğaltılan GH1 bölgesi

NCBI gen bankası D00476.1 erişim numaralı referans nükleotid dizisi verilen GH2 geni ekzon 4’ün bir kısmı (1-116 bp) içeren 116 baz çifti uzunluğundaki gen bölgesinin baz dizilimi Şekil 3.11.’de verilmiştir.

GH geni GH2 bölgesi için GH2-F (TCAGCAGAGTCTTCACCAAC) ve GH2-R (CAACAACGCCATCCTCAC) primerleri kullanılarak PCR ile amplifikasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu primerler birçok araştırmacı tarafından da kullanılmıştır (Hua ve ark., 2009; Mete, 2016).

PCR amplifikasyonu sırasında kullanılan reaksiyon bileşenleri için toplam 30 µl PCR karışımı; ~100 ng genomik DNA, 1X PCR Buffer (750 mM Tris–HCl pH: 8.8, 200 mM (NH₄)₂SO₄, 0.1%(v/v) Tween 20, Thermo Scientific, USA), 1.5 mM MgCl₂, 200 µM dNTP mix (ABM), 0.6 µM forward ve reverse primer, 1 U Taq DNA polimeraz (Thermo Scientific) olacak şekilde hazırlanmış ve Çizelge 3.3.’te sunulmuştur.

Termal Cyclor protokolü, ilk denatürasyon 95°C’de 5 dk, denatürasyon 94°C’de 30 sn (42 döngü), bağlanma 54°C’de 30 sn, uzama 72°C’de 45 sn ve son uzama 72°C’de 10 dk olacak şekilde düzenlenmiştir. Termal Cyclor protokolü ise Çizelge 3.4.’te verilmiştir.



Şekil 3.11. GH geni üzerinde çoğaltılan GH2 bölgesi

Çalışmada PCR amplifikasyonu için gerekli bileşenler ve konsantrasyonları Çizelge 3.3.'te sunulmuştur.

Çizelge 3.3. PCR reaksiyonu bileşenleri

Bileşen adı	Son konsantrasyon				
	POU1F1	PRLR	B-LG	GH1	GH2
ddH ₂ O (pH 7.0)	-	-	-	-	-
10X PCR Buffer	1X	1X	1X	1X	1X
MgCl ₂	2 mM	2 mM	1.5 mM	2 mM	1.5 mM
dNTP mix	200 µM	200 µM	200 µM	200 µM	200 µM
F Primer	0.5 µM	1 µM	0.5 µM	0.6 µM	0.6 µM
R Primer	0.5 µM	1 µM	0.5 µM	0.6 µM	0.6 µM
Taq DNA	0.625 U	1 U	0.625 U	1 U	1 U
DNA	100 ng	100 ng	100 ng	100 ng	100 ng
Toplam (µl)	30	30	30	30	30

Çalışmada PCR amplifikasyonu sırasında gerekli olan termal döngüleyici koşulları Çizelge 3.3.'te sunulmuştur.

Çizelge 3.4. Termal döngüleyici koşulları

Gen Bölgesi	İlk Denaturasyon	Denaturasyon	Bağlanma	Uzama	Döngü Sayısı	Final Uzama
POU1F1	95 °C (5 dk)	94 °C (45sn)	52 °C (45 sn)	68 °C (1 dk)	36	68 °C (10 dk)
PRLR	95 °C (5 dk)	94 °C (40 sn)	51.4°C(40sn)	72 °C (1 dk)	35	72 °C (10 dk)
β-LG	95 °C (5 dk)	95 °C (40 sn)	60.9°C (1dk)	68 °C (90 sn)	35	68 °C (10 dk)
GH1	95 °C (5 dk)	95 °C (30 sn)	63 °C (30 sn)	72 °C (45 sn)	36	72 °C (10 dk)
GH2	95 °C (5 dk)	94 °C (30 sn)	54 °C (30 sn)	72 °C (45 sn)	42	72 °C (10 dk)

Çalışmada hedef bölgelerin çoğaltılması için kullanılan Termal döngüleyici (Bio-Rad C1000 Touch, USA) cihazı Şekil 3.12.'de görülmektedir.



Şekil 3.12. Çalışmada kullanılan termal döngüleyici

PCR işlemi tamamlandıktan sonra hedeflenen bölgelerin çoğalıp çoğalmadığını kontrol etmek amacıyla POU1F1, PRLR, β -LG ve GH1 gen bölgelerine ait PCR ürünleri %2'lik jelde, GH2 genine ait PCR ürünleri için fragmentler daha küçük olduğundan dolayı %3'lük jelde yürütülerek kontrol edilmiştir.

3.2.6. PCR Ürünlerinin Restriksiyon Endonükleaz Enzimi ile Kesimi

Restriksiyon endonükleaz olarak adlandırılan enzimler çift zincirli DNA yapısını spesifik tanıma dizilerinden tanıyıp, şeker ve fosfat omurgasını kırarak iki zincir üzerinde kesim yapabilen bir enzim türüdür (Roberts, 1976; Kessler ve Manta, 1990; Pingoud ve ark., 1993). Restriksiyon endonükleazlar, bakterilerden izole edilmektedir ve çalışma mekanizmaları incelendiğinde yabancı DNA'lara karşı bir savunma mekanizması geliştirdikleri görülmektedir. Bakteri içerisine giren yabancı DNA'ları kesebilme özelliklerinden dolayı hücrelerarası bakteriyel patojenleri inaktive ederek kendisini yabancı DNA ve virüslerden koruyabilmektedir. Bununla birlikte bakteri kendi DNA'sını bu restriksiyon enziminin etkinliğinden koruyabilmek adına DNA metilasyonu gibi çeşitli modifikasyonlar kullanmaktadır (Arber ve Linn, 1969; Krüger ve Bickle, 1983; Kobayashi, 2001). Bu enzimlerin çalışabilmesi için özellikle Mg (magnezyum) gibi bazı kofaktörlere ihtiyaç duymaktadır. Restriksiyon endonükleaz enzimlerinin 4 tipi mevcuttur. Günümüzde farklı DNA dizilimini tanıyan 300'e yakın restriksiyon enzimi olmakla birlikte toplam sayıları 3000'den fazla olduğu bilinmektedir.

Bu çalışmada hedef bölgelerin çoğaltılmasının ardından RFLP tekniği kullanarak polimorfizmleri belirlemek amacıyla dört farklı restriksiyon endonükleaz enzimi kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan restriksiyon enzimleri ve tanıma dizilerine yönelik bilgiler Çizelge 3.5.'te verilmiştir.

Çizelge 3.5. Kullanılan restriksiyon enzimleri ve tanıma dizileri

Gen Bölgesi	Restriksiyon Enzimi	Tanıma dizisi
POU1F1	AluI	5'...AG↓CT...3' 3'...TC↓GA...5'
PRLR	RsaI	5'...GT↓AC...3' 3'...CA↓TG...5'
β-LG	SacII (Cfr42I)	5'...CCGC↓GG...3' 3'...GG↓CGCC...5'
GH1 ve GH2	HaeIII (BsuRI)	5'...GG↓CC...3' 3'...CC↓GG...5'

POU1F1 geni üzerinde hedeflenen bölge üzerinde polimorfizmleri belirlemek amacıyla AluI (ER0012, Thermo Fisher Scientific, USA), PRLR geni için RsaI (ER1122, Thermo Fisher Scientific, USA), β-LG geni için SacII (Cfr42I) (ER0205, Thermo Fisher Scientific, USA), GH geni üzerinde GH1 ve GH2 bölgeleri için ise HaeIII (BsuRI) (ER0151, Thermo Fisher Scientific, USA) restriksiyon endonükleaz enzimleri kullanılmıştır.

Hedef bölgelerin PCR ile çoğaltılmasının ardından restriksiyon enzimi ile kesim işlemi için reaksiyon bileşenleri Çizelge 3.6.'da sunulmuştur.

Çizelge 3.6. Kesim enzimleri için kullanılan reaksiyon bileşenleri

Reaksiyon Bileşeni	Miktar
ddH ₂ O	5 µl
10X Buffer	4 µl
Kesim enzimi	1 µl
PCR ürünü	30 µl
Total	40 µl

POU1F1 gen bölgesi için reaksiyon bileşenleri 30 µl PCR ürünü: 10X Buffer Tango (33mM Tris-asetat-pH: 7.9, 10 mM magnezyum asetat, 66 mM potasyum asetat, 0.1 mg/mL BSA), 1 µl AluI restriksiyon enzimi, 5 µl ddH₂O ile 37 °C'de 2 saat süre ile inkübasyona tabi tutulmuş ve kesim sonrasında ürünler 65 °C'de 20 dakika tutularak enzim inaktive edilmiştir.

PRLR gen bölgesi için reaksiyon bileşenleri 30 µl PCR ürünü: 10X Buffer Tango (33mM Tris-asetat-pH: 7.9, 10 mM magnezyum asetat, 66 mM potasyum asetat, 0.1 mg/mL BSA), 1 µl RsaI restriksiyon enzimi, 5 µl ddH₂O ile 37 °C'de de 2 saat süre ile inkübasyona tabi tutulmuş ve kesim sonrasında ürünler 80 °C'de 20 dakika tutularak enzim inaktive edilmiştir.

β-LG gen bölgesi için reaksiyon bileşenleri 30 µl PCR ürünü: 10X Buffer B (10mM Tris-HCL-pH: 7.5, 10 mM MgCl₂, 0.1 mg/mL BSA), 1 µl SacII (Cfr42I) restriksiyon enzimi, 5 µl ddH₂O ile 37 °C'de de 2 saat süre ile inkübasyona tabi tutulmuş ve kesim sonrasında ürünler 65 °C'de 20 dakika tutularak enzim inaktive edilmiştir.

GH geni üzerinde GH1 ve GH2 bölgeleri için reaksiyon bileşenleri 30 µl PCR ürünü: 10X Buffer R (10mM Tris-HCL-pH: 8.5, 10 mM MgCl₂, 100 mM KCl, 0.1 mg/mL BSA), 1 µl HaeIII (BsuRI) restriksiyon enzimi, 5 µl ddH₂O ile 37 °C'de de 2 saat süre ile inkübasyona tabi tutulmuş ve kesim sonrasında ürünler 80 °C'de 20 dakika tutularak enzim inaktive edilmiştir.

İnkübasyon sonucunda elde edilen ürünler agaroz jel elektroforezde genotipleme yapılıncaya kadar +4 °C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.7. Agaroz Jel Elektroforez

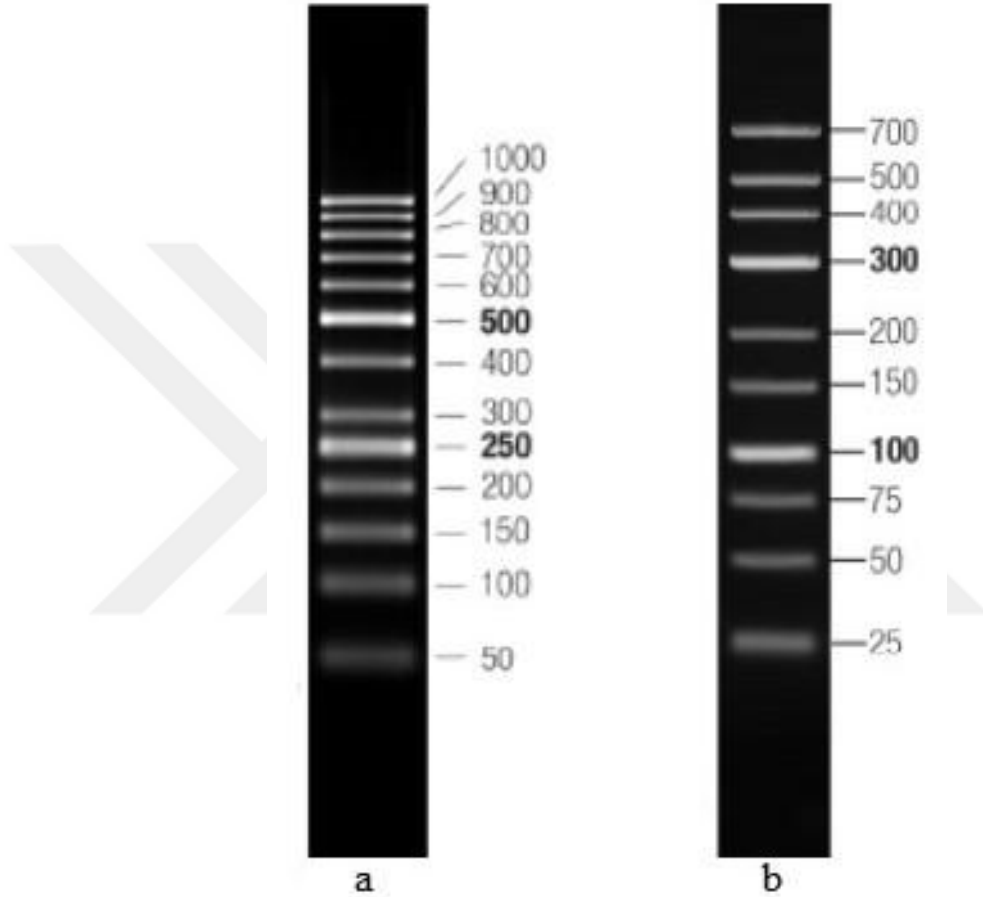
Elektroforez, nispeten düzgün bir elektriksel alan etkisi altında yüklü parçacıkların (iyonların) göçünü ve ayrılmasını tanımlayan genel bir terimdir (Fritsch ve Krause, 2003). Elektroforez yük, boyut ve bağlanma afinitesine bağlı olarak molekülleri ayırmak için kullanılmaktadır. Bu teknik esas olarak DNA, RNA, proteinler, nükleik asitler, plazmitler ve bu makromoleküllerin parçaları gibi biyomolekülleri ayırmak ve analiz etmek için uygulanır. Elektroforez babalık testi ve adli tıpta olduğu gibi kaynak DNA'yı tanımlamak için kullanılan tekniklerden biridir. Anyonların veya negatif yüklü parçacıkların elektroforezi, anforez olarak; katyonların veya pozitif yüklü parçacıkların elektroforezi ise kataforez olarak adlandırılmaktadır. Elektroforez ilk olarak 1807'de Moskova Devlet Üniversitesi'nden Ferdinand Frederic Reuss tarafından sürekli elektrik alanlarına maruz kalan ve suda göç eden kil parçacıklarının hareketini fark etmesi ile ortaya çıkmıştır (Dukhin ve Derjaguin, 1974; Hunter, 1989; Anderson, 1989; Lyklema, 1995). Bir elektroforetik sistem, bir elektrolit adı verilen bir iletken ortamla birbirine bağlanmış iki ters elektrottan (anot, katot) oluşmaktadır. İyonik partiküller üzerindeki ayırma etkisi,

partikülün mobilitesinin (m) ve alan kuvvetinin (E) iyonik parçacıkların hızlarındaki (v) farklılıklardan kaynaklanmaktadır. Elektroforetik koşullar, elektriksel parametreler (akım, gerilim, güç) ve partiküllerin içinde hareket ettiği ortamı ifade eden iyonik kuvvet, pH değeri, viskozite, por büyüklüğü vb. gibi faktörlerle karakterize edilmektedir (Fritsch ve Krause, 2003). Günümüzde yaygın olarak kullanılan birçok elektroforez tipi mevcuttur. Çalışmanın uygunluğuna ve kullanım amacına göre agaroz jel elektroforez, pulse field jel elektroforez, poliakrilamid jel elektroforez, iki boyutlu elektroforez, izoelektrik focusing, kapillar (kılcal) elektroforez ve immuno elektroforez olarak sınıflandırmak mümkündür.

PCR ürünlerinin restriksiyon enzimleri ile kesimi sonucunda genotipleme yapabilmek için POU1F1, PRLR, β -LG ve GH1 için %2'lik GH2 için ise ayırım yapılacak DNA fragmentleri daha küçük boyutta olduğu için %3'lük agaroz jel kullanılmıştır. Agaroz Jel Elektroforez için kullanılan çözeltilerin içeriği Ek-3'te sunulmuştur. Elektroforez aşamasında kullanılacak olan çözelti önce 10X TBE Elektroforez/Jel Stok Tampon Çözeltisi olarak hazırlanmış ve sonrasında ddH₂O ile 1/20 oranında sulandırılarak hem jel hem de elektroforez tampon çözeltisi olarak kullanılmıştır.

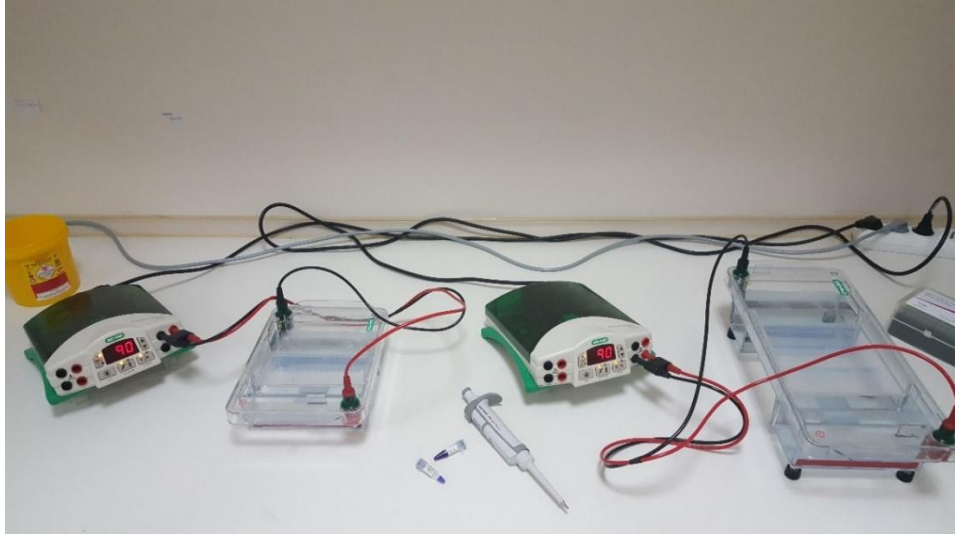
%2'lik agaroz jel hazırlanırken 2 gr agaroz, %3'lük agaroz jel için ise 3 gr agaroz tartılarak erlenmayer içerisine konmuş ve üzerine 100 ml 0.5X TBE jel tampon çözeltisi (54 gr Tris-Base, 27.5 gr Borik Asit, 20 ml 0,5 M EDTA-pH 8,0) eklenerek mikrodalga fırında yaklaşık 2-3 dk boyunca çözelti iyice şeffaf bir hal alıncaya kadar kaynatılmıştır. Ardından yaklaşık 60 °C dereceye kadar soğutulan çözelti içerisine 5 μ l DNA fragmentlerini boyayarak görünmesini sağlayan nükleik asit boyası (G108 Nucleic Acid Stains, Safe View Classic, ABM) eklenerek homojen bir şekilde dağılması sağlanmıştır. Jel tankı içerisine kuyucukları oluşturacak olan tarak dikkatli bir şekilde yerleştirilmiş ve sabitlenmiştir. Daha sonra hazırlanmış olan agaroz jel sıvı halde iken jel tankının içerisine baloncuk oluşturmayacak şekilde dikkatlice dökülmüştür. Yaklaşık 20-30 dk süre boyunca donması beklenen agaroz jel, 0.5X TBE elektroforez tampon çözeltisi ile dolu elektroforez küvetine yerleştirilmiş ve tarak dikkatli bir şekilde kuyucuklardan çıkartılmıştır. Jelin ilk kuyucuğuna, DNA bantlarının boyutlarını ölçebilmek adına PRLR, β -LG ve GH1 gen bölgeleri için 50 bp (SM0373 GeneRuler 50 bp DNA ladder, ready to use, Thermo Fischer Scientific, USA), POU1F1 ve GH2 gen bölgeleri için low range DNA markör (SM1191 GeneRuler Low Range DNA Lader, Thermo Fischer Scientific)

yüklenmiştir (Şekil 3.13). Bir başka zemin üzerinde 10 µl kesim ürünü içerisine 2 µl yükleme boyası (6X Loading Dye, 10 mM Tris-HCl pH: 7.6, %0.03 bromophenol blue, %0.03 xylene cyanol FF, %60 glycerol, 60mM EDTA, Thermo Fischer Scientific, USA) eklenerek hazırlanan örnekler, üzeri tamamen tampon çözeltisi ile kaplı olan jel üzerindeki ceplere yüklenmiştir.



Şekil 3.13. Çalışmada kullanılan 50 bp (a) ve low range (b) DNA ladder

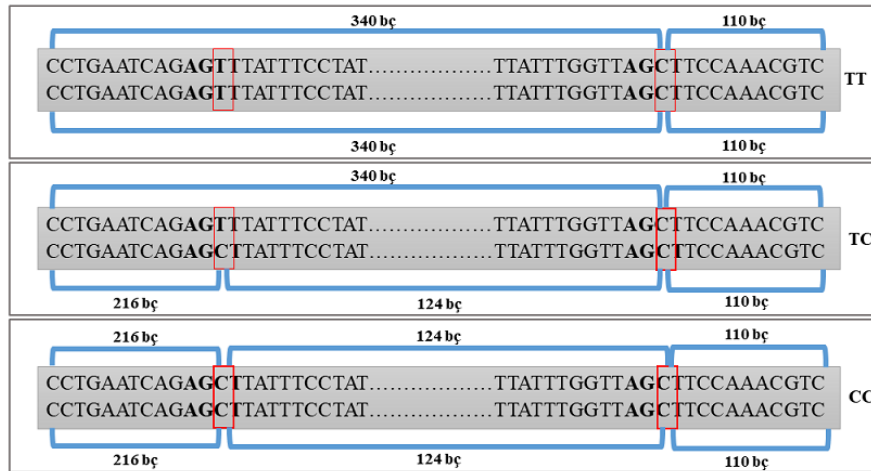
Örnekler sabit voltajda 10V/cm olacak şekilde yaklaşık 40 dk süre ile yürütülmüştür. Çalışmada kullanılan agaroz jel elektroforez (BioRad) cihazı Şekil 3.14.'te sunulmuştur.



Şekil 3.14. Çalışmada kullanılan agaroz jel elektroforez düzeneği

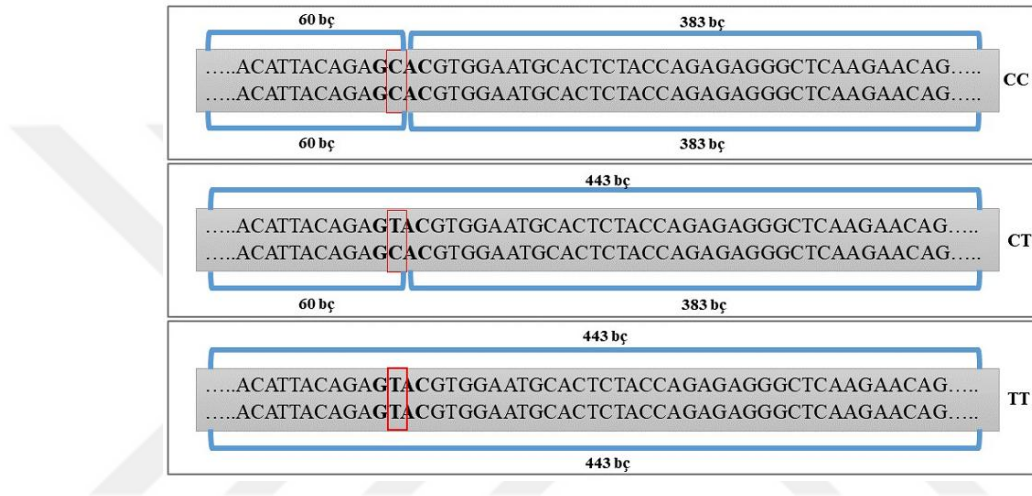
3.2.8. Genotipleme

POU1F1 geni NCBI gen bankası MH892432.1 erişim numaralı 450 bp uzunluğundaki nükleotid dizisi üzerinde meydana gelen nükleotid değişimi sonucu polimorfik olduğu ve AGCT tanıma dizisine sahip AluI restriksiyon endonükleaz kesim enzimi ile tespit edildiği bilinmektedir. PCR ürünlerinin restriksiyon endonükleaz kesim enzimi ile reaksiyonu sonucu TT (340,110) TC (340, 216, 124, 110) ve CC (216, 124, 110) genotipleri elde edildiği bildirilmiştir (Lan ve ark., 2007b). POU1F1/AluI restriksiyon enzimi ile kesim sonucu oluşan genotiplere ait görsel Şekil 3.15.'te sunulmuştur.



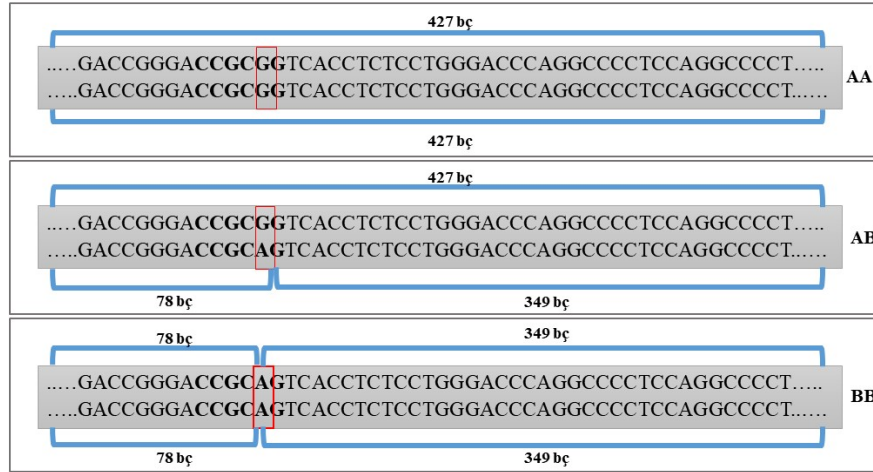
Şekil 3.15. POU1F1/AluI restriksiyon enzimi ile kesim sonucu oluşan genotipler

PRLR geni NCBI gen bankası KJ572972.1 erişim numaralı 443 bç uzunluğundaki nükleotid dizisi üzerinde 383. pozisyonda meydana gelen g.62130C>T nükleotid değişimi sonucu polimorfik olduğu ve GTAC tanıma dizisine sahip RsaI restriksiyon endonükleaz kesim enzimi ile tespit edildiği bilinmektedir. PCR ürünlerinin restriksiyon endonükleaz kesim enzimi ile reaksiyonu sonucu CC (383, 60), CT (443, 383, 60) ve TT (443) genotipleri elde edildiği bildirilmiştir (Hou ve ark., 2014b). PRLR/RsaI restriksiyon enzimi ile kesim sonucu oluşan genotiplere ait görsel Şekil 3.16.'da sunulmuştur.



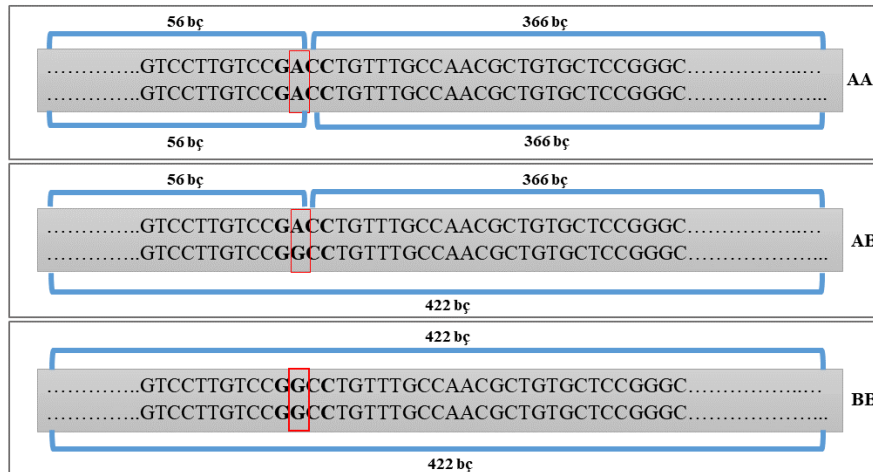
Şekil 3.16. PRLR/RsaI restriksiyon enzimi ile kesim sonucu oluşan genotipler

β -LG geni NCBI gen bankası Z33881.1 erişim numaralı 427 bç uzunluğundaki nükleotid dizisi üzerinde 349. pozisyonda meydana gelen G>A nükleotid değişimi sonucu polimorfik olduğu ve CCGCGG tanıma dizisine sahip SacII restriksiyon endonükleaz kesim enzimi ile tespit edildiği bilinmektedir. PCR ürünlerinin restriksiyon endonükleaz kesim enzimi ile reaksiyonu sonucu AA (427), AB (427, 349, 78) ve BB (349, 78) genotipleri elde edildiği bildirilmiştir (Pena ve ark., 2000; El-Hanafy ve ark., 2010, 2015). β -LG/SacII restriksiyon enzimi ile kesim sonucu oluşan genotiplere ait görsel Şekil 3.17.'de sunulmuştur.



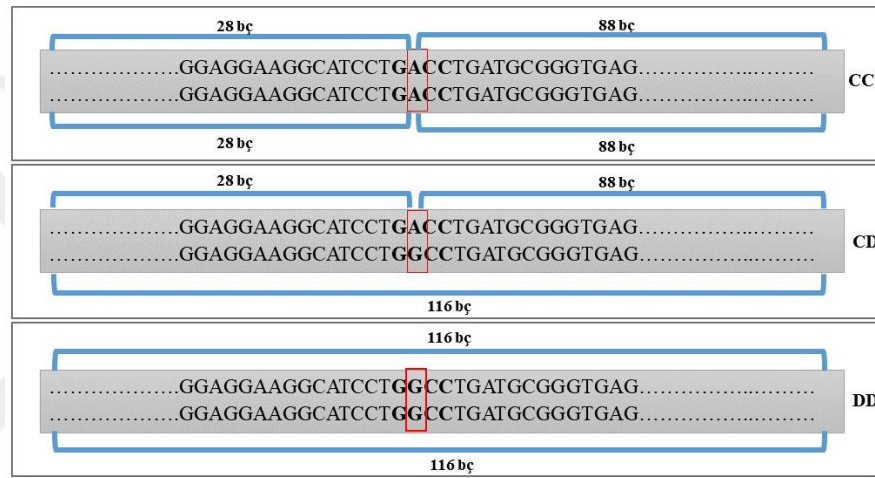
Şekil 3.17. β -LG/SacII restriksiyon enzimi ile kesim sonucu oluşan genotipler

GH geni üzerinde GH1 bölgesi NCBI gen bankası D00476.1 erişim numaralı 422 bç uzunluğundaki nükleotid dizisi üzerinde 366. pozisyonda meydana gelen A781G transisyonu (Ser>Gly aa değişimi) meydana gelen nükleotid değişimi sonucu polimorfik olduğu ve GGCC tanıma dizisine sahip HaeIII restriksiyon endonükleaz kesim enzimi ile tespit edildiği bilinmektedir. PCR ürünlerinin restriksiyon endonükleaz kesim enzimi ile reaksiyonu sonucu AA (366, 56) ve AB (422, 366, 56) BB (422) genotipleri elde edildiği bildirilmiştir (Hua ve ark., 2009). GH1/HaeIII restriksiyon enzimi ile kesim sonucu oluşan genotiplere ait görsel Şekil 3.18.'de sunulmuştur.



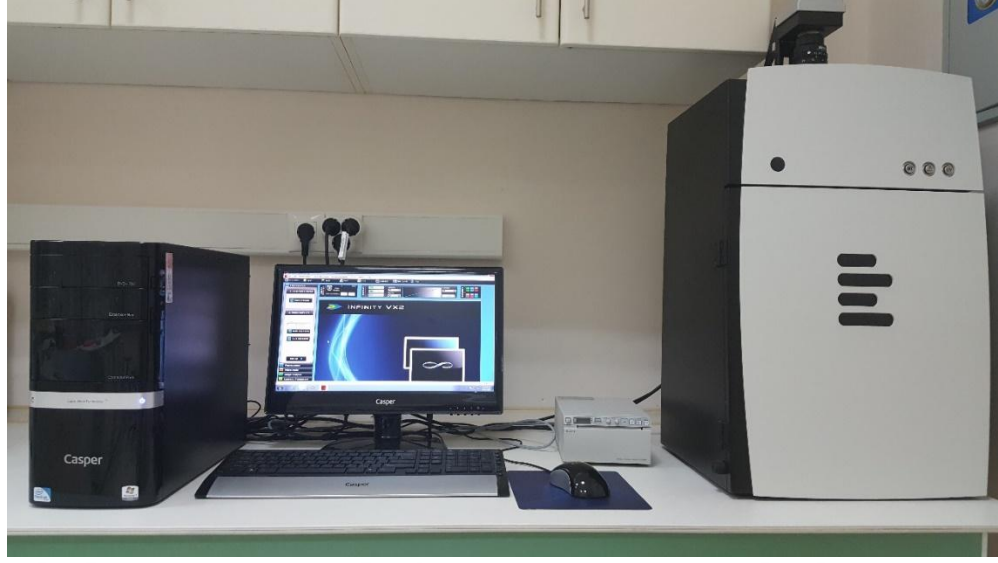
Şekil 3.18. GH1/HaeIII restriksiyon enzimi ile kesim sonucu oluşan genotipler

GH geni üzerinde GH2 bölgesi NCBI gen bankası D00476.1 erişim numaralı 116 bç uzunluğundaki nükleotid dizisi üzerinde 88. pozisyonda meydana gelen A1575G nükleotid değişimi sonucu polimorfik olduğu ve GGCC tanıma dizisine sahip HaeIII restriksiyon endonükleaz kesim enzimi ile tespit edildiği bilinmektedir. PCR ürünlerinin restriksiyon endonükleaz kesim enzimi ile reaksiyonu sonucu CC (88, 28), CD (116, 88, 28) ve DD (116) genotipleri elde edildiği bildirilmiştir (Hua ve ark., 2009). GH2/HaeIII restriksiyon enzimi ile kesim sonucu oluşan genotiplere ait görsel Şekil 3.17.'de sunulmuştur.



Şekil 3.19. GH2/HaeIII restriksiyon enzimi ile kesim sonucu oluşan genotipler

Agaroz jel elektroforezde yürütme işleminin tamamlanmasının ardından UV görüntüleme cihazında jel fotoğrafları çekilerek bilgisayara kaydedilmiş ve genotipleme yapılmıştır. Çalışmada kullanılan UV görüntüleme sistemi (Quantum, Vilber Lourmat, France) Şekil 3.20.'de sunulmuştur.



Şekil 3.20. Çalışmada kullanılan jel görüntüleme sistemi

3.2.9. Verilere Yönelik İstatistikî Analizler

POU1F1, PRLR, β -LG, GH1, GH2 lokuslarında gözlemlenen polimorfizmleri sonucu elde edilen genotipler ile süt verim arasındaki ilişki SPSS paket programında GLM (Genel Lineer Model) prosedürü kullanılarak hesaplanmıştır (Kinnear ve Gray, 1994). Denemenin hayvan materyalini 2. ve 3. doğumunu yapan hayvanlar oluşturmuş ve süt verimleri hesaplanırken doğum sayısı, doğum tipi ve işletme farklılığını giderecek şekilde toplamalı düzeltme faktörleri kullanılarak genel ortalamaya göre düzenlenmiştir. Denemenin matematik modeli; $Y_{ij} = \mu + \alpha_i + e_{ij}$, şeklindedir.

Modelde,

Y_{ij} , i. genotip grubunda j. hayvana ait hesaplanan süt verimi

μ , popülasyon ortalaması

α_i , i. genotipin etkisi

e_{ij} , hata payı

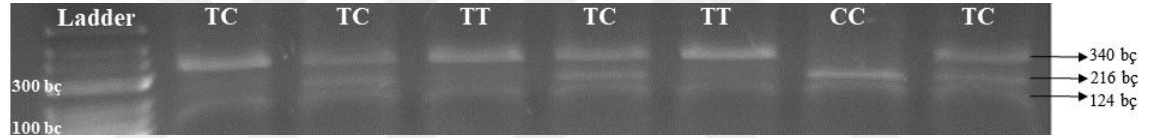
POU1F1, PRLR, β -LG, GH1, GH2 lokuslarında allel ve genotip frekanslarının tespiti ve popülasyonun Hardy-Weinberg (HWE) denge kontrolü ve tüm hesaplamalar için GenAlex 6.5 (Peakall ve Smouse, 2012) ve PopGene32 (Yeh ve ark., 2000) paket programı kullanılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1. POU1F1

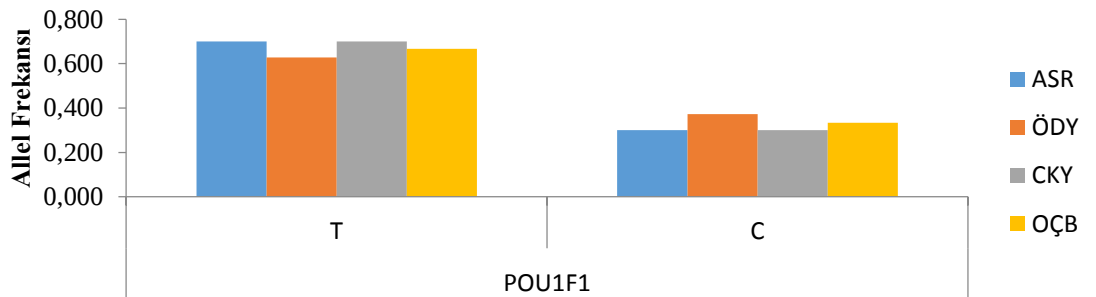
4.1.1. POU1F1/AluI Genotipleme Sonuçları

Kilis keçilerine ait genomik DNA örneklerinden RFLP yöntemiyle genotipleme yapmak amacıyla PCR ürünlerinin AluI restriksiyon enzimi ile reaksiyonu gerçekleştirilmiş ve genotipleme yapılmıştır. AluI enzimiyle kesim sonucunda çoğaltılan 450 bp uzunluğundaki bölgede TT (340, 110), TC (340, 216, 124, 110) ve CC (216, 124, 110) genotipleri belirlenmiştir. 110 bp uzunluğundaki fragmentler çok küçük olduğundan jelde görüntülenememiştir. Ancak 340, 216 ve 124 bp uzunluğundaki fragmentlerin varlığı ile genotipleme yapılabilmiştir. AluI lokusu için örnek jel görüntüsü Şekil 4.1.'de sunulmuştur.



Şekil 4.1. POU1F1/AluI lokusunda elde edilen genotipler

Kilis keçilerinde dört farklı yetiştiriciye ait sürülerden yapılan örnekleme sonucu, POU1F1/AluI lokusunun sürülere göre allel frekanslarının dağılımı Şekil 4.2.'de sunulmuştur. Şekil 4.2.'den de görüleceği üzere T ve C allel frekansları ASR sürüsünde sırasıyla 0.700 ve 0.300; ÖDY sürüsünde 0.628 ve 0.372; CKY sürüsünde 0.700 ve 0.300; OÇB sürüsünde ise 0.667 ve 0.333 olarak tespit edilmiştir.



Şekil 4.2. Sürüler bazında POU1F1/AluI lokusuna ait allel frekansları

POUF1/AluI lokusu sürüler bazında incelendiğinde T allel frekansının en yaygın ASR ve CKY sürülerinde C alleli ise en yaygın ÖDY sürüsünde gözlemlenmiştir. Şekil 4.2.'de yer alan frekans grafiği de sürüler bazında allel frekans dağılımlarının benzer düzeyde olduğunu ortaya koymaktadır. Allel frekanslarının dağılımları bakımından çarpıcı bir fark söz konusu değildir.

Popülasyonda POUF1/AluI lokusuna ait genel allel ve genotip frekansları ile gözlemlenen (H_o), beklenen (H_e) heterozigotluk oranları ve Ki-kare test değerleri Çizelge 4.1.'de sunulmuştur.

Çizelge 4.1. POUF1/AluI lokusuna ait allel ve genotip frekansları

Lokuslar	N	Allel Frekansları (%)		Genotip Frekansları (%)			H_o	H_e	χ^2
		T	C	TT	TC	CC			
POUF1F1	120	67.08	32.92	40.83	52.50	6.67	0.525	0.442	4.276*

Gözlemlenen (H_o) ve beklenen (H_e) heterozigotluk oranları ve Ki-kare test değerleri; * $P < 0.05$.

Çizelge 4.1.'den de görüleceği üzere POUF1/AluI lokusunda T ve C allel frekansları sırası ile %67.08 ve %32.92; TT, TC ve CC genotip frekansları ise yine aynı sıra ile %40.83, %52.50 ve %6.67 olarak tespit edilmiştir. Popülasyonda gözlemlenen (H_o) ve beklenen (H_e) heterozigotluk oranları sırasıyla 0.525 ve 0.442, Ki-kare test değeri ise 4.276 olarak hesaplanmıştır. POUF1/AluI lokusu bakımından gözlenen (H_o) ve beklenen (H_e) değerler arasındaki farklılık ($\chi^2 = 4.276$) istatistiksel anlamda önemli olup ($P < 0.05$) popülasyonun Hardy-Weinberg dengesinden sapma gösterdiği belirlenmiştir.

İncelenen POUF1/AluI lokusu bakımından popülasyonun polimorfik olduğu ve T allelinin popülasyonda daha yaygın olduğu tespit edilmiştir. Araştırma sonucunda, Kilis keçilerinde T ve C allel frekansları %67.08 ve %32.92 değeri ile Saanen keçilerinde bulunan T allel frekansı 0.70 (Işık, 2016) ile uyumlu olup, Çin'de yetiştirilen dört farklı keçi ırkında T allel frekansı 0.757 ile 0.976 arasında değişkenlik gösterdiği bildirilmiş (Lan ve ark., 2009c) ve çalışmada bulduğumuz sonuçların bu değerlerden düşük olduğu saptanmıştır. Ancak T allel varlığının yaygın olduğunu gösteren çalışmalar (Lan ve ark., 2007b; Zhou ve ark., 2016) sonuçlarımızı desteklemektedir.

Genotip frekansları incelendiğinde çalışmada TT, TC ve CC genotipleri gözlemlenmiş ve sonuçlarımıza benzer şekilde CC genotipinin düşük frekansta olduğu (Lan ve ark., 2009c; Işık, 2016) ve hatta kimi çalışmalarda bazı keçi popülasyonlarında hiç gözlemlenmediği bildirilmiştir (Lan ve ark., 2007b; Lan ve ark., 2009c). Çalışmada,

CC genotip frekansının düşük olmasının sebebi hayvan sayısının az olması olarak açıklanabilir. Ancak hayvan sayısına bağlı olmadan yapılan diğer çalışmalarda da CC genotip frekansının çok düşük veya popülasyonlarda hiç rastlanmadığı göze çarpmaktadır (Lan ve ark., 2007b; Lan ve ark., 2009c; Daga ve ark., 2013; Işık, 2016).

Üzerinde çalışılan Kilis keçisi popülasyonunun Hardy Weinberg dengesinden sapma göstermiş olduğu ($P<0.05$) ve incelenen lokus bakımından yapılan çalışmalarla uyum içerisinde olmadığı saptanmıştır (Lan ve ark., 2007b; Işık, 2016). Üzerinde çalışılan popülasyonda gözlemlenen bu sapmanın, sürülerde seleksiyonun ve çiftleştirilmenin doğal değil kontrollü bir şekilde yapılmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

4.1.2. POU1F1 Gen Polimorfizmi ve Süt Verim Özellikleri Arasındaki İlişki

POU1F1 bölgesinin AluI restriksiyon enzimi ile sonucunda elde edilen genotipler ile süt verim özellikleri arasındaki ilişki Çizelge 4.2.'de sunulmuştur.

Çizelge 4.2. POU1F1 genotipleri ve süt verim özellikleri arasındaki ilişki

Faktörler		LSV*	LS*	OGSV*
POU1F1	N	P=0.012	P=0.021	P=0.022
TT	49	470.45 ± 175.86 ^a	243.88 ± 14.69 ^a	1.90 ± 0.66 ^a
TC	63	579.55 ± 183.62 ^b	254.35 ± 10.78 ^b	2.27 ± 0.68 ^b
CC	8	489.62 ± 145.45 ^{ab}	249.75 ± 12.59 ^{ab}	1.95 ± 0.56 ^{ab}
Genel	120	535.56 ± 173.49	251.76 ± 12.11	2.11 ± 0.65

a, b, ab: Aynı sütundaki harflendirmeler gruplar arasındaki farklılıkları göstermektedir; * $P<0.05$.

N: Hayvan Sayısı; LSV: Laktasyon Süt Verimi (kg); LS: Laktasyon Süresi (gün); OGSV: Ortalama Günlük Süt Verimi (kg); değerler "ortalama ± standart sapma" şeklinde verilmiştir.

Çizelge 4.2.'den de anlaşılacağı üzere Kilis keçilerinde TT, TC ve CC genotiplerine ait laktasyon süt verimleri sırası ile 470.45, 579.55 ve 489.62 kg olarak tespit edilmiştir. Genotipler arasındaki farklılık istatistiksel anlamda önemli bulunmuştur ($P<0.05$). Popülasyonda TC genotipine sahip hayvanların laktasyon süt verimleri TT ve CC genotipine göre yüksek bulunmuştur. TC ile CC genotipi arasındaki fark istatistiki olarak önemli bulunmazken, TC ile TT genotipi arasındaki fark istatistiksel anlamda önemlidir. Üzerinde durulan lokus üzerinde yapılan çalışmalarda, çalışmamızla uyumlu olacak şekilde AluI lokusun süt verimi üzerine etkisinin olduğu (Zhou ve ark., 2016) ve Saanen keçilerinde TC genotipine (Lan ve ark., 2007b, Lan ve ark., 2009c; Işık, 2016) sahip

hayvanların süt verimlerinin diğer genotiplere göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Bununla birlikte üzerinde çalışılan intron 1 (Lan ve ark., 2013), intron 5, ekzon 6 ve 3' UTR bölgesinin koyun ve keçilerde (Lan ve ark., 2007a; Mura ve ark., 2012; Özmen ve ark., 2014), sığırlarda (Renaville ve ark., 1997; Heidari ve ark., 2012; Khaizaran ve Al-Razem, 2014; Öner ve ark., 2017) süt verimi üzerine etkisinin olduğunu gösteren çalışmalar da sonuçlarımızı destekler niteliktedir. Diğer yandan, ekzon 3 bölgesinin sığırlarda süt verimi üzerine etkisinin olduğu (Huang ve ark., 2008), ancak bazı popülasyonlarda intron 5 ve ekzon 6 bölgesinin süt verimi üzerine herhangi bir etkisinin olmadığını gösteren çalışmalar da mevcuttur (Zakizadeh ve ark., 2007; Yan ve ark., 2011; Aytekin ve Boztepe, 2013; Trakovicka ve ark., 2014).

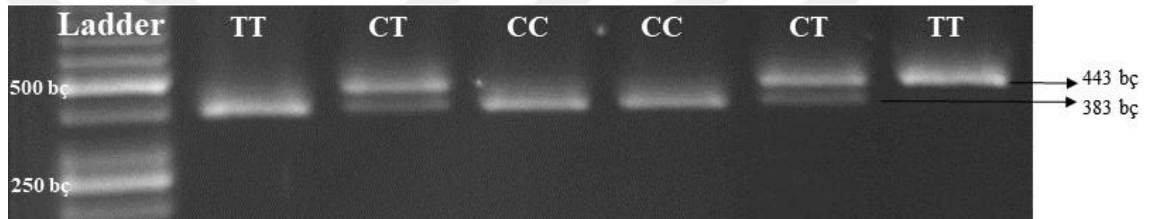
Laktasyon süreleri incelendiğinde Çizelge 4.2.'de görüldüğü üzere TT, TC ve CC genotipine ait süreler sırasıyla 243.88, 254.35 ve 249.75 gün olarak saptanmıştır. Genotipler arasındaki farklılık istatistiksel anlamda önemli bulunmuştur ($P<0.05$). Popülasyonda TC genotipine sahip hayvanların laktasyon süreleri TT ve CC genotipine göre daha uzun bulunmuştur. TC ile CC genotipi arasındaki fark istatistiki olarak önemli bulunmazken TC ile TT genotipi ile arasındaki fark istatistiksel anlamda önemlidir. Laktasyon süresi bakımından yapılan çalışmalar çok kısıtlı olup araştırmacıların bildirişleri İvesi koyunlarında POU1F1/EcoRI lokusunun (Al-Khuzai ve Al-Anbari, 2018) ve sığırlarda PIT1/HinfI lokusunun (Özdemir ve ark., 2018) istatistiksel anlamda önemsiz olduğu yönündedir. Ancak, sığırlarda POU1F1 geninin laktasyon süresi üzerine etkisinin olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur (Edriss ve ark., 2009).

Popülasyonda, TT, TC ve CC genotipine ait ortalama günlük süt verimleri ise 1.90 kg, 2.27 kg ve 1.95 kg olarak tespit edilmiştir. Genotipler arasındaki farklılık istatistiksel anlamda önemli bulunmuştur ($P<0.05$). Popülasyonda TC genotipine sahip hayvanların ortalama günlük süt verimlerinin TT ve CC genotipine göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Sığırlarda PIT1/TaqI lokusunun günlük süt verimi üzerine etkisi olduğu saptanırken (Thuy ve ark., 2018), PIT1/HinfI ve PIT1/RsaI lokuslarında genotipler arası farklılığın süt verimi üzerine etkisinin önemli olmadığı bildirilmiştir (Thuy ve ark., 2018; Özdemir ve ark., 2018).

4.2. PRLR

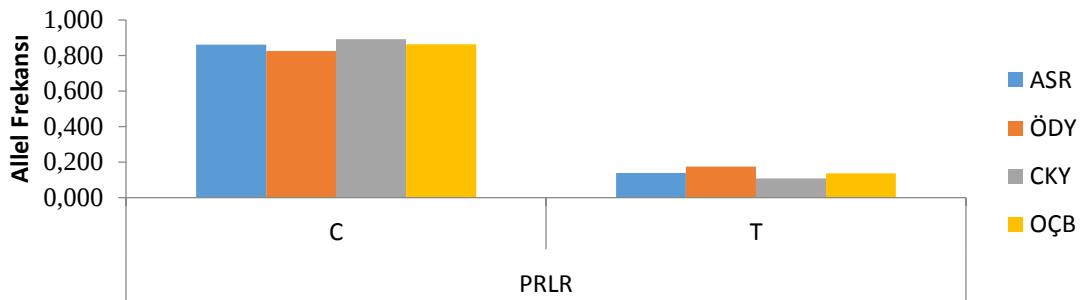
4.2.1. PRLR/RsaI Genotipleme Sonuçları

Kilis keçilerine ait genomik DNA örneklerinden RFLP yöntemiyle genotipleme yapmak amacıyla PCR ürünlerinin RsaI restriksiyon enzimi ile reaksiyonu gerçekleştirilmiş ve genotipleme yapılmıştır. RsaI enzimiyle kesim sonucunda çoğaltılan 443 bp uzunluğundaki bölgede CC (383, 60), CT (443, 383, 60) ve TT (443) genotipleri belirlenmiştir. 60 bp uzunluğundaki fragmentler çok küçük olduğundan jelde görüntülenememiştir. Ancak 443 ve 383 bp uzunluğundaki fragmentlerin varlığı ile genotipleme yapılabilmektedir. RsaI için örnek jel görüntüsü Şekil 4.3.'te sunulmuştur.



Şekil 4.3. PRLR/RsaI lokusunda elde edilen genotipler

Kilis keçilerinde dört farklı yetiştiriciye ait sürülerden yapılan örnekleme sonucu, PRLR/RsaI lokusunun sürülere göre allel frekanslarının dağılımı Şekil 4.4.'te sunulmuştur. Şekil 4.4.'ten de görüleceği üzere C ve T allel frekansları ASR sürüsünde sırasıyla 0.862 ve 0.138; ÖDY sürüsünde 0.826 ve 0.174; CKY sürüsünde 0.893 ve 0.107; OÇB sürüsünde ise 0.864 ve 0.136 olarak tespit edilmiştir.



Şekil 4.4. Sürüler bazında PRLR/RsaI lokusuna ait allel frekansları

PRLR/RsaI lokusu sürüler bazında incelendiğinde C allel frekansının en yaygın CKY sürüsünde, T alleli ise en yaygın ÖDY sürüsünde gözlemlenmiştir. Şekil 4.4.'te yer

alan frekans grafiği de sürüler bazında allel frekans dağılımlarının benzer düzeyde olduğunu ortaya koymaktadır. Allel frekanslarının dağılımı bakımından çarpıcı bir fark söz konusu değildir.

Popülasyonda PRLR/RsaI lokusuna ait genel allel ve genotip frekansları ile gözlemlenen (H_o), beklenen (H_e) heterozigotluk oranları ve Ki-kare test değerleri Çizelge 4.3.'te sunulmuştur.

Çizelge 4.3. PRLR/RsaI lokusuna ait allel ve genotip frekansları

Lokuslar	N	Allel Frekansları (%)		Genotip Frekansları (%)			H_o	H_e	X^2
		C	T	CC	CT	TT			
PRLR	179	86.80	13.20	75.42	22.35	2.23	0.219	0.229	0.345 ^{ns}

Gözlemlenen (H_o) ve beklenen (H_e) heterozigotluk oranları ve Ki-kare test değerleri; ns: önemsiz.

Çizelge 4.3.'ten de görüleceği üzere PRLR/RsaI lokusunda C ve T allel frekansları sırası ile %86.80 ve %13.20; CC, CT ve TT genotip frekansları ise yine aynı sıra ile %75.42, %22.35 ve %2.23 olarak tespit edilmiştir. Popülasyonda gözlemlenen (H_o) ve beklenen (H_e) heterozigotluk oranları sırasıyla 0.219 ve 0.229, Ki-kare test değeri ise 0.345 olarak hesaplanmıştır. PRLR/RsaI lokusu bakımından gözlenen (H_o) ve beklenen (H_e) değerler arasındaki farklılık ($\chi^2 = 0.345$) istatistiksel anlamda önemli bulunmamış olup popülasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olduğu tespit edilmiştir.

Bu çalışmada, incelenen PRLR/RsaI lokusu bakımından polimorfik olduğu ve C allelinin predominant olduğu tespit edilmiştir. Araştırma sonucunda, Kilis keçilerinde C ve T allel frekansları sırası ile %86.80 ve %13.20 olmakla birlikte Çin'de yetiştirilen Saanen (0.83) Guanzhong (0.87) ve Boer (0.79) keçilerindeki (Hou ve ark., 2014b) allel frekans dağılımları ile uyum içerisinde olup popülasyonda C allel varlığının yaygın olduğunu destekler niteliktedir.

Genotip frekansları incelendiğinde ise çalışmada CC, CT ve TT genotipleri gözlemlenmiş ve sonuçlarla benzer şekilde TT genotipinin düşük frekansta olduğu ve hatta kimi çalışmalar sonucunda Çin'de yetiştirilen Saanen, Guanzhong ve Boer keçilerinde hiç rastlanmadığı görülmektedir (Hou ve ark., 2014b). Çalışmada, TT genotip frekansının düşük olmasının sebebi hayvan sayısının az olması olarak açıklanabilir. Ancak hayvan sayısına bağlı olmadan yapılan diğer çalışmalarda da TT genotip frekansının çok düşük veya popülasyonda hiç rastlanmadığı göze çarpmaktadır (Hou ve ark., 2014b).

Çalışmada Kilis keçisi popülasyonunun Hardy Weinberg dengesinde olmuş olup ve incelenen lokus bakımından yapılan çalışmalarla uyum içerisinde değildir (Hou ve ark., 2014b). Popülasyonlarda gözlemlenen bu sapmalar, sürülerde seleksiyonun ve çiftleştirme yöntemlerinin doğal değil kontrollü bir şekilde yapılmasından kaynaklanması ile açıklanabilir.

4.2.2. PRLR Gen Polimorfizmi ve Süt Verim Özellikleri Arasındaki İlişki

PRLR bölgesinin RsaI restriksiyon enzimi ile sonucunda elde edilen genotipler ile süt verim özellikleri arasındaki ilişki Çizelge 4.4.'te sunulmuştur.

Çizelge 4.4. PRLR genotipleri ve süt verim özellikleri arasındaki ilişki

Faktörler		LSV*	LS	OGSV*
PRLR	N	P=0.050	P=0.882	P=0.048
CC	135	453.98 ± 186.07 ^a	250.79 ± 64.25	1.82 ± 0.71 ^a
CT	40	449.22 ± 207.20 ^a	245.95 ± 17.02	1.78 ± 0.76 ^a
TT	4	691.22 ± 220.66 ^b	254.25 ± 13.74	2.71 ± 0.86 ^b
Genel	179	458.22 ± 193.77	249.78 ± 56.38	1.83 ± 0.73

a, b: Aynı sütündeki harflendirmeler gruplar arasındaki farklılıkları göstermektedir; *P≤0.05.

N: Hayvan Sayısı; LSV: Laktasyon Süt Verimi (kg); LS: Laktasyon Süresi (gün); OGSV: Ortalama Günlük Süt Verimi (kg); değerler “ortalama ± standart sapma” şeklinde verilmiştir.

Çizelge 4.4.'ten de anlaşılacağı üzere Kilis keçilerinde CC, CT ve TT genotiplerine ait laktasyon süt verimleri sırası ile 453.98, 449.22 ve 691.22 kg olarak tespit edilmiştir. Genotipler arasındaki farklılık istatistiksel anlamda önemli bulunmuştur (P≤0.05). Popülasyonda TT genotipine sahip hayvanların laktasyon süt verimleri CC ve CT genotiplerine göre yüksek bulunmuştur. CC ile CT genotipi arasındaki fark istatistiki olarak önemli bulunmazken TT genotipi ile aralarındaki fark istatistiksel anlamda önemlidir. Üzerinde durulan lokus üzerinde süt verim yönlü yapılan çalışmalara çok az rastlanmakla birlikte literatürde PRLR geni için daha çok döl verim yönlü çalışmaların yapıldığı dikkat çekmektedir. 3' UTR bölgesinde PRLR/RsaI lokusunun süt verimi üzerine etkisinin olduğu çalışmamızla uyumlu bulunmuş, ancak çalışılan popülasyonlarda TT genotipine hiç rastlanmadığı ve CC genotipine sahip hayvanların laktasyon süt verimlerinin (Hou ve ark., 2014b) daha yüksek olduğu görülmektedir. Bununla birlikte keçilerde PRLR promotor bölgesi (Fontanesi ve ark., 2014), intron 2 ve

ekzon 9 (Hou ve ark., 2013), ekzon 10 (Lü ve ark., 2011b), sığırlarda ekzon 3 ve ekzon 7 (Zhang ve ark., 2008), rs109428015 SNP (Cecchinato ve ark., 2014), p.S18N mutasyonunun (Pausch ve ark., 2015), mandalarda ise ekzon 10 bölgesindeki g.11188A>G polimorfizminin laktasyon süt verimi üzerine etkisinin olduğu çeşitli araştırmacılar tarafından ortaya konmuştur. Bununla birlikte, keçilerde ekzon 2 ile ekzon 9 arasında sekanslanan bölgede bazı polimorfizmler tespit edilmiş ancak süt kompozisyonu üzerine etkisinin olmadığı bildirilmiştir (Zidi ve ark., 2010).

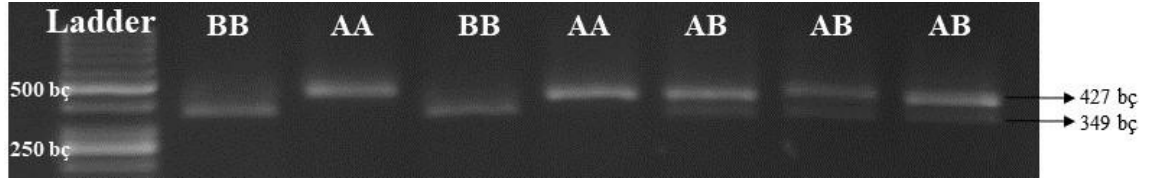
Laktasyon süreleri incelendiğinde ise CC, CT ve TT genotipine ait süreler sırasıyla 250.79, 245.95 ve 254.25 gün olarak saptanmıştır. Genotipler arasındaki farklılık istatistiksel anlamda önemli bulunamamıştır. İstatistiksel anlamda önemli olmasa da, TT genotipinin laktasyon süresi üzerine pozitif bir etkisinin olduğu görülmektedir.

Popülasyonda, CC, CT ve TT genotipine ait ortalama günlük süt verimleri ise 1.82 kg, 1.78 kg ve 1.95 kg olarak tespit edilmiştir. Genotipler arasındaki farklılık istatistiksel anlamda önemli bulunmuştur ($P \leq 0.05$). Popülasyonda TT genotipine sahip hayvanların ortalama günlük süt verimleri CC ve CT genotipine göre daha yüksek olduğu görülmektedir. CC ile CT genotipi arasındaki fark istatistiki olarak önemli bulunmazken TT genotipi ile arasındaki fark istatistiksel anlamda önemlidir.

4.3. β -LG

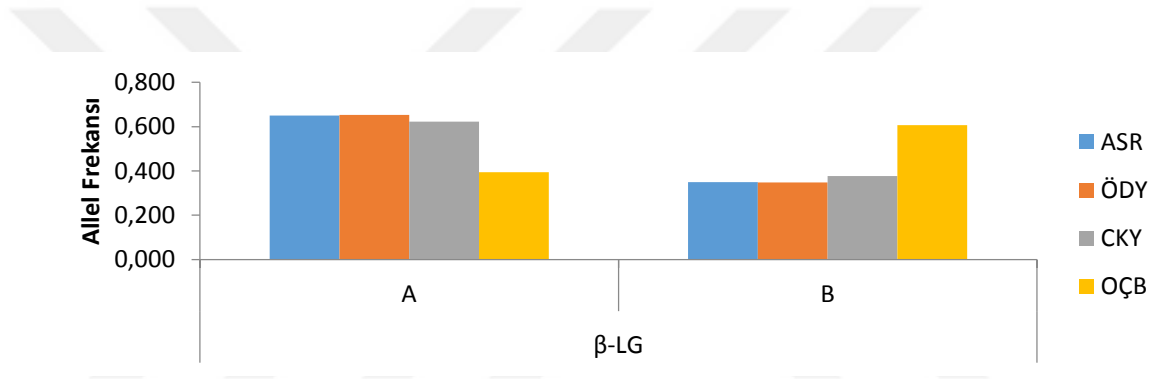
4.3.1. β - LG/SacII Genotipleme Sonuçları

Kilis keçilerine ait genomik DNA örneklerinden RFLP yöntemiyle genotipleme yapmak amacıyla PCR ürünleri SacII (Cfr42I) restriksiyon enzimiyle kesilmesi sonucu genotipleme yapılmıştır. SacII enzimiyle kesim sonucunda çoğaltılan 427 bp uzunluğundaki bölgede AA (427), AB (427, 349, 78) ve BB (349, 78) genotipleri belirlenmiştir. 78 bp uzunluğundaki fragmentler çok küçük olduğundan jelde görüntülenememiştir. Ancak 427 ve 349 bp uzunluğundaki fragmentlerin varlığı ile genotipleme yapılabilmektedir. SacII için örnek jel görüntüsü Şekil 4.5.'te sunulmuştur.



Şekil 4.5. β -LG/SacII lokusunda elde edilen genotipler

Kilis keçilerinde dört farklı yetiştiriciye ait sürülerden yapılan örnekleme sonucu, β -LG/SacII lokusunun sürülere göre allel frekanslarının dağılımı Şekil 4.6.'da sunulmuştur. Şekil 4.6.'dan da görüleceği üzere A ve B allel frekansları ASR sürüsünde sırasıyla 0.650 ve 0.350; ÖDY sürüsünde 0.652 ve 0.348; CKY sürüsünde 0.623 ve 0.377; OÇB sürüsünde ise 0.394 ve 0.606 olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.6. Sürüler bazında β -LG/SacII lokusuna ait allel frekansları

β -LG/SacII lokusu sürüler bazında incelendiğinde A allel frekansının en yaygın ÖDY sürüsünde, B alleli ise en yaygın OÇB sürüsünde gözlemlenmiştir. Şekil 4.6.'da yer alan frekans grafiğinde de görüldüğü üzere sürüler bazında allel dağılımları incelendiğinde OÇB sürüsünde A allel frekansı diğer sürülere göre düşük ve B allel frekansı ise diğer sürülere göre biraz yüksek olduğu anlaşılmaktadır. Allel frekanslarının dağılımı bakımından sürüler bazında farklılık söz konusudur.

Popülasyonda β -LG/SacII lokusuna ait genel allel ve genotip frekansları ile gözlemlenen (H_o), beklenen (H_e) heterozigotluk oranları ve Ki-kare test değerleri Çizelge 4.5.'te sunulmuştur.

Çizelge 4.5. β -LG/SacII lokusuna ait allel ve genotip frekansları

Lokuslar	N	Allel Frekansları (%)		Genotip Frekansları (%)			Ho	He	X ²
		A	B	AA	AB	BB			
β -LG	178	59.04	40.96	30.34	57.86	11.80	0.582	0.484	7.306**

Gözlemlenen (Ho) ve beklenen (He) heterozigotluk oranları ve Ki-kare test değerleri; **P<0.01.

Çizelge 4.5.'ten de görüleceği üzere β -LG/SacII lokusunda A ve B allel frekansları sırası ile %59.04 ve %40.96; AA, AB ve BB genotip frekansları ise yine aynı sıra ile %30.34, %57.86 ve %11.80 olarak tespit edilmiştir. Popülasyonda gözlemlenen (Ho) ve beklenen (He) heterozigotluk oranlarının sırasıyla 0.582 ve 0.484, Ki-kare test değerinin ise 7.306 olarak hesaplanmıştır. β -LG/SacII lokusu bakımından gözlenen (Ho) ve beklenen (He) değerler arasındaki farklılık ($\chi^2 = 7.306$) istatistiksel anlamda önemli olup (P<0.01) popülasyonun Hardy-Weinberg dengesinden sapma gösterdiği belirlenmiştir.

Bu çalışmada, incelenen β -LG/SacII lokusu bakımından polimorfik olduğu tespit edilmiştir. Araştırma sonucunda, Kilis keçilerinde A ve B allel frekansları %59.04 ve %40.96 değeri ile Saanen, Honamlı, Kıl ve Pakistan'da yetiştirilen yerli keçi ırkı popülasyonları ile benzer şekildedir (Elmacı ve ark., 2008; Ağaoğlu ve ark., 2012; Mahmood ve ark., 2016; Işık ve ark., 2017). Ancak çalışmada A allel frekansı dağılımı yerli Sudi keçi popülasyonlardan daha yüksek (El-Hanafy ve ark., 2014, 2015) ve Damascus ve Damascus x Barki keçi popülasyonlarından ise daha düşük olduğu tespit edilmiştir (El-Hanafy ve ark., 2010).

Genotip frekansları incelendiğinde çalışmada AA, AB ve BB genotipleri gözlemlenmiştir. Popülasyonda en yaygın AB genotipine rastlanmış olup çeşitli araştırmacılar tarafından Saanen, Kıl, Honamlı, Ardi, Kolombiya ve Pakistan yerli keçileri, Damascus x Barki melez keçi popülasyonları üzerinde yapılan çalışmalar ile uyum içerisinde (El-Hanafy ve ark., 2010; Ağaoğlu ve ark., 2012; Cardona ve ark., 2016; Karşı ve ark., 2016; Mahmood ev ark., 2016; El-Shazly ve ark., 2017; Işık ve ark., 2017). AB genotip frekansı Barki keçi popülasyonunda çok yüksek bulunmuş (El-Hanafy ve ark., 2010) olup bu çalışmada elde edilen sonuçtan daha yüksektir. Bununla birlikte AB genotip frekansının çok düşük olduğu popülasyonlar da mevcut olup (Renaville ve ark., 2000; El-Hanafy ve ark., 2010; El-Shazly ve ark., 2017) elde ettiğimiz sonuçların oldukça altındadır. Kilis keçisi popülasyonunda BB genotip frekansı ise diğer genotip frekanslarına göre düşük bulunmuş olup yapılan çalışmalarla uyum içerisinde

(Ağaoğlu ve ark., 2012; Mahmood ve ark., 2016). Bununla birlikte BB genotipine Saanen, Damascus, Fransa ve İspanya keçi popülasyonlarda çok nadir veya hiç rastlanmadığı da bildirilmiştir (Pena ve ark., 2000; Renaville ve ark., 2000; Elmacı ve ark., 2008; El-Hanafy ve ark., 2010).

Kilis keçisi popülasyonunun incelenen lokus bakımından Hardy Weinberg dengesinden sapma göstermiş ($P<0.01$) ve literatür bildirişleri ile uyum içerisinde değildir (Elmacı ve ark., 2008; Ağaoğlu ve ark., 2012; Işık ve ark., 2017). Üzerinde çalışılan popülasyonda gözlemlenen bu sapmanın, sürülerde seleksiyonun ve çiftleştirmenin doğal değil kontrollü bir şekilde yapılmasından kaynaklandığı şeklinde açıklanabilir.

4.3.2. β -LG Gen Polimorfizmi ve Süt Verim Özellikleri Arasındaki İlişki

β -LG bölgesinin SacII restriksiyon enzimi ile sonucunda elde edilen genotipler ile süt verim özellikleri arasındaki ilişki Çizelge 4.6.'da sunulmuştur.

Çizelge 4.6. β -LG genotipleri ve süt verim özellikleri arasındaki ilişki

Faktörler		LSV***	LS	OGSV***
β -LG	N	P=0.001	P=0.284	P=0.001
AA	54	475.00 $\pm$ 159.60 ^a	248.09 $\pm$ 13.25	1.91 $\pm$ 0.62 ^a
AB	103	485.65 $\pm$ 209.64 ^a	254.04 $\pm$ 72.97	1.93 $\pm$ 0.79 ^a
BB	21	308.26 $\pm$ 141.20 ^b	232.81 $\pm$ 16.14	1.30 $\pm$ 0.54 ^b
Genel	178	461.49 $\pm$ 195.93	249.73 $\pm$ 56.53	1.84 $\pm$ 0.74

a, b: Aynı sütundaki harflendirmeler gruplar arasındaki farklılıkları göstermektedir; *** $P\leq 0.001$.

N: Hayvan Sayısı; LSV: Laktasyon Süt Verimi (kg); LS: Laktasyon Süresi (gün); OGSV: Ortalama Günlük Süt Verimi (kg); değerler "ortalama $\pm$ standart sapma" şeklinde verilmiştir.

Çizelge 4.6.'dan da anlaşılabacağı üzere Kilis keçilerinde AA, AB ve BB genotiplerine ait laktasyon süt verimleri sırası ile 475.00, 485.65 ve 308.26 kg olarak tespit edilmiştir. Genotipler arasındaki farklılık istatistiksel anlamda önemli bulunmuştur ($P\leq 0.001$). Popülasyonda AA ve AB genotipine sahip hayvanların laktasyon süt verimleri BB genotipine göre yüksek bulunmuş olup genotipler arasında AB genotipi en yüksek süt verimine sahiptir. Üzerinde durulan lokus üzerinde yapılan çalışmalarda, çalışmamızla uyumlu olacak şekilde SacII lokusunun süt verimi üzerine etkisinin olduğu ve Nubian keçilerinde AB genotipine sahip bireylerin süt verimlerinin daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Kahllo ve ark., 2014). Yine yapılan çalışmalarda üzerinde durulan bölgenin

süt verimi üzerine etkisinin olduğu (Dettori ve ark., 2015; Cardona ve ark., 2016) ve bazı keçi popülasyonlarında AA genotipine sahip hayvanların diğer genotiplere göre daha yüksek süt verimine sahip olduğu bildirilmiştir (Kumar ve ark., 2006; El-Hanafy ve ark., 2010; Kahllo ve ark., 2014; El-Hanafy ve ark., 2014; 2015). Çalışmamızda AA ve AB genotipleri arasında laktasyon süt verimleri bakımından istatistiksel anlamda önemli bir farklılığın olmaması neticesinde literatür bildirişleri çalışmamızı destekler niteliktedir. Bununla birlikte, Pakistan yerli keçileri ve Saanen keçilerinde üzerinde durulan lokusun süt verimi üzerine bir etkisinin olmadığını gösteren çalışmalar da mevcuttur (Mahmood ve ark., 2016; Işık ve ark., 2017).

Laktasyon süreleri incelendiğinde ise AA, AB ve BB genotipine ait süreler sırasıyla 248.09, 254.04 ve 232.81 gün olarak saptanmıştır. Genotipler arasındaki farklılık istatistiksel anlamda önemsiz bulunmuştur. Yapılan çalışmalarda sığırlarda ve Çine Çapari koyunlarında üzerinde çalışılan bölgenin laktasyon süresi üzerine etkisinin önemli olduğu ve sığırlarda AA ve AB genotipi (Edriss ve ark., 2009) ile Çine Çapari koyunlarında (Erdoğan, 2010) ise AA genotipine sahip hayvanların laktasyon sürelerinin daha uzun olduğu bildirilmiştir.

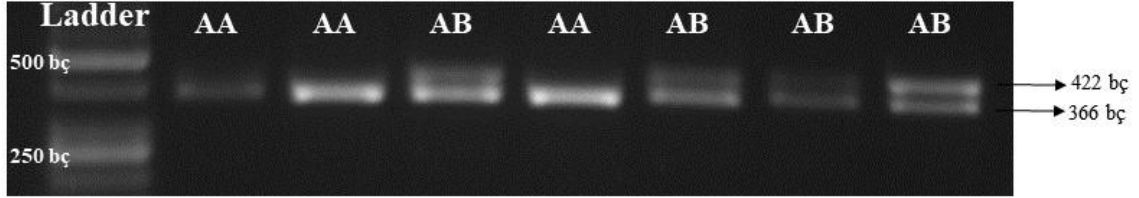
Popülasyonda, AA, AB ve BB genotipine ait ortalama günlük süt verimleri ise 1.91 kg, 1.93 kg ve 1.30 kg olarak tespit edilmiştir. Genotipler arasındaki farklılık istatistiksel anlamda önemli bulunmuştur ($P \leq 0.001$). Popülasyonda AA ve AB genotipine sahip hayvanların ortalama günlük süt verimleri BB genotipine göre yüksek bulunmuş olup genotipler arasında AB genotipi en yüksek süt verimine sahiptir. Keçiler üzerinde ilgili lokus bakımından çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak β -LG geni üzerinde farklı bölgelerde yapılan çalışmalar mandalarda genin ortalama günlük süt verimi üzerine etkisinin önemli (Vohra ve ark., 2012) ve koyunlarda ise önemsiz (Triantaphyllopoulos ve ark., 2017) olduğunu göstermektedir.

4.4. GH Geni GH1 Bölgesi

4.4.1. GH1/HaeIII Genotipleme Sonuçları

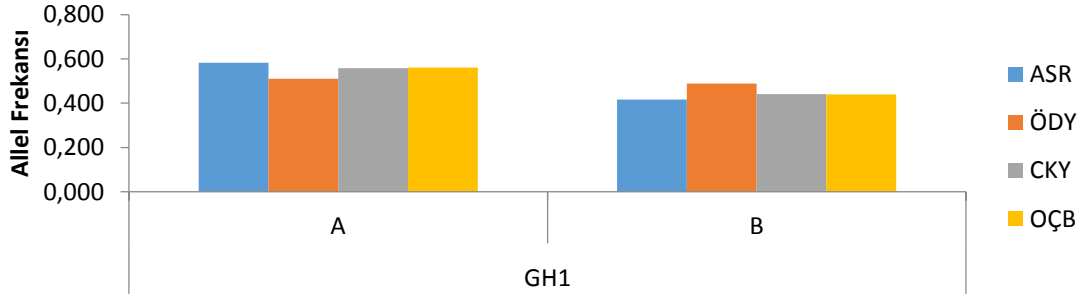
Kilis keçilerine ait genomik DNA örneklerinden RFLP yöntemiyle genotipleme yapmak amacıyla PCR ürünleri HaeIII (BsuRI) restriksiyon enzimiyle kesilmesi sonucu genotipleme yapılmıştır. HaeIII enzimiyle kesim sonucunda çoğaltılan 422 bp

uzunluğundaki bölgede AA (366, 56) ve AB (422, 366, 56) genotipleri belirlenmiştir. 56 bç uzunluğundaki fragmentler çok küçük olduğundan jelde görüntülenememiştir. Ancak 422 ve 366 bç uzunluğundaki fragmentlerin varlığı ile genotipleme yapılabilmektedir. HaeIII için örnek jel görüntüsü Şekil 4.7.'de sunulmuştur.



Şekil 4.7. GH1/HaeIII lokusunda elde edilen genotipler

Kilis keçilerinde dört farklı yetiştiriciye ait sürülerden yapılan örnekleme sonucu, GH1/HaeIII lokusunun sürülere göre allel frekanslarının dağılımı Şekil 4.8.'de sunulmuştur. Şekil 4.8.'den de görüleceği üzere A ve B allel frekansları ASR sürüsünde sırasıyla 0.583 ve 0.417; ÖDY sürüsünde 0.511 ve 0.489; CKY sürüsünde 0.559 ve 0.441; OÇB sürüsünde ise 0.561 ve 0.439 olarak tespit edilmiştir.



Şekil 4.8. Sürüler bazında GH1/HaeIII lokusuna ait allel frekansları

GH1/HaeIII lokusu sürüler bazında incelendiğinde A allel frekansının en yaygın ASR sürüsünde, B alleli ise en yaygın ÖDY sürüsünde gözlemlenmiştir. Şekil 4.8.'de yer alan frekans grafiğinde de görüldüğü üzere sürüler bazında allel frekans dağılımlarının benzer düzeyde olduğunu ortaya koymaktadır. Allel frekanslarının dağılımı bakımından çarpıcı bir fark söz konusu değildir.

Popülasyonda GH1/HaeIII lokusuna ait genel allel ve genotip frekansları ile gözlemlenen (H_o), beklenen (H_e) heterozigotluk oranları ve Ki-kare test değerleri Çizelge 4.7.'de sunulmuştur.

Çizelge 4.7. GH1/HaeIII lokusuna ait allel ve genotip frekansları

Lokuslar	N	Allel Frekansları (%)		Genotip Frekansları (%)			Ho	He	X ²
		A	B	AA	AB	BB			
GH1	177	55.08	44.92	10.17	89.83	-	0.898	0.495	117.679***

Gözlemlenen (Ho) ve beklenen (He) heterozigotluk oranları ve Ki-kare test değerleri; ***P<0.001.

Çizelge 4.7.'den de görüleceği üzere GH1/HaeIII lokusunda A ve B allel frekansları sırası ile %55.08 ve %44.92; AA, AB ve BB genotip frekansları ise yine aynı sıra ile %10.17, %89.83 ve %0.00 olarak tespit edilmiş ve popülasyonda BB genotipine rastlanmamıştır. Popülasyonda gözlemlenen (Ho) ve beklenen (He) heterozigotluk oranlarının sırasıyla 0.898 ve 0.495, Ki-kare test değerinin ise 117.679 olarak hesaplanmıştır. GH1/HaeIII lokusu bakımından gözlenen (Ho) ve beklenen (He) değerler arasındaki farklılık ($\chi^2 = 117.679$) istatistiksel anlamda önemli olup (P<0.001) popülasyonun Hardy-Weinberg dengesinden sapma gösterdiği tespit edilmiştir.

Bu çalışmada, incelenen GH1/HaeIII lokusu bakımından popülasyonun polimorfik olduğu tespit edilmiştir. Araştırma sonucunda, Kilis keçilerinde HaeIII lokusunda A ve B allel frekansları %55.08 ve %44.92 değeri ile aynı lokus üzerinde yapılan çalışmalarda Kıl ve Boer keçi popülasyonları ile benzerlik göstermekte ve sonuçlarımızla uyum içerisinde (Hua ve ark., 2009; Mete, 2016). Bununla birlikte sonuçların GH geni üzerinde farklı lokuslarda yapılan çalışmalar için sığır (Öner ve ark., 2011; Krasnopiorova ve ark., 2011; Heidari ve ark., 2012; Arslan ve ark., 2016) popülasyonlarında gözlenen değerlerden daha düşük olduğu gözlemlenmiştir. Yapılan çalışmalar A allelinin popülasyonlarda daha yaygın bir şekilde bulunduğunu göstermektedir.

Genotip frekansları incelendiğinde çalışmada popülasyonda sadece AA ve AB genotiplerinin varlığı gözlemlenmiş ve sonuçlarla benzer şekilde AB genotipi üzerinde çalışılan lokus bakımından yaygın olduğu Kıl ve Boer keçi popülasyonlarında da gözlemlenmiş (Hua ve ark., 2009; Mete ve ark., 2016) ancak elde ettiğimiz frekans değerlerinin bu popülasyonlardaki sonuçlardan daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte yapılan çalışmalarda BB genotipine çok az veya hiç rastlanmamış olması (Pawar ve ark., 2007; Hua ve ark., 2009; Arslan ve ark., 2016) çalışmamızı destekler niteliktedir.

Kilis keçisi popülasyonunun incelenen lokus için Hardy Weinberg dengesinden önemli ölçüde sapma göstermiş ($P<0.001$) ve yapılan çalışmalarla uyum içerisinde olduğu görülmektedir (Mete, 2016). Ancak, GH1 üzerinde farklı lokuslarda yapılan çalışmalarda popülasyonların dengede olduğu da görülmektedir (Öner ve ark., 2011; Komisarek ve ark., 2011). Üzerinde çalışılan popülasyonda gözlemlenen bu sapmanın, sürülerde seleksiyonun doğal değil kontrollü bir şekilde yapılmasından kaynaklandığı şeklinde açıklanabilir.

4.4.2. GH1 Gen Polimorfizmi ve Süt Verim Özellikleri Arasındaki İlişki

GH geni GH1 bölgesi PCR ürünlerinin HaeIII restriksiyon enzimi ile kesilmesi sonucunda elde edilen genotipler ile süt verim özellikleri arasındaki ilişki Çizelge 4.8.'de sunulmuştur.

Çizelge 4.8. GH1 genotipleri ve süt verim özellikleri arasındaki ilişki

Faktörler		LSV	LS	OGSV
GH1	N	P=0.168	P=0.529	P=0.213
AA	18	399.87 ± 138.84	241.94 ± 15.03	1.63 ± 0.51
AB	159	467.43 ± 201.43	250.85 ± 59.58	1.86 ± 0.76
Genel	177	460.56 ± 196.74	249.94 ± 56.71	1.83 ± 0.74

N: Hayvan Sayısı; LSV: Laktasyon Süt Verimi (kg); LS: Laktasyon Süresi (gün); OGSV: Ortalama Günlük Süt Verimi (kg); değerler "ortalama ± standart sapma" şeklinde verilmiştir.

Çizelge 4.8.'den de anlaşılabacağı üzere Kilis keçilerinde AA ve AB genotiplerine ait laktasyon süt verimleri sırası ile 399.87 kg ve 467.43 kg olarak tespit edilmiştir. Genotipler arasındaki farklılık istatistiksel anlamda önemli bulunmamıştır. Popülasyonda istatistiksel anlamda önemli olmasa da AB genotipinin laktasyon süt verimi üzerine pozitif etkisinin olduğu görülmektedir. Keçilerde GH üzerinde ekzon 5 ve 3' UTR lokusunun süt verimi üzerine etkisinin olduğu ve G allelinin verimi yüksek olan hayvanlarda daha yaygın olarak görüldüğü (Lan ve ark., 2007c), ekzon 2'nin ise Serrana ve Sarda keçilerinde laktasyon süt verimi üzerine etkisinin olduğu ve AB genotipine sahip bireylerin süt verimlerinin yüksek (Marques ve ark., 2003; Dettori ve ark., 2013) olduğu bildirilmiştir. Bununla birlikte, ekzon 2 ve ekzon 3'ün Algarvia keçilerinde süt verimi üzerine bir etkisinin olmadığı çalışmamızın sonuçlarıyla uyumlu ve destekler niteliktedir.

(Malveiro ve ark., 2001). Yine sığırlarda yapılan çalışmalarda laktasyon süt verimi üzerine intron 3'ün (Dybus, 2002a), AluI lokusunun (Krasnopiorova ve ark., 2011), intron 4 ve ekzon 5'in (Heidari ve ark., 2012) etkisi önemli bulunurken, ekzon 5/AluI lokusu Kankrej sığırlarında monomorfik olduğu tespit edilmiş ve sığırlarda TaqI lokusunun (Falaki ve ark., 1997) ise süt verimi üzerine bir etkisinin olmadığı bildirilmiştir.

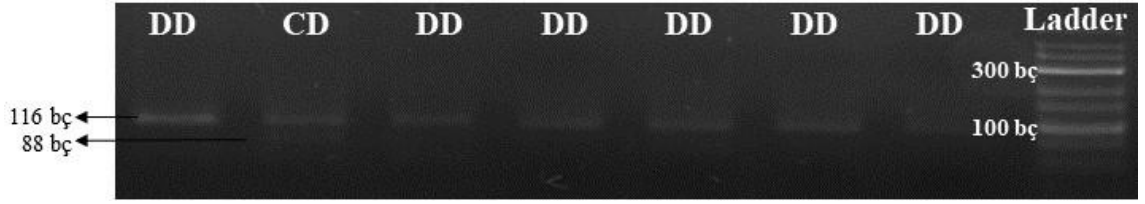
Laktasyon süreleri incelendiğinde ise AA ve AB genotipine ait süreler sırasıyla 241.94 ve 250.85 gün olarak saptanmıştır. Genotipler arasındaki farklılık istatistiksel anlamda önemli değildir. Ancak, AB genotipinin laktasyon süresi üzerine pozitif bir etkisinin olduğu görülmektedir. Laktasyon süresi bakımından yapılan literatür bildirişine rastlanmamıştır.

Popülasyonda, AA ve AB genotipine ait ortalama günlük süt verimleri ise 1.63 kg ve 1.86 kg olarak tespit edilmiştir. Genotipler arasındaki farklılık istatistiksel anlamda önemli değildir. Ancak, AB genotipinin ortalama günlük süt verimi üzerine pozitif bir etkisinin olduğu görülmektedir. Sığırlarda yapılan bir çalışmada GH1'in ortalama günlük süt verimi üzerine etkisinin olduğu bildirilmiştir (Arslan ve ark., 2016).

4.5. GH Geni GH2 Bölgesi

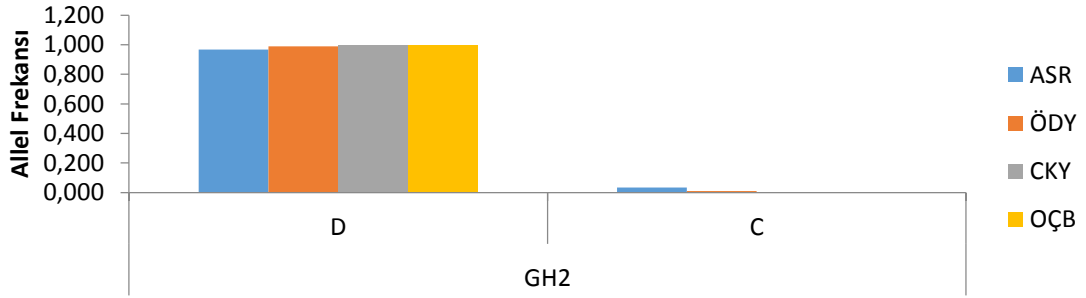
4.5.1. GH2/HaeIII Genotipleme Sonuçları

Kilis keçilerine ait genomik DNA örneklerinden RFLP yöntemiyle genotipleme yapmak amacıyla PCR ürünleri HaeIII (BsuRI) restriksiyon enzimiyle kesilmesi sonucu genotipleme yapılmıştır. HaeIII enzimiyle kesim sonucunda çoğaltılan 116 bp uzunluğundaki bölgede CC (88, 28), CD (116, 88, 28) ve DD (116) genotipleri belirlenmiştir. 28 bp uzunluğundaki fragmentler çok küçük olduğundan jelde görüntülenememiştir. Ancak 116 ve 88 bp uzunluğundaki fragmentlerin varlığı ile genotipleme yapılabilmektedir. HaeIII için örnek jel görüntüsü Şekil 4.9.'da sunulmuştur.



Şekil 4.9. GH2/HaeIII lokusunda elde edilen genotipler

Kilis keçilerinde dört farklı yetiştiriciye ait sürülerden yapılan örnekleme sonucu, GH2/HaeIII lokusunun sürülere göre allel frekanslarının dağılımı Şekil 4.10.'da sunulmuştur. Şekil 4.10.'dan anlaşılacağı üzere C ve D allel frekansları ASR sürüsünde sırasıyla 0.033 ve 0.967; ÖDY sürüsünde 0.011 ve 0.989; CKY sürüsünde 0.00 ve 1.000; OÇB sürüsünde ise 0.00 ve 1.000 olarak tespit edilmiştir.



Şekil 4.10. Sürüler bazında GH2/HaeIII lokusuna ait allel frekansları

GH2/HaeIII lokusu sürüler bazında incelendiğinde D allel frekansının en yaygın CKY ve OÇB sürülerinde olduğu tespit edilmiştir. C alleleline CKY ve OÇB sürülerinde hiç rastlanmamıştır. Şekil 4.10'da yer alan frekans grafiğinde de görüldüğü üzere sürüler bazında allel dağılımlarının benzer olduğu görülmektedir Allel frekanslarının dağılımı bakımından sürüler bazında çarpıcı bir farklılık söz konusu değildir.

Popülasyonda GH2/HaeIII lokusuna ait genel allel ve genotip frekansları ile gözlemlenen (H_o), beklenen (H_e) heterozigotluk oranları ve Ki-kare test değerleri Çizelge 4.9.'da sunulmuştur.

Çizelge 4.9. GH2/HaeIII lokusuna ait allel ve genotip frekansları

Lokuslar	N	Allel Frekansları (%)		Genotip Frekansları (%)			H_o	H_e	X^2
		C	D	CC	CD	DD			
GH2	181	0.83	99.17	-	1.66	98.34	0.017	0.016	0.013 ^{ns}

Gözlemlenen (H_o) ve beklenen (H_e) heterozigotluk oranları ve Ki-kare test değerleri; ns: önemsiz.

Çizelge 4.9.'da görüleceği üzere GH2/HaeIII lokusunda C ve D allel frekansları sırası ile %0.83 ve %99.17; CC, CD ve DD genotip frekansları ise yine aynı sıra ile %0.00, %1.66 ve %98.34 olarak tespit edilmiş ve çok düşük allel frekansı sebebi ile CC genotipine rastlanmamıştır. Popülasyonda gözlemlenen (H_o) ve beklenen (H_e) heterozigotluk oranlarının sırasıyla 0.017 ve 0.016, Ki-kare test değerinin ise 0.013 olarak hesaplanmıştır. GH2/HaeIII lokusu bakımından gözlenen (H_o) ve beklenen (H_e) değerler arasındaki farklılık ($\chi^2 = 0.013$) istatistiksel anlamda önemli bulunmamış olup popülasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olduğu belirlenmiştir.

Bu çalışmada, incelenen GH2/HaeIII lokusu bakımından polimorfik olmadığı tespit edilmiştir. Popülasyonda 181 hayvan içerisinde sadece 3'ünde C alleleline rastlanmıştır. Yapılan çalışmalarda Kıl keçilerinde C allel frekansı 0.50 (Mete, 2016) ve Boer keçilerinde (Hua ve ark., 2009) ise çok yaygın bir şekilde gözlemlenmiştir. Yapılan çalışmalar ile elde ettiğimiz sonuçlar uyum içerisinde değildir.

Genotip frekansları incelendiğinde çalışmada CD ve DD genotipleri gözlemlenmiş olup popülasyonda CC genotipine rastlanmamıştır. Bu durumun aksine, Boer keçilerinde DD genotipine rastlanmamış olup yaygın olarak popülasyonda CC allelinin varlığı bildirilmiştir (Hua ve ark., 2009). Bir diğer araştırmacı ise popülasyonda en yaygın CD genotipinin varlığını bildirmiştir (Mete, 2016). Yapılan çalışmalar ile elde ettiğimiz sonuçlar uyum içerisinde değildir.

Kilis keçisi popülasyonunun Hardy Weinberg dengesinde olduğu tespit edilmiş olup incelenen lokus bakımından yapılan çalışmalarla uyum içerisinde olmadığı (Lan ve ark., 2007b; Işık, 2016) görülmüştür.

4.5.2. GH2 Gen Polimorfizmi ve Süt Verim Özellikleri Arasındaki İlişki

4.5.3.

GH geni GH2 bölgesinin HaeIII restriksiyon enzimi ile sonucunda elde edilen genotipler ile süt verim özellikleri arasındaki ilişki Çizelge 4.10.'da sunulmuştur.

Çizelge 4.10. GH2 genotipleri ve süt verim özellikleri arasındaki ilişki

Faktörler		LSV	LS	OGSV
GH2	N	P=0.557	P=0.955	P=0.546
CD	3	525.80 ± 97.96	251.67 ± 12.01	2.09 ± 0.43
DD	178	459.05 ± 195.79	249.82 ± 56.54	1.83 ± 0.74
Genel	181	460.15 ± 194.62	249.85 ± 56.08	1.84 ± 0.73

N: Hayvan Sayısı; LSV: Laktasyon Süt Verimi (kg); LS: Laktasyon Süresi (gün); OGSV: Ortalama Günlük Süt Verimi (kg); değerler “ortalama ± standart sapma” şeklinde verilmiştir.

Çizelge 4.10.’dan anlaşılabacağı üzere Kilis keçilerinde CD ve DD genotiplerine ait laktasyon süt verimleri sırası ile 525.80 ve 459.80 kg olarak tespit edilmiş ve genotipler arasındaki farklılık istatistiksel anlamda önemli bulunmamıştır. İstatistiksel olarak önemli olmasa da, popülasyonda CD genotipinin süt verimi üzerine çok küçük bir katkısı olduğu görülmektedir. Literatür bildirişlerine göre, ekzon 4’ün Algarvia ve Serrana keçilerinde laktasyon süt verimi üzerine etkisi önemli (Malveiro ve ark., 2001; Marques ve ark., 2003), ancak Sarda keçilerinde önemsiz (Dettori ve ark., 2013) olduğu görülmektedir

Laktasyon süreleri incelendiğinde ise CD ve DD genotipine ait süreler sırasıyla 251.67 ve 249.82 gün olarak saptanmıştır. Genotipler arasındaki farklılık istatistiksel anlamda önemli olmadığı tespit edilmiştir. İstatistiksel olarak önemli olmasa da, popülasyonda CD genotipinin laktasyon süresi üzerine çok küçük bir katkısı olduğu görülmektedir.

Popülasyonda, CD ve DD genotipine ait ortalama günlük süt verimleri ise 2.09 kg ve 1.83 kg olarak tespit edilmiştir. Genotipler arasındaki farklılık istatistiksel anlamda önemli bulunmamıştır. İstatistiksel olarak önemli olmasa da, popülasyonda CD genotipinin laktasyon süresi üzerine çok küçük bir katkısı olduğu görülmektedir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Kilis ilindeki “Halk Elinde Küçükbaş Hayvan Islahı Ülkesel Projesi”nin alt projesi olan “Kilis Keçilerinin Halk Elinde Islahı” projesi kapsamında kayıtlı Kilis keçisi elit sürülerinde yürütülen bu çalışma POU1F1, PRLR, β -LG, GH genleri üzerinde belirlenen lokuslarda DNA polimorfizmi PCR-RFLP yöntemi ile tanımlanmış ve anılan gen bölgelerinin laktasyon süt verimi, laktasyon süresi ve ortalama günlük süt verimi ile ilişkisi ortaya konmuştur. Yürütülen bu çalışmada süt verim potansiyeli yüksek olan Kilis keçilerinde, üzerinde durulan gen bölgeleri bakımından yapılan ilk çalışma olmasının yanında anılan genler konusunda literatürde eksikliğin olması nedeniyle literatüre de önemli katkılar sağlayacaktır. Bu çalışmada elde edilen sonuçları aşağıdaki gibi özetlemek mümkündür.

- POU1F1 geni, transkripsiyon faktörü olması ile GH, PRL, TSH β gibi genlerin ekspresyonunda önemli bir rol alması ve markör destekli seleksiyon için önemli bir aday gen konumunda olması sebebiyle Kilis keçilerinde polimorfizmin ortaya konması, süt verim yönlü bu ırkın genetik potansiyelinin ortaya konması açısından büyük önem taşımaktadır.
- Yapılan bu çalışmada POU1F1/AluI lokusunun Kilis keçi popülasyonunda laktasyon süt verimi, laktasyon süresi ve ortalama günlük süt verimi üzerine etkisi istatistiksel anlamda önemli bulunmuştur ($P<0.05$). Popülasyonda T alleli en yaygın gözlenen allel olup (%67.08), TC genotipine sahip bireylerin anılan özellikler bakımından en yüksek değere sahip olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Diğer yandan seleksiyonun ve çiftleştirilmenin kontrollü yapılması neticesinde popülasyonun Hardy Weinberg dengesinden sapma gösterdiği görülmektedir ($P<0.05$). Keçi yetiştiriciliğinde verim özellikleri ile bu popülasyonun genetik yapısının ortaya konması sonucu potansiyel aday konumdaki POU1F1 geninin Kilis keçisi popülasyonlarında Markör Destekli Seleksiyon (MAS) için kullanılmasının uygun olduğu düşünülmektedir.
- Prolaktin ve prolaktin reseptörlerin yaklaşık 300’den fazla biyokimyasal süreçte rol oynaması, süt verimini ve üreme faaliyetleri üzerindeki direk ya da dolaylı etkisi bu genin önemini birkez daha karşımıza çıkarmaktadır. Bu çalışmaya konu olan PRLR geni ile süt verim özellikleri arasındaki ilişki konusunda Dünya’da yapılan çalışmalar literatürde çok azdır. Yapılan çalışmalarda genellikle döl verim ölçütleri

üzerinde durulmuş ancak süt verim özellikleri konusundaki çalışmalar çok nadir görülmektedir. Bu nedenle PRLR geninin süt verim özellikleri üzerinde etkisinin ortaya konması literatüre de büyük katkı sağlayacaktır.

- Üzerinde durulan popülasyonda PRLR geninin laktasyon süt verimi ve ortalama günlük süt verimi üzerine etkisi istatistiksel anlamda önemli bulunmuş olup ($P \leq 0.05$), laktasyon süresi üzerine bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Popülasyonda C allelinin en yaygın allel olduğu (%86.80) ve TT genotipine sahip hayvanların laktasyon süt veriminin ve ortalama günlük süt veriminin daha yüksek olduğu görülmektedir. Yapılan Ki-kare analizi sonucunda popülasyonun Hardy Weinberg dengesinde olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte, laktasyon süresi üzerine etkisi istatistiksel anlamda önemli olmasa da TT genotipinin laktasyon süresi üzerine pozitif etkisi vardır. Nitekim popülasyonda TT genotipine 179 hayvan içerisinde sadece 4 bireyde rastlanmıştır. PRLR/RsaI lokusu için Kilis keçi popülasyonunda çalışmanın daha büyük sayıda örnekle tekrar değerlendirilmesi sonuçların rastlantısal olup olmadığı konusunda faydalı olacaktır.
- β -laktoglobulin bir whey protein olup yapılan literatür taramasında hem süt verim özellikleri bakımından hem de süt kalitesi üzerinde yapılan çalışmaların oldukça yaygın olduğu görülmüştür. Literatür bildirişlerinde anılan gen ile ilgili çok farklı sonuçlar mevcuttur. Kilis keçisi popülasyonunda β -laktoglobulin/SacII polimorfizminin laktasyon süt verimi ve ortalama günlük süt verimi üzerine etkisi istatistiksel anlamda çok önemli bulunmuş ($P \leq 0.001$), ancak laktasyon süresi üzerine bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Popülasyonda A allel (%59.04) frekansının B allel frekansına göre nispeten daha yüksek olduğu ve AB genotipine sahip hayvanların laktasyon ve ortalama günlük süt verimlerinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte popülasyonun Hardy Weinberg dengesinden sapma gösterdiği görülmektedir ($P < 0.01$). β -laktoglobulin/SacII polimorfizminin laktasyon süresi üzerine istatistiki anlamda etkisi olmasa da pozitif bir etkisi vardır. Kilis keçisi popülasyonunda β -laktoglobulin/SacII lokusunun Markör Destekli Seleksiyon için bir potansiyel olduğu düşünülmektedir.
- Adından da anlaşılacağı üzere büyüme ve gelişme için zorunlu bir gen olan GH üzerinde iki ayrı bölge çalışma kapsamında değerlendirilmiştir. GH1/HaeIII bölgesinin laktasyon süt verimi, laktasyon süresi ve ortalama günlük süt verimi

üzerine etkisi tespit edilememiştir. Bununla birlikte AB genotipine sahip bireylerde incelenen parametreler açısından pozitif bir etkisinin olduğu tespit edilmiştir. Ancak, üzerinde çalışılan lokusun polimorfik olduğu ve süt verim özellikleri ile bir ilişkinin tespit edilememesi bu genin etkili olmadığı anlamına gelmemelidir. Bu bağlamda, büyüme hormonu geninin geniş bir popülasyon üzerinde yapılacak bir örnekleme ile ilgili genin sekans analizinin yapılması ve diğer tüm SNP'lerin varlığının ortaya konması ve süt verim özellikleri ile ilişkilendirilmesi ortaya koyulabilecek çok değerli sonuçlar için potansiyel durumdadır. GH1/HaeIII lokusu bakımından popülasyonda en yaygın A allelinin (%55.08) olduğu gözlemlenmiş ve BB genotipine hiç rastlanmamıştır. Bununla birlikte popülasyon Hardy Weinberg dengesinde olmadığı da tespit edilmiştir ($P<0.001$).

- GH2/HaeIII bölgesi bakımından ise 181 hayvan içerisinde yalnızca 3 hayvanda CD genotipine rastlanmış, popülasyonda DD genotipine rastlanmamıştır. Popülasyon büyüklüğü, bir popülasyonda mevcut olan allel sayısını etkilemektedir. Popülasyonda birey sayısının az olması genetik bir sürüklenmeye neden olabilmektedir. Genetik sürüklenme, kısa sürede popülasyonlarda büyük değişikliklere yol açabilecek rastgele bir süreçtir. Genetik sürüklenme, üreme katsayısını artırır ve allellerin uzaklaştırılmasının bir sonucu olarak homozigotluğu artırmaktadır. İncelenen lokus bakımından üzerinde çalışılan popülasyonda homozigotluğun arttığı görülmektedir.

KAYNAKLAR

- Adashi, E.Y., Resnick, C.E., D'Ercole, A.J., Svoboda, M.E. and Van Wyk, J.J., 1985. Insulin-like growth factors as intraovarian regulators of granulosa cell growth and function. **Endocrine Reviews**, 6: 400-420.
- Adashi, E.Y. and Resnick, C.E., 1987. Prolactin as an inhibitor of granulosa cell luteinization: implications for hyperprolactinemia-associated luteal phase dysfunction. **Fertility and Sterility**, 48: 131-139.
- Agellon, L.B., Davies, S.L., Chen, I.T. and Powers, D.A., 1988. Structure of fish (rainbow trout) growth hormone gene and its evolutionary implication. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 85: 5136-5140.
- Ağaoğlu, Ö.K., Kul, B.Ç., Akyüz, B., Elmaz, Ö., Metin, M.Ö., Saatçi, M. and Ertuğrul, O., 2012. Identification of β -lactoglobulin gene SacII polymorphism in Honamlı, Hair and Saanen goat breeds reared in Burdur vicinity. **Journal of The Kafkas University Faculty of Veterinary Medicine**, 18 (3): 385-388.
- Aktepe, T., 2009. A study on determining anatomical, morphological and physiological adaptation parameters of Kilis goats. **Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi**, Adana.
- Al-Khuzai, H.M. and Al-Anbari, N.N., 2018. Relationship of POU1F1 gene polymorphism with some of economical traits in Iraqi Awassi ewes. **Journal of Entomology and Zoology Studies**, 6 (2): 2082-2085.
- Al-Sakkaf, K.A., Dobson, P.R. and Brown, B.L., 1997. Prolactin induced tyrosine phosphorylation of p59fyn may mediate phosphatidylinositol 3-kinase activation in Nb2 cells. **Journal of Molecular Endocrinology**, 19: 347-350.
- Ali, S., Pellegrini, I., Edery, M., Lesueur, L., Paly, J., Djiane, J. and Kelly, P.A., 1991. A prolactin-dependent immune cell line (Nb2) expresses a mutant form of prolactin receptor. **Journal of Biological Chemistry**, 266: 20110-20117.
- Alizadehasl, M. and Ünal, N., 2011. Some morphological characteristics in Kilis, Norduz and Honamlı goats. **Journal of Lalahan Animal Research Institute**, 51: 81-92.
- Alonso, G., Siaud, P., Faivre Sarrailh, C., Grouselle, D., Barbanel, G. and Assenmacher, I., 1988. Axons containing a prolactin-like peptide project into the perivascular layer of the median eminence: an immunocytochemical light and electron microscope study in adult and infant rats. **Neuroendocrinology**, 48: 39-44.
- Amiri, S., Jemmali, B., Ferhichi, M.A., Jeljeli, H., Boulbaba, R. and Gara, A.B., 2018. Assesment of growth hormone gene polymorphism effect on reproductive traits in Holstein dairy cattle in Tunisia. **Archives Animal Breeding**, 61: 481-489.
- Amit, T., Dibner, C., Barkey, R.J., 1997. Characterization of prolactinand growth hormone-binding proteins in milk and their diversity among species. **Molecular and Cellular Endocrinology**, 130: 167-180.
- An, X.P., Hou, J.X., Wang, L.X., Li, G., Wang, J.G., Song, Y.X., Zhou, G.Q., Han, D., Ling, L. and Cao, B.Y., 2010. Novel polymorphisms of the growth hormone gene and their effect on growth traits in Chinese goats. **Meat Science**, 86: 758-763.
- An, X., Hou, J., Gao, T., Lei, Y., Li, G., Song, Y., Wang, J. and Cao, B., 2015. Single-nucleotide polymorphisms g.151435C>T and g.173057T>C in PRLR gene regulated by bta-miR-302a are associated with litter size in goats. **Theriogenology**, 83: 1477-1483.
- Andersen, J.R., 1990. Decidual prolactin. Studies of decidual and amniotic prolactin in normal and pathological pregnancy. **Danish Medical Bulletin**, 37: 154-165.

- Andersen, B. and Rosenfeld, M.G., 2001. POU domain factors in the neuroendocrine system: lessons from developmental biology provide insights into human disease. **Endocrine Reviews**, 22: 2-35.
- Anderson, J.L., 1989. Colloid transport by interfacial forces. **Annual Review of Fluid Mechanics**, 21 (1): 61-99.
- Anonim, 2019a. <http://www.reproturk.com.tr/public/files/Saanen.pdf>. Erişim tarihi: 28.08.2019.
- Anonim, 2019b. http://atlasgeneticsoncology.org/Genes/GC_POU1F1.html. Erişim tarihi: 17.09.2019.
- Anonim, 2019c. [https://tr.wikipedia.org/wiki/Kilis_\(il\)](https://tr.wikipedia.org/wiki/Kilis_(il)). Erişim tarihi: 07.08.2019.
- Anonim, 2019d. <https://www.mgm.gov.tr>. Erişim tarihi: 07.08.2019.
- Anonim, 2019e. <https://www.thermofisher.com/tr/en/home/life-science/cloning/cloning-learning-center/invitrogen-school-of-molecular-biology/pcr-education/pcr-reagents-enzymes/pcr-basics.html>. Erişim tarihi: 04.08.2019.
- Anthony, P.K., Stoltz, R.A., Pucci, M.L. and Powers, C.A., 1993. The 22K variant of rat prolactin: evidence for identity to prolactin-(1-173), storage in secretory granules, and regulated release. **Endocrinology**, 132: 806-814.
- Arber, W. and Linn, S., 1969. DNA modification and restriction. **Annual Review of Biochemistry**, 38: 467-500.
- Arden, K.C., Boutin, J.M., Djiane, J., Kelly, P.A. and Cavenee, W.K., 1990. The receptors for prolactin and growth hormone are localized in the same region of human chromosome 5. **Cytogenetic and Genome Research**, 53: 161-165.
- Arita, J., Kojima, Y. and Kimura, F., 1991. Identification by the sequential cell immunoblot assay of a subpopulation of rat dopamine-unresponsive lactotrophs. **Endocrinology**, 128: 1887-1894.
- Arora, R., Bhatia, S., Mishra, B.P., Sharma, R., Pandey, A.K., Prakash, B. and Jain, A., 2010. Genetic polymorphism of the β -lactoglobulin gene in native sheep from India. **Biochemical Genetics**, 48 (3-4): 304-311.
- Arslan, K., Taheri, S., Şener, E.F., Akyüz, B., Akçay, A., Özkul, Y. and İçsan, K.M., 2016. Investigation of the promoter polymorphisms of the growth hormone (GH1), growth hormone receptor (GHR), insulin-like growth factor (IGF-I) and prolactin, (PRL) genes and the correlation between gene expression and milk yields in Holstein cattle raised in Central Anatolia. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, 40: 609-615.
- Assa-Munt, N., Mortishire-Smith, R.J., Aurora, R., Herr, W. and Wright, P.E., 1993. The solution structure of the Oct-1 POU-specific domain reveals a striking similarity to the bacteriophage λ repressor DNA-binding domain. **Cell**, 73: 193-205.
- Ata, N. and Cemal, I., 2013. Calpastatin gene polymorphism in Çine Çapari and Karya sheep. **Scientific Papers Series D Animal Science**, 56: 48-51.
- Auldist, M.J., Thomson, N.A., Mackle, T.R., Hill, J.P. and Prosser, C.G., 2000. Effects of pasture allowance on milk yield and composition of milk from cows of different β -lactoglobulin phenotypes. **Journal of Dairy Science**, 83: 2069-2074.
- Ayala, F.J., 1984. Molecular polymorphism: How much is there and why is there so much? **Developmental Genetics**, 4: 379-391.
- Aytekin, İ. ve Boztepe, S., 2013. Association of Pit-1 gene polymorphism with milk yield and composition traits in Brown Swiss cattle. **The Journal of Animal & Plant Sciences**, 23(5): 1281-1289.

- Baeuerle, P.A., 1998. Pro-inflammatory signaling: last pieces in the NF-kappaB puzzle. **Current Biology**, 8: R19-R22.
- Bakowska, J.C. and Morrell, J.I., 1997. Atlas of the neurons that express mRNA for the long form of the prolactin receptor in the forebrain of the female rat. **The Journal of Comparative Neurology**, 386: 161-177.
- Balcioğlu, M.S., Karsli, T., Şahin, E., Ulutaş, Z. ve Aksoy, Y., 2014. Türkiye’de yetiştirilen bazı yerli koyun ırklarında Kalpastatin (Cast) gen, polimorfizminin PCR-RFLP yöntemiyle belirlenmesi. **Tarım Bilimleri Dergisi**, 4: 427-433.
- Ballester, M., Sanchez, A. and Folch, J.M., 2005. Polymorphisms in the goat β -lactoglobulin gene. **Journal of Dairy Research**, 72: 379-384.
- Baltacı, S., 1990. A study on adaptation of Kilis goats and it is crossbreeds in Ceylanpınar farm station. **Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi**, Adana.
- Bamberger, A.M., Bamberger, C.M., Pu, L.P., Puy, L.A., Loh, Y.P. and Asa, S.L., 1995. Expression of pit-1 messenger ribonucleic acid and protein in the human placenta. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, 80: 2021-2026.
- Barber, M.C., Clegg, R.A., Finley, E., Vernon, R.G. and Flint, D.J., 1992. The role of growth hormone, prolactin and insulin-like growth factors in the regulation of rat mammary gland and adipose tissue metabolism during lactation. **Journal of Endocrinology**, 135: 195-202.
- Bartke, A., Chandrashekar, V., Turyn, D., Steger, R.W., Debeljuk, L., Winters, T.A., Mattison, J.A., Danilovich, N., Croson, W., Wernsing, D.R. and Kopchick, J., 1999. Effects of growth hormone overexpression and growth hormone resistance on neuroendocrine and reproductive functions in transgenic and knock-out mice. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, 222: 113-123.
- Bastos, E., Santos, I., Parmentier, I., Castrillo, J.L., Cravador, A., Guedes-Pinto, H. and Renaville, R., 2006. Ovis aries POU1F1 gene: cloning, characterization and polymorphism analysis. **Genetica**, 126: 303-314.
- Baumann, G., 1991. Growth hormone heterogeneity: genes, isohormones, variants, and binding proteins. **Endocrine Reviews**, 12: 424-449.
- Bazan, F., 1989. A novel family of growth factor receptors: a common binding domain in the growth hormone, prolactin, erythropoietin and IL-6 receptors, and p75 IL-2 receptorb-chain. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 164: 788-795.
- Bazan, J.F., 1990. Structural design of molecular evolution of a cytokine receptor superfamily. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 87: 6934-6938.
- Beadling, C., Babbage, J.W. and Cantrell, D.A., 1996. Interleukin-2 activation of STAT5 requires the convergent action of tyrosine kinases and a serine/threonine kinase pathway distinct from the RAf1/ERK2 MAP kinase pathway. **The EMBO Journal**, 15: 1902-1913.
- Beauchemin, V.R., Thomas, M.G., Franke, D.E. and Silver, G.A., 2006. Evaluation of DNA polymorphisms involving growth hormone relative to growth and carcass characteristics in Brahman steers. **Genetics and Molecular Research**, 5(3): 438-447.
- Bedo, G., Santisteban, P. and Aranda, A., 1989. Retinoic acid regulates growth hormone expression. **Nature**, 339: 231-234.

- Berlanga, J.J., Fresno-Vara, J.A., Martin-Perez, J. and Garcia-Ruiz, J.P., 1995. Prolactin receptor associated with c-src kinase in rat liver. *Molecular Endocrinology*, 9: 1461-1467.
- Berlanga, J.J., Gualillo, O., Buteau, H., Applanat, M., Kelly, P.A. and Edery, M., 1997. Prolactin activates tyrosyl phosphorylation of insulin receptor substrate 1 and phosphatidylinositol-3-OH kinase. *Journal of Biological Chemistry*, 272: 2050-2052.
- Bewley, T.A. and Li, C.H., 1972. Circular dichroism studies on human pituitary growth hormone and ovine pituitary lactogenic hormone. *Biochemistry*, 11: 884-888.
- Bidanel, J.P., Milan, D., Iannucelli, N., Amigues, Y., Boscher, M.Y. and Bourgeois, F., 2001. Detection of quantitative trait loci for growth and fatness in pigs. *Genetics Selection Evolution*, 33: 289-309.
- Biswas, T.K., Bhattacharya, T.K., Narayan, A.D., Badola, S., Kumar, P. and Sharma, A., 2003. Growth hormone gene polymorphism and its effect on birth weight in cattle and buffalo. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, 16 (4): 494-497.
- Bodner, M., Castrillo, L.E., Theill, L.E., Deerinck, T., Ellisman, M. and Karin, M., 1988. The pituitary-specific transcription factor GHF-1 is a homeobox-containing protein. *Cell*, 55: 505-518.
- Boichard, D., Manfredi, E. and Bonaiti, B., 1992. Amelioration genetique de l'espece caprine. *Colloque Production Caprine*, 1-10.
- Bole-Feysot, C., Goffin, V., Edery, M., Binart, N. and Kelly, P.A., 1998. Prolactin (PRL) and its receptor: actions, signal transduction pathways and phenotypes observed in PRL receptor knockout mice. *Endocrine Reviews*, 19 (3): 225-268.
- Boockfor, F.R., Hoeffler, J.P. and Frawley, L.S., 1986. Estradiol induces a shift in cultured cells that release prolactin or growth hormone. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 250: E100-E103.
- Boockfor, F.R. and Frawley, L.S., 1987. Functional variations among prolactin cells from different pituitary regions. *Endocrinology*, 120: 874-879.
- Botstein, D., White, R., Skolnick, M. and Davis, R.W., 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms, *The American Journal of Human Genetics*, 32: 314-331.
- Boulay, J.L. and Paul, W.E., 1992. The interleukin-4-related lymphokines and their binding to hematopoietin receptors. *Journal of Biological Chemistry*, 267: 20525-20528.
- Boutin, J.M., Jolicoeur, C., Okamura, H., Gagnon, J., Edery, M., Shiota, M., Banville, D., Dusanter-Fourt, I., Djiane, J. and Kelly, P.A., 1988. Cloning and expression of the rat prolactin receptor, a member of the growth hormone/prolactin receptor gene family. *Cell*, 53: 69-77.
- Boutin, J.M., Edery, M., Shiota, M., Jolicoeur, C., Lesueur, L., Ali, S., Gould, D., Djiane, J. and Kelly, P.A., 1989. Identification of a cDNA encoding a long form of prolactin receptor in human hepatoma and breast cancer cells. *Molecular Endocrinology*, 3: 1455-1461.
- Bowen, J.M., Keyes, P.L., Warren, J.S. and Townson, D.H., 1996. Prolactin-induced regression of the rat corpus luteum: expression of monocyte chemoattractant protein-1 and invasion of macrophages. *Biology of Reproduction*, 54: 1120-1127.
- Brent, G.A., Harney, J.W., Moore, D.D. and Larsen, P.R., 1988. Multihormonal regulation of the human, rat, and bovine growth hormone promoters: differential

- effects of 3' 5'-cyclic adenosine monophosphate, thyroid hormone, and glucocorticoids. **Molecular Endocrinology**, 2: 792-798.
- Bridges, R.S., 1984. A quantitative analysis of the roles of dosage, sequence, and duration of estradiol and progesterone exposure in the regulation of maternal behavior in the rat. **Endocrinology**, 114: 930-940.
- Bridges, R.S., 1985. Prolactin stimulation of maternal behavior in female rats. **Science**, 227: 782-784.
- Bridges, R.S., Numan, M., Ronsheim, P.M., Mann, P.E. and Lupini, C.E., 1990. Central prolactin infusions stimulate maternal behavior in steroid-treated, nulliparous female rats. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 87: 8003-8007.
- Bridges, R.S., 1994. The role of lactogenic hormones in maternal behavior in female rats. **Acta Paediatrica**, 397: 33-39.
- Bridges, R.S., Robertson, M.C., Shiu, R.P.C., Friesen, H.G., Stuer, A.M. and Mann, P.E., 1996. Endocrine communication between conceptus and mother: placental lactogen stimulation of maternal behavior. **Neuroendocrinology**, 64: 57-64.
- Buckley, A.R., Rao, Y.P., Buckley, D.J. and Gout, P.W., 1994. Prolactin-induced phosphorylation and nuclear translocation of MAP kinase in Nb2 lymphoma cells. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 204: 1158-1164.
- Burdon, T.G., Maitland, K.A., Clark, A.J., Wallace, R. and Watson, C.J., 1994. Regulation of the sheep beta-lactoglobulin gene by lactogenic hormones is mediated by a transcription factor that binds an interferon-gamma activation site-related element. **Molecular Endocrinology**, 8: 1528-1536.
- Burge, C.D., Allain, D., Clement, V., Piacere, A., Martin, P. and Palhiere, I., 2012. Genetic variability and French breeding programs of three goat breeds under selection. **Small Ruminant Research**, 108: 36-44.
- Campbell-Burk, S. and Carpenter, J.W., 1995. Refolding and purification of Ras proteins. **Methods in Enzymology**, 255: 3-13.
- Cardona, S.J.C., Alvarez, J.D.C., Sarmiento, J.L.R., Herrera, L.G.G. and Cadavid, H.C., 2015. Association of SNPs in the genes for K-casein and β -lactoglobulin with lactation curves in dairy goats. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, 50 (3): 224-232.
- Cardona, S.J.C., Cadavid, H.C., Corrales, J.D., Munilla, S., Cantet, R.J.C. and Munoz, A.R., 2016. Longitudinal data analysis of polymorphisms in the K-casein and β -lactoglobulin genes shows differential effects along the trajectory of the lactation curve in tropical dairy goats. **Journal of Dairy Science**, 99: 7299-7307.
- Carter-Su, C. and Smit, L.S., 1998. Signaling via JAK tyrosine kinases: growth hormone receptor as a model system. **Recent Progress in Hormone Research**, 53: 61-82.
- Cassy, S., Charlier, M., Belair, L., Guillomot, M., Charron, G., Bloch, B. and Djiane, J., 1998. Developmental expression and localization of the prolactin receptor (PRL-R) gene in the ewe mammary gland during pregnancy and lactation: Estimation of the ratio of the two forms of PRL-R messenger ribonucleic acid. **Biology of Reproduction**, 58: 1290-1296.
- Castano, J.P., Faught, W.J., Glave, E.E., Russell, B.S. and Frawley, L.S., 1997. Discordance of prolactin gene transcription, mRNA storage, and hormone release in individual mammatropes. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, 272: E390-E396.
- Cauveri, D., Sivaselvam, S.N., Karthickeyan, S.M.K., Tirumurugaan, K.G., Kumanan, K. and Venkataramanan, R., 2016. Single nucleotide polymorphisms in GH (growth

- hormone) gene associated with growth traits in Nilagiri sheep of Tamil Nadu. **International Journal of Science Environment and Technology**, 5 (6): 4097-4103.
- Cecchinato, A., Ribeca, C., Chessa, S., Cipolat-Gotet, C., Maretto, F., Casellas, J. and Bittante, G., 2014. Candidate gene association analysis for milk yield, composition, urea nitrogen, and somatic cell scores in Brown Swiss cows. **Animal**, 8 (7): 1062-1070.
- Cemal, İ., 1996. Çiftlik hayvanlarında major genler: bunların belirlenmesi, transferi ve endüstriyel kullanımı. **Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi**, Van.
- Cemal, İ. Karaca, O. ve Atay, O., 1996. Koyunlarda döl verimine etkili major genler. **Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi**, 6 (4): 31-48.
- Cemal, İ. ve Karaca, O., 2006. Çiftlik hayvanlarında major genlerin belirlenmesi ve genotip ayrımı. **Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi**, 21 (1): 105-115.
- Cemal, İ., Yılmaz, O., Karaca, O., Binbaş, P. and Ata, N., 2013a. Analysis of genetic diversity in indigenous Çine Çapari sheep under conservation by microsatellite markers. **Journal of The Kafkas University Faculty of Veterinary Medicine**, 19 (3): 383-390.
- Cemal, İ., Yılmaz, O., Karaca, O., Öztürk, M. ve Ata, N., 2013b. Hayvan ıslahında genomik seleksiyon. **8. Ulusal Zootečni Bilim Kongresi**, 360, Çanakkale.
- Chase, C.C., Kirby, C.J., Hammond, A.C., Olson, T.A. and Lucy, M.C., 1998. Patterns of ovarian growth and development in cattle with a growth hormone receptor deficiency. **Journal of Animal Science**, 76: 212-219.
- Chen, E.Y., Liao, Y.C., Smith, D.H., Barrera-Saldana, H.A., Gelinias, R.E. and Seeburg, P.H., 1989. The human growth hormone locus: nucleotide sequence, biology, and evolution. **Genomics**, 4: 479-497.
- Chen, R., Ingraham, H., Treacy, M.N., Albert, V.R., Wilson L. and Rosenfeld, M.G., 1990. Autoregulation of PIT-1 gene expression mediated by two cis-active promoter elements. **Nature**, 346: 583-586.
- Chen, X. and Horseman, N.D., 1994. Cloning, expression and mutational analysis of the pigeon prolactin receptor. **Endocrinology**, 135: 269-276.
- Chen, H., Lan, X.Y., Li, R.B., Lei, C.Z., Sun, W.B., Zhang, R.F., Zheng, Y.L. and Zhu, B.C., 2005. The effect of CSN1 S2, CSN3 and beta-lg genes on milk performance in Xinong Saanen dairy goat. **Acta Genetica Sinica**, 32 (8): 804-810.
- Chen, J., Liu, H., Cai, Y., Wang, G., Liu, H. and Li, J., 2012. Mutations in the exon 10 of prolactin receptor gene change the egg production performance in Wanjiang white goose. **Molecular Biology Reports**, 39: 475-483.
- Chiu, S., Koos, R.D. and Wise, P.M., 1992. Detection of prolactin receptor (PRL-R) mRNA in the rat hypothalamus and pituitary gland. **Endocrinology**, 130: 1747-1749.
- Chiu, S. and Wise, P.M., 1994. Prolactin receptor mRNA localization in the hypothalamus by in situ hybridization. **Journal of Neuroendocrinology**, 6: 191-199.
- Chiu, S. and Wise, P.M., 1996. Prolactin receptor gene expression in specific hypothalamic nuclei increases with age. **The Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences**, 51: B220-B224.

- Chiu, C.C., Ting, J.W., Hseu, T.H. and Chang, C.Y., 2002. Characterization of transactivation domain and developmental expression of pituitary specific transcription factor, Pit-1 of ayu (*Plecoglossus altivelis*). **General and Comparative Endocrinology**, 127: 307-313.
- Chu, M.X., Mu, Y.L., Fang, L. and Ye, S.C., 2007. Prolactin receptor as a candidate gene for prolificacy of small tail Han sheep. **Animal Biotechnology**, 18: 65-73.
- Clapp, C., Torner, L., Gutierrez-Ospina, G., Alcantara, E., Lopez-Gomez, F.J., Nagano, M., Kelly, P.A., Mejia, S., Morales, M.A. and De La Escalera G.M., 1994. The prolactin gene is expressed in the hypothalamic-neurohypophyseal system and the protein is processed into a 14-kDa fragment with activity like 16-kDa prolactin. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 91: 10384-10388.
- Clarke, D.L., Arey, B.J. and Linzer, D.I.H., 1993. Prolactin receptor messenger ribonucleic acid expression in the ovary during the rat estrous cycle. **Endocrinology**, 133: 2594-2603.
- Clarke, D.L. and Linzer, D.I.H., 1993. Changes in prolactin receptor expression during pregnancy in the mouse ovary. **Endocrinology**, 133: 224-232.
- Clarke, L.A., Wathes, D.C. and Jabbour, H.N., 1997. Expression and localization of prolactin receptor messenger ribonucleic acid in red deer ovary during the estrous cycle and pregnancy. **Biology of Reproduction**, 57: 865-872.
- Clement, V., Martin, P. and Barillet, F., 2006. Elaboration d'un index synthétique caprin combinant les caractères laitiers et des caractères de morphologie mammaire. In: **Proc. 13th Renc Rech Rum**, 209-212, Paris.
- Clements, J., Whitfeld, P., Cooke, N., Healy, D., Matheson, B., Shine, J. and Funder, J., 1983. Expression of the prolactin gene in human deciduachorion. **Endocrinology**, 112: 1133-1134.
- Clevenger, C.V., Torigoe, T. and Reed, J.C., 1994. Prolactin induces rapid phosphorylation and activation of prolactin receptor-associated RAF-1 kinase in a T-cell line. **Journal of Biological Chemistry**, 269: 5559-5565.
- Clevenger, C.V. and Plank, T.L., 1997. Prolactin as an autocrine/paracrine factor in breast tissue. **Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia**, 2: 59-68.
- Cohen, L.E., Wondisford, F.E. and Radovick, S., 1996. Role of Pit-1 in the gene expression of growth hormone, prolactin, and thyrotropin. **Endocrinology and Metabolism Clinics of North America**, 25 (3): 523-539.
- Cohen, L.E. and Radovick, S., 2002. Molecular basis of combined pituitary hormone deficiencies. **Endocrine Reviews**, 23: 431-442.
- Cohick, C.B., Dai, G.L., Xu, L., Deb, S., Kamei, T., Levan, G., Szpirer, C., Szpirer, J., Kwok, S.C.M. and Soares, M.J., 1996. Placental lactogen-I variant utilizes the prolactin receptor signaling pathway. **Molecular and Cellular Endocrinology**, 116: 49-58.
- Conliffe, P.R., Farmerie, W.G., Charles, G.D., Buhi, W.C., Kelly, P.A., Simmen, R.C.M. and Shiverick, K.T., 1994. Expression and characterization of recombinant rat placental prolactin-like protein C. **Molecular and Cellular Endocrinology**, 106: 121-130.
- Collins, D.W. and Jukes, T.H., 1994. Rates of transition and transversion in coding sequences since the human-rodent divergence. **Genomics**, 20 (3): 386-396.
- Cooke, N.E., Coit, D., Weiner, R.I., Baxter, J.D. and Martial, J.A., 1980. Structure of cloned DNA complementary to rat prolactin messenger RNA. **Journal of Biological Chemistry**, 255: 6502-6510.

- Cooke, N.E., Coit, D., Shine, J., Baxter, J.D. and Martial, J.A., 1981. Human prolactin: cDNA structural analysis and evolutionary comparisons. **Journal of Biological Chemistry**, 256: 4007-4016.
- Corral, J.M., Padilla, J.A. and Izquierdo, M., 2010. Associations between milk protein genetic polymorphisms and milk production traits in Merino sheep breed. **Livestock Science**, 129 (1): 73-79.
- Cosenza, G., Iannaccone, M., Auzino, B., Macciotta, N.P.P., Kovitvadhi, A., Nicolae, I. and Pauciullo, A., 2018. Remarkable genetic diversity detected at river buffalo prolactin receptor (PRLR) gene and association studies with milk fatty acid composition. **Animal Genetics**, 49: 159-168.
- Cowie, A.T., Forsyth, I.A. and Hart, I.C., 1980. Hormonal control of lactation. **Monographs on Endocrinology**, 1-275.
- Crew, M.D. and Spindler, S.R., 1986. Thyroid hormone regulation of the transfected rat growth hormone promoter. **Journal of Biological Chemistry**, 261: 5018-5022.
- Crumeayrolle-Arias, M., Latouche, J., Jammes, H., Djiane, J., Kelly, P.A., Reymond, M.J. and Haour, F., 1993. Prolactin receptors in the rat hypothalamus: autoradiographic localization and characterization. **Neuroendocrinology**, 57: 457-466.
- Cseke, L.J., Kaufman, P.B., Podila, G.K. and Tsai, C.J., 2004. **Handbook of Molecular and Cellular Methods in Biology and Medicine**. CRC Press, 2nd edition, Boca Raton, USA.
- Cui, S.Q., Li, J.H., Cui, W.G. and Bao, J., 2007. Preliminary study on the relationship between sow maternal behaviour during early lactation and polymorphism of PRLR gene. **Hereditas**, 29 (1): 47-51.
- Çıkın, A. ve Kaymakçı, M., 2005. Anadolu Kültüründe Keçi Deseni. **Süt Keçiciliği Ulusal Kongresi Bildiriler Kitabı**, 25-27 Mayıs, İzmir.
- Daga, C., Paludo, M., Luridiana, S., Mura, M.S., Bodano, S., Pazzola, M., Dettori, M.L., Vacca, G.M. and Carcangiu, V., 2013. Identification of novel SNPs in the Sarda breed goats POU1F1 gene and their association with milk productive performance. **Molecular Biology Reports**, 40: 2829-2835.
- Dagong, M.I.A., Rahim, L., Bugiwati, S.R.A. and Prahesti, K.I., 2016. Genetic polymorphisms of pituitary-specific transcription factor-1 (Pit-1) gene from Indonesian local goat population reared in South Sulawesi province. **Advances in Environmental Biology**, 10 (5): 121-125.
- Darendeliler, F., Hindmarsh, P.C., Preece, M.A., Cox, L. and Brook, C.G.D., 1990. Growth hormone increases rate of pubertal maturation. **Acta Endocrinologica**, 122: 414-416.
- Dario, C., Carnicella, D. and Bufano, G., 2005. Effect of β -lactoglobulin genotypes on ovine milk composition in Altamura breed. **Archivos de Zootecnia**, 54 (1): 105-108.
- Dario, C., Carnicella, D., Dario, M. and Bufano, G., 2008. Genetic polymorphism of β -lactoglobulin gene and effect on milk composition in Leccese sheep. **Small Ruminant Research**, 74 (1): 270-273.
- Das, R. and Vonderhaar, B.K., 1995. Transduction of prolactin's (PRL) growth signal through both long and short forms of the PRL receptor. **Molecular Endocrinology**, 9: 1750-1759.
- Das, R. and Vonderhaar, B.K., 1996. Activation of raf-1, MEK and MAP kinase in prolactin responsive mammary cells. **Breast Cancer Research and Treatment**, 40: 141-149.

- Davidson, E.H., Jacobs, H.T. and Britten, R.J., 1983. Very short repeats and coordinate induction of genes. **Nature**, 301: 468-410.
- Davis, J.A. and Linzer, D.I.H., 1989. Expression of multiple forms of the prolactin receptor. **Molecular Endocrinology**, 3: 674-680.
- Davis, S.R., Smith, J.F. and Gluckman, P.D., 1990. Effects of growth hormone injections on ovulation rate in ewes. **Reproduction, Fertility and Development**, 2: 173-178.
- De Paul, A.L., Pons, P., Aoki, A. and Torres, A.I., 1997. Heterogeneity of lactotrophs: immunocytochemical identification of functional subtypes. **Acta Histochemica**, 99: 277-289.
- De Vos, A.M., Ultsch, M., Kossiakoff, A.A., 1992. Human growth hormone and extracellular domain of its receptor: crystal structure of the complex. **Science**, 255: 306-312.
- Deb, S., Hamlin, G.P., Roby, K.F., Kwok, S.C.M. and Soares, M.J., 1993. Heterologous expression and characterization of prolactin-like protein-A: identification of serum binding proteins. **Journal of Biological Chemistry**, 268: 3298-3305.
- Demmer, J., Burdon, T.G., Djiane, J., Watson, C.J. and Clark, A.J., 1995. The proximal milk protein binding factor binding site is required for the prolactin responsiveness of the sheep β -lactoglobulin promoter in Chinese hamster ovary cells. **Molecular and Cellular Endocrinology**, 107: 113-121.
- Delhase, M., Vergani, P., Malur, A., Hooghe-Peters, E.L. and Hooghe, R.J., 1993. The transcription factor Pit-1/GHF-1 is expressed in hemopoietic and lymphoid tissues. **European Journal of Immunology**, 23: 951-955.
- Dekker, N., Cox, M., Boelens, R., Verrijzer C.P., Van Der Vliet, P.C. and Kaptein, R., 1993. Solution structure of the POU-specific DNA-binding domain of Oct-1. **Nature**, 362: 852-855.
- Dettori, M.L., Rocchigiani, A.M., Luridiana, S., Mura, M.C., Carcangiu, V., Pazzola, M. and Vacca, G.M., 2013. Growth hormone gene variability and its effects on milk traits in primiparous Sarda goats. **Journal of Dairy Research**, 80: 255-262.
- Dettori, M.L., Pazzola, M., Pira, E., Puggioni, O. and Vacca, G.M., 2015. Variability of the caprine whey protein genes and their association with milk yield, composition and renneting properties in the Sarda breed: 2. The BLG gene. **Journal of Dairy Research**, 82: 442-448.
- Dettori, M.L., Pazzola, M., Paschino, P., Amills, M. and Vacca, G.M., 2018. Association between the GHR, GHRHR, and IGF1 gene polymorphisms and milk yield and quality traits in Sarda sheep. **Journal of Dairy Science**, 101 (11): 9978-9986.
- Devins, S.S., Miller, A., Herndon, B.L., O'Toole, L. and Reisz, G., 1992. Effects of dopamine on T-lymphocyte proliferative responses and serum prolactin concentrations in critically ill patients. **Critical Care Medicine**, 20: 1644-1649.
- Devito, W.J., 1988. Distribution of immunoreactive prolactin in the male and female rat brain: effects of hypophysectomy and intraventricular administration of colchicine. **Neuroendocrinology**, 47: 284-289.
- Devito, W.J., Stone, S. and Vakian, C.A., 1991. Stimulation of hypothalamic prolactin release by veratridine and angiotensin II in the female rat: effect of ovariectomy and estradiol administration. **Neuroendocrinology**, 54: 391-398.
- Devito, W.J., Avakian, C. and Stone, S., 1992a. Proteolytic modification of prolactin by the female rat brain. **Neuroendocrinology**, 56: 597-603.

- Devito, W.J., Avakian, C., Stone, S. and Ace, C.I., 1992b. Estradiol increases prolactin synthesis and prolactin messenger ribonucleic acid in selected brain regions in the hypophysectomized female rat. **Endocrinology**, 131: 2154-2160.
- Devrim, A.K. ve Kaya, N., 2004. Genetik polimorfizm ve mikrosatellitler. **Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi**, 10 (2): 215-220.
- Di, R., Yin, J., Chu, M.X., Cao, G.L., Feng, T., Fang, L. and Zhou, Z.X., 2011. DNA polymorphism of introns 1 and 2 of Prolactin Receptor gene and its association with litter size in goats. **Animal Science Papers and Reports**, 29 (4): 343-350.
- Diamond, D.J. and Goodman, H.M., 1985. Regulation of growth hormone messenger RNA synthesis by dexamethasone and triiodothyronine: transcriptional rate and mRNA stability changes in pituitary tumor cells. **Journal of Molecular Biology**, 181: 41-62.
- Diler, A. ve Turgut, T., 2016. Prolaktin reseptör (PRLR) gen ekspresyonunun süt kompozisyonuna etkisi. **Akademik Gıda Dergisi**, 14 (4): 351-355.
- Dimattia, G.E., Gellersen, B., Bohnet, H.G. and Friesen, H.G., 1988. A human B-lymphoblastoid cell line produces prolactin. **Endocrinology**, 122: 2508-2517.
- Dobner, P.R., Kawasaki, E.S., Yu, L.Y. and Bancroft, F.C., 1981. Thyroid or glucocorticoid hormone induces pre-growth hormone mRNA and its probable nuclear precursor in rat pituitary cells. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 78: 2230-2234.
- Doherty, P.C., Bartke, A., Smith, M.S. and Davis, S.L., 1985. Increased serum prolactin levels mediate the suppressive effects of ectopic pituitary grafts on copulatory behavior in male rats. **Hormones and Behavior**, 19: 111-121.
- Doğan, M. ve Kaygısız, A., 1999. Türkiye'deki İsviçre Esmer sığırlarda süt protein polimorfizmi ile süt verim özellikleri arasındaki ilişkiler. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, 23: 47-49.
- Doğru, Ü., 2015. β -lactoglobulin genetic variants in Brown-Swiss dairy cattle and their association with the milk yield and quality traits. **The Journal of Animal & Plant Sciences**, 25 (2): 595-598.
- Doosti, A., Arshi, A., Yaraghi, M. and Dayani-Nia, M., 2011. Comparative study of β -lactoglobulin gene polymorphism in Holstein and Iranian native cattle. **Journal of Cell and Animal Biology**, 5 (3): 53-55.
- Doyle, K., 1996. **The Source of Discovery: Protocols and Applications Guide**. PROMEGA, Madison, Wisconsin, USA.
- Drogemuller, C., Hamann, H. and Distl, O., 2001. Candidate gene markers for litter size in different German pig lines. **Journal of Animal Science**, 79: 2565-2570.
- Du, X.H., Li, C.Y., Liu, J.Y., Niu, W.H. and Zhang, X.Q., 2013. Polymorphism of chicken prolactin receptor gene and its association with broodiness and egg reproduction traits. **Scientia Agricultura Sinica**, 46 (12): 2558-2565.
- Duan, W.R., Linzer, D.I.H. and Gibori, G., 1996. Cloning and characterization of an ovarian-specific protein that associates with the short form of the prolactin receptor. **Journal of Biological Chemistry**, 271: 15602-15607.
- Duan, W.R., Parmer, T.G., Albarracin, C.T., Zhong, L. and Gibori, G., 1997. PRAP, A prolactin receptor associated protein: its gene expression and regulation in the corpus luteum. **Endocrinology**, 138: 3216-3221.
- Dudley, C.A., Jamison, T.S. and Moss, R.L., 1982. Inhibition of lordosis behaviour in the female rat by intraventricular infusion of prolactin and by chronic hyperprolactinemia. **Endocrinology**, 110: 677-679.

- Dukhin, S.S. and Derjaguin, B.V., 1974. **Surface and Colloid Science**. Academic Press, New York.
- Dunn, I.C., McEwan, G., Okhubo, T., Sharp, P.J., Paton, I.R. and Burt, D.W., 1998. Genetic mapping of chicken prolactin receptor gene: a candidate gene for the control of if broodiness. **British Poultry Science**, 39: 23-24.
- Dutt, A., Kaplitt, M.G., Kow, L.M. and Pfaff, D.W., 1994. Prolactin, central nervous system and behavior: a critical review. **Neuroendocrinology**, 59: 413-419.
- Dybus, A., 2002a. Association of growth hormone (GH) and prolactin (PRL) genes polymorphisms with milk production traits in Polish Black-and-White cattle. **Animal Science Papers and Reports**, 20 (4): 203-212.
- Dybus, A., 2002b. Association between Leu/Val polymorphism of growth hormone gene and milk production traits in Black-and-White cattle. **Archiv Tierzucht**, 5: 421-428.
- Dybus, A., Kmiec, M., Sobek, Z., Pietrzyk, W. and Wisniewski, B., 2003. Association between polymorphisms of growth hormone releasing hormone (GHRH) and pituitary transcription factor 1 (PIT1) genes and production traits of Limousine cattle. **Archiv Tierzucht**, 46 (6): 527-534.
- Eckery, D.C., Moeller, C.L., Nett, T.M. and Sawyer, H.R., 1997. Localization and quantification of binding sites for follicle-stimulating hormone, luteinizing hormone, growth hormone, and insulin-like growth factor I in sheep ovarian follicles. **Biology of Reproduction**, 57: 507-513.
- Edriss, M.A., Edriss, V. and Rahmani, H.R., 2009. Association of PIT-1 gene polymorphism with birth weight, milk and reproduction traits in Isfahan Holstein cows. **Archiv Tierzucht**, 52 (4): 445-447.
- Eker, M., 1968. Süt keçisi yetiştiriciliği. (O. Güney, Editör) In: **Keçi Yetiştiriciliğinin Bilimsel ve Teknik Esasları**. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, No: 284, Adana.
- El-Ashram, S., Nasr, I.A. and Suo, X., 2016. Nucleic acid protocols: extraction and optimisation. **Biotechnology Reports**, 12: 33-39.
- El-Hanafy, A.A., El-Saadani, M.A., Eissa, M., Maharem, G.M. and Khalifa, Z.A., 2010. Polymorphism of β -lacto Globulin gene in Barki and Damascus and their cross breed goats in relation to milk yield. **Biotechnology in Animal Husbandry**, 26 (1-2): 1-12.
- El-Hanafy, A.A.M., Qureshi, M.I., Sabir, J., Mutawakil, M., Ahmed, M.M.M., El-Ashmaoui, H., Ramadan, H.A.M.I., Abou-Alsoud, M. and Sadek, M.A., 2015. Nucleotide sequencing and DNA polymorphism studies of beta-lactoglobulin gene in native Saudi goat breeds in relation to milk yield. **Czech Journal of Animal Science**, 60 (3): 132-138.
- El-Shazly, S.A., Mahfouz, M.E., Al-Otaibi, S.A. and Ahmed, M.M., 2012. Genetic polymorphism in β -lactoglobulin gene of some sheep breeds in the Kingdom of Saudi Arabia (KSA) and its influence on milk composition. **African Journal of Biotechnology**, 11 (19): 4330-4337.
- El-Shazly, S.A., Ahmed, M.M. and Amer, S.A.M., 2017. Genetic polymorphism in some milk protein genes and its impact on milk composition of Saudi Arabian goat breeds reared in Taif region. **Romanian Biotechnological Letters**, 22 (5): 12860-12867.
- Elgin, S.C.R., 1988. The formation and function of DNAase I hypersensitive sites in the process of gene activation. **Journal of Biological Chemistry**, 263: 19259-19262.

- Ellis, L.A. and Picciano, M.F., 1995. Bioactive and immunoreactive prolactin variants in human milk. **Endocrinology**, 136: 2711-2720.
- Elmacı, C., Öner, Y. and Balcıoğlu, M.S., 2006. Genetic polymorphism of β -lactoglobulin gene in native Turkish sheep breeds. **Biochemical Genetics**, 44: 379-383.
- Elmacı, C., Öner, Y. and Koyuncu, M., 2008. Determination of β -lactoglobulin genotype using by PCR-RFLP in Saanen goats. **Animal Production**, 49 (1): 1-4.
- Elyasi, G., Shodja, J., Nassiry, M.R., Tahmasebi, A., Pirahary, O. and Javanmard, A., 2010. Polymorphism of β -lactoglobulin gene in Iranian sheep breeds using PCR-RFLP. **Journal of Molecular Genetics**, 2 (1): 6-9.
- Emanuele, N.V., Jurgens, J.K., Halloran, M.M., Tentler, J.J., Lawrence, A.M. and Kelley, M.R., 1992. The rat prolactin gene is expressed in brain tissue: detection of normal and alternatively spliced prolactin messenger RNA. **Molecular Endocrinology**, 6: 35-42.
- Erdoğan, F., 2010. Yerli gen kaynağı Çine Çaparı koyunların süt verim özellikleri ve β -laktoglobulin gen polimorfizmi. **Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi**, Aydın.
- Erlich, H.A., Gelfand D.H. and Sninsky, J.J., 1991. Recent advances in polymerase chain reaction. **Science**, 252: 1643-1650.
- Erwin, R.A., Kirken, R.A., Malabarba, M.G., Farrar, W.L. and Rui, H., 1995. Prolactin activates Ras via signaling proteins SHC, growth factor receptor bound 2, and son of sevenless. **Endocrinology**, 136: 3512-3518.
- Esch, D., Vahokoski, J., Groves, M.R., Pogenberg, V., Cojocar, V., Vom Bruch, H., Han, D., Drexler, H.C., Arauzo-Bravo, M.J. Ng, C.K.L., Jauch, R., Willmans, M. and Schöler, H.R., 2013. A unique Oct4 interface is crucial for reprogramming to pluripotency. **Nature Cell Biology**, 15: 295-301.
- Evans, R.M., Birnberg, N.C. and Rosenfeld, M.G., 1982. Glucocorticoid and thyroid hormones transcriptionally regulate growth hormone gene expression. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 79: 7659-7663.
- Falaki, M., Prandi, A., Corradini, C., Sneyers, M., Gengler, N., Massart, S., Fazzini, U., Burny, A., Portetelle, D. and Renaville, R., 1997. Relationship of growth hormone gene and milk protein polymorphisms to milk production traits in Simmental cattle. **Journal of Dairy Research**, 64: 47-56.
- Falconer, D.S. and Mackay, T.F.C., 1996. **Introduction to Quantitative Genetics**. Longman Group Ltd, 4th Edn, UK.
- Farag, I.M., Darwish, A.M., Darwish, H.R., Abdelazia, K.B., Ramadan, W.A., Mohamed, M.I. and Othman, O.E., 2016. Polymorphism of growth hormone gene and its association with wool traits in Egyptian sheep breeds. **African Journal of Biotechnology**, 15 (14): 549-556.
- Faria, D.A., Guimaraes, S.E.F., Lopes, P.S., Pires, A.V., Paiva, S.R., Sollero, B.P. and Wenceslau, A.A., 2006. Association between G316A growth hormone polymorphism and economic traits in pigs. **Genetics and Molecular Biology**, 29 (4): 634-640.
- Farrell, H.M., Bede, M.J. and Enyeart, J.A., 1987. Binding of p-nitrophenol phosphate and other aromatic compounds by β -lactoglobulin. **Journal of Dairy Science**, 70: 252-258.
- FAO, 2018. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QL>. Erişim tarihi: 18.11.2020.

- Feng, T., Chu, M.X., Cao, G.L., Tang, Q.Q., Di, R., Fang, L. and Li, N., 2012. Polymorphisms of caprine POU1F1 gene and their association with litter size in Jining Grey goats. **Molecular Biology Reports**, 39: 4029-4038.
- Ferrag, F., Chiarenza, A., Goffin, V. and Kelly, P.A., 1996. Convergence of signaling transduced by prolactin (PRL)/cytokine chimeric receptors on PRL-responsive gene transcription. **Molecular Endocrinology**, 10: 451-460.
- Ferrag, F., Pezet, A., Chiarenza, A., Buteau, H., Nelson, B.H., Goffin, V. and Kelly, P.A., 1998. Homodimerization of IL-2 receptor beta chain is necessary and sufficient to activate Jak2 and downstream signalling pathways. **FEBS Letters**, 421: 32-36.
- Finidori, J. and Kelly, P.A., 1995. Cytokine receptor signalling through two novel families of transducer molecules: Janus kinases and signal transducers and activators of transcription. **Journal of Endocrinology**, 147: 11-23.
- Filiz, E. ve Koç, İ., 2011. Bitki biyoteknolojisinde moleküler markörler. **Gaziosmanpaşa Üniversitesi ziraat Fakültesi Dergisi**, 28 (2), 207-214.
- Flower, D.R. 1996. The lipocalin protein family: structure and function. **Biochemical Journal**, 318: 1-14.
- Flug, F., Coop, R.P., Casanova, J., Horowitz, Z.D., Janocko, L., Plotnick, M. and Samuels, H.H., 1987. Cis-acting elements of the rat growth hormone gene which mediate basal and regulated expression by thyroid hormone. **Journal of Biological Chemistry**, 262: 6373-6382.
- Folch, J.M., Coll, A. and Sanchez A., 1994. Complete sequence of the caprine β -lactoglobulin gene. **Journal of Dairy Science**, 77: 3493-3497.
- Folch, J., Ramn, J.P., Cocero, M.J., Alabart, J.L., Beckers, J.F., 2001. Exogenous growth hormone improves the numbers of transferable embryos in superovulated ewes. **Theriogenology**, 55 (9): 1777-1785.
- Fontanesi, L., Calo, D.G., Galimberti, G., Negrini, R., Marino, R., Nardone, A., Ajmone-Marsan, P. and Russo, V., 2014. A candidate gene association study for nine economically important traits in Italian Holstein cattle. **Animal Genetics**, 45: 576-580.
- Ford, E.B., 1965. **Genetic Polymorphism**. Faber & Faber, London.
- Frawley, L.S. and Neill, J.D., 1984. A reverse hemolytic plaque assay for microscopic visualization of growth hormone release from individual cells: evidence for somatotrope heterogeneity. **Neuroendocrinology**, 39: 484-487.
- Frawley, L.S., Boockfor, F.R. and Hoeffler, J.P., 1985. Identification by plaque assays of a pituitary cell type that secretes both growth hormone and prolactin. **Endocrinology**, 116: 734-737.
- Frawley, L.S. and Boockfor, F.R., 1986. Focusing on hormone release. **Nature**, 321: 793-793.
- Freeman, M.E., 1994. The neuroendocrine control of the ovarian cycle of the rat. (E. Knobil and J.D. Neill, Editors) In: **The Physiology of Reproduction**, 613-658, New York, USA.
- Freeman, M.E., Kanyicska, B., Lerant, A. and Nagy, G., 2000. Prolactin: structure, function, and regulation of secretion. **Physiological Reviews**, 80 (4): 1523-1631.
- Fritsch, R.J. and Krause, I., 2003. Electrophoresis. **Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition**, 2055-2062.
- Fuh, G. and Wells, J.A., 1995. Prolactin receptor antagonists that inhibit the growth of breast cancer cell lines. **Journal of Biological Chemistry**, 270: 13133-13137.

- Gala, R.R. and Shevach, E.M., 1994. Evidence for the release of a prolactinlike substance by mouse lymphocytes and macrophages. **Proceedings of the Society for Experimental Biology**, 205: 12-19.
- Gao, J., Hughes, J.P., Auperin, B., Buteau, H., Edery, M., Zhuang, H., Wojchowski, D.M. and Horseman, N.D., 1996. Interactions among Janus kinases and the prolactin (PRL) receptor in the regulation of a PRL response element. **Molecular Endocrinology**, 10: 847-856.
- Gao, W., Lv, X.Y., Zhang, X.N., Wang, Q.Z., Musa, H.H., Xu, H.S., Hua, W.H., Liu, Q., Liu, W.Z. and Sun, W., 2015. Association between genetic polymorphism of exon 10 of prolactin receptor gene and litter size of sheep. **Journal of Science**, 5 (12): 1325-1331.
- Garcia-Vallalba, P., Au-Fliegner, M., Samuels, H. and Aranda, A., 1993. Interaction of thyroid hormone and retinoic acid receptors on the regulation of the rat growth hormone gene promoter. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 191: 580-586.
- Garlov, I.F., Kolosov, Y.A., Shirokova, N.V., Getmantseva, L.V., Slozhenkina, M.I., Mosolova, N.I., Bakoev, N.F., Leonova, M.A., Kolosov, A.Y. and Zlobina, E.Y., 2017. Association of the growth hormone gene polymorphism with growth traits in Salsk sheep breed. **Small Ruminant Research**, 150: 11-14.
- Garzon, A.I. and Martinez, J., 1992. β -lactoglobulin in Manchega sheep breed: relationship with milk technological indexes in handcraft manufacture of Manchego cheese. **XXIII International Conference on Animal Genetics**, p. 19, Interlaken.
- Ge, W., Davis, M.E., Hines, H.C., Irvin, K.M. and Simmen, C.M., 2003. Association of single nucleotide polymorphisms in the growth hormone and growth hormone receptor genes with serum insulin-like growth factor I concentration and growth traits in Angus cattle. **Journal of Animal Science**, 81: 641-648.
- Gelehrter, T.D., Collins, F.S. and Ginsburg, D., 1998. **Principles of Medical Genetics**. Lippincot Williams & Wilkins publishing, p.410, United States.
- Gellersen, B., Dimattia, G.E., Friesen, H.G. and Bohnet, H.G., 1989a. Phorbol ester stimulates prolactin release but reduces prolactin mRNA in the human B-lymphoblastoid cell line IM-9-P3. **Molecular and Cellular Endocrinology**, 66: 153-161.
- Gellersen, B., Dimattia G.E., Friesen, H.G. and Bohnet, H.G., 1989b. Regulation of prolactin secretion in the human B-lymphoblastoid cell line IM-9-P3 by dexamethasone but not other regulators of pituitary prolactin secretion. **Endocrinology**, 125: 2853-2861.
- Gellersen, B., Bonhoff, A., Hunt, N. and Bohnet, H.G., 1991. Decidual-type prolactin expression by the human myometrium. **Endocrinology**, 129: 158-168.
- Getmantseva, L., Kolosov, A., Leonova, M., Usatov, A., Bakoev, F., Klimenko, A. and Bakoev, S., 2017. Effect of polymorphisms in intron 1 of swine POU1F1 gene on growth and reproductive traits. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, 41: 643-647.
- Gharedaghi, L., Shahrababak, H.M. and Sadeghi, M., 2016. Identification of novel SNP in caprine β -lactoglobulin gene. **Journal of Genetics**, 95 (3): 485-490.
- Giaccone, P., Di Stasio, L., Macciotta, N.P., Portolano, B., Todaro, M. and Cappio-Borlino, A., 2000. Effect of β -lactoglobulin polymorphism on milk-related traits

- of dairy ewes analysed by a repeated measures design. **Journal of Dairy Research**, 67 (3): 443-448.
- Giesecke, K., Hamann, H., Sieme, H. and Distl, O., 2010. Evaluation of prolactin receptor (PRLR) as candidate gene for male fertility in Hanoverian Warmblood horses. **Reproduction in Domestic Animals**, 45: e124-e130.
- Gil-Puig, C., Seoane, S., Blanco, M., Macia, M., Garcia-Caballero, T., Segura, C. and Perez Fernandez, R., 2005. Pit-1 is expressed in normal and tumorous human breast and regulates GH secretion and cell proliferation. **European Journal of Immunology**, 153: 335-344.
- Gilbertson, J., Kirkwood, R.N. and Thacker, P.A., 1991. Timing of growth hormone injections and reproduction in gilts. **Canadian Journal of Animal Science**, 71: 717-723.
- Gloria, E., Regisford, C. and Katz, L.S., 1994. Effects of bromocryptine treatment on the expression of sexual behavior in male sheep (*Ovis aries*). **Journal of Animal Science**, 72: 591-597.
- Goffin, V., Martial, J.A. and Summers, N.L., 1995. Use of a model to understand prolactin and growth hormone specificities. **Protein Engineering, Design and Selection**, 8: 1215-1231.
- Goffin, V., Shiverick, K.T., Kelly, P.A. and Martial, J.A., 1996. Sequence-function relationships within the expanding family of prolactin, growth hormone, placental lactogen and related proteins in mammals. **Endocrine Reviews**, 17: 385-410.
- Goffin, V. and Kelly, P.A., 1996a. Prolactin and growth hormone receptors. **Clinical Endocrinology**, 45: 247-255.
- Goffin, V. and Kelly, P.A., 1996b. The prolactin/growth hormone receptor family: structure/function relationships. **Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia**, 2: 7-17.
- Goffin, V., Ferrag, F. and Kelly, P.A., 1998a. Molecular aspects of prolactin and growth hormone receptors. (D. LeRoith, Editor) In: **Advances in Molecular and Cellular Endocrinology**, Elsevier, p. 1-33.
- Goffin, V., Bouchard, B., Ormandy, C.J., Weimann, E., Ferrag, F., Touraine, P., Bole-Feysot, C., Maaskant, R.A., Clement-Lacroix, P., Edery, M., Binart, N. and Kelly, P.A., 1998b. Prolactin: a hormone at the crossroads of neuroimmunoendocrinology. **Annals of the New York Academy of Sciences**, 840: 498-509.
- Golander, A., Barrett, J., Hurley, T., Barry, S. and Handwerger, S., 1979. Failure of bromocriptine, dopamine, and thyrotropin-releasing hormone to affect prolactin secretion by human decidual tissue in vitro. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, 49: 787-789.
- Golander, A., Richards, R., Thrailkill, K., Capel, D., Rogers, D. and Handwerger, S., 1988. Decidual prolactin (PRL)-releasing factor stimulates the synthesis of PRL from human decidual cells. **Endocrinology**, 123: 335-339.
- Gold, D.A., Gates, R.D. and Jacobs, D.K., 2014. The early expansion and evolutionary dynamics of POU class genes. **Molecular Biology and Evolution**, 31 (12): 3136-3147.
- Golos, T.G., Durning, M., Fisher, J.M. and Fowler, P.D., 1993. Cloning of four growth hormone/chorionic somatomammotropin-related complementary deoxyribonucleic acids differentially expressed during pregnancy in the rhesus monkey placenta. **Endocrinology**, 133: 1744-1752.

- Gomez, J.M., Loir, M. and Le Gac, F., 1998. Growth hormone receptors in testis and liver during the spermatogenetic cycle in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Biology of Reproduction**, 58: 483-491.
- Gonzalez-Parra, S., Chowen, J.A., Garcia, S.L., and Argente, J., 1996. Ontogeny of pituitary transcription factor-1 (Pit-1), growth hormone (GH) and prolactin (PRL) mRNA levels in male and female rats and the differential expression of Pit-1 in lactotrophs and somatotrophs. **Journal of Neuroendocrinology**, 8: 211-225.
- Gootwine, E., Ofir, R. and Yossafi, S., 1996. Characterization of PuvII polymorphisms between the ovine growth hormone GH2-N and GH2-Z gene copies. **Animal Biotechnology**, 7: 135-143.
- Gootwine, E., Suttie, J.M., McEwan, J.C., Veenfliet, B.A., Littlejohn, R.P., Fennessy, P.E. and Montgomery, G.W., 1998. The physiological effects of natural variation in growth hormone gene copy number in ram lambs. **Domestic Animal Endocrinology**, 14: 381-390.
- Gootwine, E., 2004. Placental hormones and fetal-placental development. **Animal Reproduction Science**, 82 (83): 551-566.
- Gorbani, A., Torshizi, R.V., Bonyadi, M. and Amirina, C., 2009. A MspI PCR-RFLP within bovine growth hormone gene and its association with sperm quality traits in Iranian Holstein bulls. **African Journal of Biotechnology**, 8 (19): 4811-4816.
- Gouilleux, F., Wakao, H., Mundt, M. and Groner, B., 1994. Prolactin induces phosphorylation of Tyr694 of Stat5 (MGF), a prerequisite for DNA binding and induction of transcription. **The EMBO Journal**, 13: 4361-4369.
- Gouilleux, F., Pallard, C., Dusanter-Fourt, I., Wakao, H., Haldosen, L.A., Norstedt, G., Levy, D. and Groner, B., 1995. Prolactin, growth hormone, erythropoietin and granulocyte-macrophage colony stimulating factor induce MGF-Stat5 DNA binding activity. **The EMBO Journal**, 14: 2005-2013.
- Goupille, O., Daniel, N., Bignon, C., Jolivet, G. and Djiane, J., 1997. Prolactin signal transduction to milk protein genes: carboxy-terminal part of the prolactin receptor and its tyrosine phosphorylation are not obligatory for JAK2 and STAT5 activation. **Molecular and Cellular Endocrinology**, 127: 155-169.
- Greenwald, G.S., 1967. Further observations on the luteotropic complex in the hamster. **Arch Anat Microsc Morphol Exp**, 56: 281-291.
- Griffond, B., Deray, A., Fellmann, D., Ciofi, P., Croix, D. and Bugnon, C., 1993. Colocalization of prolactin and dynorphin-like substances in a neuronal population of the rat lateral hypothalamus. **Neuroscience Letters**, 156: 91-95.
- Griffond, B., Deray, A., Jacquemard, C., Fellmann, D. and Bugnon, C., 1994. Prolactin immunoreactive neurons of the rat lateral hypothalamus: immunocytochemical and ultrastructural studies. **Brain Research**, 635: 179-186.
- Grosdemouge, I., Bachelot, A., Lucas, A., Baran, N., Kelly, P.A. and Binart, N., 2003. Effect of deletion of the prolactin receptor on ovarian gene expression. **Reproductive Biology and Endocrinology**, 1: 12.
- Grosvenor, C.E. and Whitworth, N.S., 1976. Incorporation of rat prolactin into rat milk in vivo and in vitro. **Journal of Endocrinology**, 70: 1-9.
- Grosvenor, C.E. and Whitworth, N.S., 1983. Accumulation of prolactin by maternal milk and its transfer to circulation of neonatal rat: a review. **Endocrinology**, 17: 271-282.
- Grosvenor, C.E. and Keenan, T.W., 1992. Hormones and growth factors in milk. **Endocrine Reviews**, 14: 710-728.

- Grove, D.S., Bour, B., Kacsoh, B. and Mastro, A.M., 1991. Effect of neonatal milk-prolactin deprivation on the ontogeny of the immune system of the rat. **Endocrine Regulations**, 25: 111-119.
- Gu, Y., Soares, M.J., Srivastava, R.K. and Gibori, G., 1994. Expression of decidual prolactin-related protein in the rat decidua. **Endocrinology**, 135: 1422-1427.
- Gu, Y., Srivastava, R.K., Clarke, D.L., Linzer, D.I.H. and Gibori, G., 1996. The decidual prolactin receptor and its regulation by decidua-derived factors. **Endocrinology**, 137: 4878-4885.
- Guerra, M.J., Liste, I. and Labandeira-Garcia, J.L., 1998. Interaction between the serotonergic, dopaminergic, and glutamatergic systems in fenfluramine-induced Fos expression in striatal neurons. **Synapse**, 28: 71-82.
- Gunes, H., Grove, D.S., Bour, B., Zawilla, S. and Mastro, A.M., 1993. The expression of forms of prolactin receptors in splenocytes and thymocytes of neonatal rats: the effect of milk ingestion. **Endocrine Regulations**, 27: 193-200.
- Gül, S., Keskin, M., Göçmez, Z. and Gündüz, Z., 2016. Effects of supplemental feeding on performance of Kilis goats kept on pasture condition. **Italian Journal of Animal Science**, 15 (1): 110-115.
- Gül, S., Keskin, M., Güler, Z., Dursun, A., Gündüz, Z., Önel, S.E. Bebek, D.T., 2018. Effects of pre-milking resting on some lactation characteristics in Damascus (Shami) and Kilis goats. **Journal of Animal Production**, 59 (1): 17-24.
- Gündüz, Z., Yılmaz, O., Cemal, İ. and Biçer, O., 2015. Comparison of DNA marker technologies and SNPs applications in animal breeding programs. **7th Balkan Conference on Animal Science**, p. 94, Sarajevo, Bosnia and Herzegovina.
- Gündüz, Z., Yılmaz, O., Cemal, İ. and Biçer, O., 2016. A comparison of old and modern type DNA Marker Technologies and their impact on animal breeding programs. **Iğdır University Journal of the Institute Science and Technology**, 6 (2): 175-180.
- Güney, O., Biçer, O. and Torun, O., 1992. Fertility, prolificacy and milk production in Çukurova and Taurus dairy goats under subtropical conditions in Turkey. **Small Ruminant Research**, 3: 265-269.
- Güney, O., 2010. **Keçi Yetiştiriciliğinin Bilimsel ve Teknik Esasları**. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, No: 284, Adana.
- Günlü, A. ve Alaşahan, S., 2010. Türkiye’de keçi yetiştiriciliği ve geleceği üzerine bazı değerlendirmeler. **Veteriner Hekimler Derneği Dergisi**, 81: 15-20.
- Gürses, M. ve Bayraktar, M., 2014. Moleküler markerlerin hayvan yetiştiriciliği ve genetiğinde kullanımı. **Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi**, 28 (2): 99-106.
- Hadi, Z., Atashi, H., Dadpasand, M., Derakhshandeh, A. and Ghahramani S.M.M., 2013. The relationship between growth hormone polymorphism and growth hormone receptor genes with milk yield and reproductive performance in Holstein dairy cows. **Iranian Journal of Veterinary Research**, 16 (3): 244-248.
- Hadidi, A., Levy, L. and Podleskis, E.V., 1995. Polymerase chain reaction technology in plant pathology. (U.S. Singh and R.P. Singh, Editors). In: **Molecular Methods in Plant Pathology**, Taylor & Francis Group, 167-187, UK.
- Hajihosseini, A., Semsarnejad, A., Abollow, E., Hashrafi, F. and Negahdary, M., 2013. Effect of GH gene polymorphisms on biometric traits in Makoei sheep. **Annals of Biological Research**, 4: 351-355.

- Hambling, S.G., McAlpine, A.S. and Sawyer, L., 1992. β -Lactoglobulin. (P.F. Fox, Editor). **Advanced Dairy Chemistry**, Elsevier, 1: 141-190, London, UK.
- Han, S.H., Cho, I.C., Ko, M.S., Jeong, H.Y., Oh, H.S. and Lee S.S., 2010. Effects of POU1F1 and GH1 genotypes on carcass traits in Hanwoo cattle. **Genes & Genomics**, 32: 105-109.
- Handwerger, S., Barry, S., Markoff, E., Barrett, J. and Conn, P.M., 1983. Stimulation of the synthesis and release of decidual prolactin by a placental polypeptide. **Endocrinology**, 112: 1370-1374.
- Handwerger, S., Capel, D., Korner, G. and Richards, R., 1987. Purification of decidual prolactin-releasing factor, a placental protein that stimulates prolactin release from human decidual tissue. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 147: 452-459.
- Handwerger, S., Richards, R. and Markoff, E., 1991. Autocrine/paracrine regulation of prolactin release from human decidual cells. **Annals of the New York Academy of Sciences**, 622: 111-119.
- Hanna-Rose, W. and Hansen, U., 1996. Active repression mechanisms of eukaryotic transcription repressors. **Trends in Genetics**, 12: 229-234.
- Harlan, R.E., Shivers, B.D. and Pfaff, S.W., 1983. Midbrain microinfusions of prolactin increase the estrogen-dependent behavior, lordosis. **Science**, 219: 1451-1453.
- Harlan, R.E., Shivers, B.D., Fox, S.R., Kaplove, K.A., Schachter, B.S. and Pfaff, S.W., 1989. Distribution and partial characterization of immunoreactive prolactin in the rat brain. **Neuroendocrinology**, 49: 7-22.
- Harrison, S.C., 1991. A structural taxonomy of DNA binding domains. **Nature**, 353: 715-719.
- Harvey, S., Scanes, C.G. and Doughaday, W.H., 1995. **Growth Hormone, Basic, Clinical and Applied Aspects**, CRC Press Inc., Boca Raton, FL, USA.
- Haskins, J.T. and Moss, R.L., 1983. Differential effects of morphine, dopamine and prolactin administered iontophoretically on arcuateventromedial hypothalamic neurons. **Brain Research**, 268: 185-188.
- Hayes, H.C. and Petit, E.J., 1993. Mapping of the β -lactoglobulin gene and of an immunoglobulin M heavy chain-like sequence to homeologous cattle, sheep, and goat chromosomes. **Mammalian Genome**, 4 (4): 207-210.
- Hayes, H., Le Chalony, C., Goubin, G., Mercier, D., Payen, E.J., Bignon, C., Kohno, K., 1996. Localization of ZNF164, ZNF146, GGTA1, SOX2, PRLR and EEF2 on homeologous cattle, sheep, and goat chromosomes by fluorescent in situ hybridization and comparison with human gene map. **Cytogenetics and Cell Genetics**, 72: 342-346.
- He, C., Wang, C., Chang, Z.H., Guo, B.L. Li, R., Yue, X.P., Lan, X.Y., Chen, H. and Lei, C.Z., 2011. AGPAT6 polymorphism and its association with milk traits of dairy goats. **Genetics and Molecular Research**, 10 (4): 2747-2756.
- He, X., Chu, M.X., Qiao, L., He, J.N., Wang, P.Q., Feng, T., Di, R., Cao, G.L., Fang, L. and An, Y.F., 2012. Polymorphisms of STAT5A gene and their association with milk production traits in Holstein cows. **Molecular Biology Reports**, 39 (3): 2901-2907.
- Hediger, R., Johnson, S.E., Barendse, W., Drinkwater, R.D., Moore S.S. and Hetzel, J., 1990. Assignment of the growth hormone gene locus to 19q26-qter in cattle and to 11q25-qter in sheep by in situ hybridization. **Genomics**, 8: 171-174.

- Heidari, M., Azari, M.A., Hasani, S., Khanahmadi, A. and Zerehdaran, S., 2009. Association of genetic variants of β -lactoglobulin gene with milk production in a herd and a superior family of Holstein cattle. **Iranian Journal of Biotechnology**, 7 (4): 254-257.
- Heidari, M., Azari, M.A., Hasani, S., Khanahmadi, A. and Zerehdaran, S., 2012. Effect of polymorphic variants of GH, Pit-1, β -LG genes on milk production of Holstein cows. **Animal Genetics**, 48 (4): 417-421.
- Hernandez, N., Gonzales, J.C.M., Bracamonte, G.M.P., Rincon, A.M.S., Villalobos, N.L., Morris, S.T., Encinia, F.B., Rivas, E.O., Contreras, V.I.P. and Garcia, L.A.M., 2016. Association of polymorphisms in growth hormone and leptin candidate genes with live traits of Brahman cattle. **Genetics and Molecular Research**, 15 (3): 1-9.
- Herr, W., Sturm, R.A., Clerc, R.G., Corcoran, L.M., Baltimore, D., Sharp, P.A., Ingraham, H.A., Rosenfeld, M.G., Finney, M. and Ruvkun G., 1988. The POU domain: a large conserved region in the mammalian Pit-1, oct-1, oct-2, and *Caenorhabditis elegans* unc-86 gene products. **Genes & Development**, 2: 1513-1516.
- Herschbach, B.M. and Johnson, A.D., 1993. Transcriptional repression in eukaryotes. **Annual Review of Cell and Developmental Biology**, 9: 479-509.
- Herz, Z., Khan, I., Jayatilak, P.G. and Gibori, G., 1986. Evidence for the secretion of decidual luteotropin: a prolactin-like hormone produced by rat decidual cells. **Endocrinology**, 118: 2203-2210.
- Hill, J.P., 1993. The relationship between β -lactoglobulin phenotypes and milk composition in New Zealand dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, 76: 281-286.
- Hill, R., Canal, A., Bondioli, K., Morell, R. and Garcia, M.D., 2016. Molecular markers located on the DGAT1, CAST, and LEPR genes and their associations with milk production and fertility traits in Holstein cattle. **Genetics and Molecular Research**, 15 (1): gmr.15017794.
- Hillel, J., Dunnington, E.A. and Siegel, P.B., 1992. DNA Markers in poultry breeding and genetic analyses. **Poultry Science**, 4: 169-186.
- Hoeschele, I., 1998. Statistical techniques for detection of major genes in animal breeding data. **Theoretical and Applied Genetics**, 16: 311-319.
- Hodin, R.A., Lazar, M.A., Wintman, B.I., Darling, D.S., Koenig, R.J., Larsen, P.R., Moore, D.D. and Chin, W.W., 1989. Identification of a thyroid hormone receptor that is pituitary-specific. **Science**, 244: 76-79.
- Hong, K.Y., Wang, F., Yu, D.B. and Du, W.X., 2007. Polymorphisms in Taihu chicken of PRL, PRLR and FSH β genes and association with prophase egg production. **Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica**, 16: 11-14.
- Horseman, N.D. and Yu-Lee, L.Y., 1994. Transcriptional regulation by the helix bundle peptide hormones: growth hormone, prolactin, and hematopoietic cytokines. **Endocrine Reviews**, 15: 627-649.
- Horseman, N., Zhao, W., Montecino-Rodriguez, E., Tanaka, M., Nakashima, K., Engle, S.J., Smith, F., Markoff, E. and Dorshkind, K., 1997. Defective mammopoiesis, but normal hematopoiesis, in mice with a targeted disruption of the prolactin gene. **The EMBO Journal**, 16: 6926-6935.
- Hoseinzadeh, Z.E., Mohammadabadi, M.R., Esmailzadeh, A.K. and Khezri A., 2015. Association of PIT1 gene and milk protein percentage in Holstein cattle. **Journal of Livestock Science and Technologies**, 3 (1): 41-49.

- Hou, J.X., An, X.P., Song, Y.X., Wang, J.G., Ma, T., Han, P., Fang, F. and Cao, B.Y., 2013. Combined effects of four SNPs within goat PRLR gene on milk production traits. **Gene**, 529: 276-281.
- Hou, J.X., An, X.P., Han, P., Peng, J.Y. and Cao, B.Y., 2014a. Two missense mutations in exon 9 of caprine PRLR gene were associated with litter size. **Animal Genetics**, 46: 87-90.
- Hou, J.X., Fang, F., An, X.P., Yan, Y., Ma, T., Han, P., Meng, F.X., Song, Y.X., Wang, J.G. and Cao, B.Y., 2014b. Polymorphisms of PRLR and FOLR1 genes and association with milk production traits in goats. **Genetics and Molecular Research**, 13 (2): 2555-2562.
- Hovey, R.C., Trott, J. and Vonderhaar, B.K., 2002. Establishing a framework for the functional mammary gland: from endocrinology to morphology. **Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia**, 7: 17-38.
- Hu, Z., Zhuang, L. and Dufau, M.L., 1996. Multiple and tissue-specific promoter control of gonadal and nongonadal prolactin receptor gene expression. **Journal of Biological Chemistry**, 271: 10242-10246.
- Hu, Z., Zhuang, L., Guan, X., Meng, J. and Dufau, M.L., 1997. Steroidogenic factor-1 is an essential transcriptional activator for gonad-specific expression of promoter I of the rat prolactin receptor gene. **Journal of Biological Chemistry**, 272: 14263-14271.
- Hua, G.H., Chen, S.L., Yu, J.N., Cai, K.L., Wu, C.J., Li, Q.L., Zhang, C.Y., Liang, A.X., Han, L., Geng, L.Y., Shen, Z., Xu, D.Q. and Yang, L.G., 2009. Polymorphism of the growth hormone gene and its association with growth traits in Boer goat bucks. **Meat Science**, 81: 391-395.
- Huang, W., Maltecca, C. and Khatib, H., 2008. A proline-to-histidine mutation in POU1F1 is associated with production traits in dairy cattle. **Animal Genetics**, 39: 554-557.
- Huang, W., Mikhail, D., Bindrim, A.C. and Khatib, H., 2009. Interactions of the bovine placental lactogen and prolactin receptor genes are associated with fertility traits in cattle. **Animal**, 3 (12): 1743-1745.
- Hull, K.L. and Harvey, S., 2001. Growth hormone: roles in female reproduction. **Journal of Endocrinology**, 168: 1-23.
- Hunter, R.J., 1989. **Foundations of Colloid Science**. Oxford University Press, UK.
- Hurst, H.C., 1996. Transcription factors 1: bZip proteins. **Protein Profile**, 2 (2): 101-168.
- Ihle, J.N., Witthuhn, B.A., Quelle, F.W., Yamamoto, K., Thierfelder, W.E., Kreider, B. and Silvennoinen, O., 1994. Signalling by the cytokine receptor superfamily: Jaks and Stats. **Trends in Biochemical Sciences**, 19: 222-227.
- Ilondo, M.M., Vanderschueren-Lodeweyckx, M., Vlietnick, R., Pizarro, M., Malvaux, P., Eggermont, E. and Eeckels, R., 1982. Plasma androgens in children and adolescents. Part II. A longitudinal study in patients with hypopituitarism. **Hormone Research**, 16: 78-95.
- Imagawa, W., Yang, J., Guzman, R.C. and Nandi, S., 1994. Control of mammary gland growth and development. (E. Knobil and J.D. Neill, Editors). In: **The Physiology of Reproduction**, p. 1033-1063, New York, USA.
- Ingraham, H., Chen, R., Mangalam, H.J., Elsholtz, H.P., Flynn, S.E., Lin, C.R., Simmons, D.M., Swanson, L. and Rosenfeld, M.G., 1988. A tissue-specific transcription factor containing a homeodomain specifies a pituitary phenotype. **Cell**, 55: 519-529.

- Innis, M.A. and Gelfand, D.H., 1990. Optimization of PCRs. (M.A. Innis, D.H. Gelfand, J.J. Sninsky and T.J. White, Editors). In: **PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications**. Academic Press, p. 3-12.
- Işık, R., 2016. Saanen ırkı keçilerde POU1F1 geni polimorfizmi ve verim özellikleri ile ilişkilerinin belirlenmesi. **Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi**, İzmir.
- Işık, R., Bilgen, G., Koşum, N., Kandemir, Ç. and Taşkın, T. 2017. Polymorphism in exon 7 of β -lactoglobulin (β -LG) gene and its association with milk yield in Saanen goats. **Journal of Tekirdağ Agricultural Faculty**, 35-40.
- Iwatsuki, K., Shinozaki, M., Hattori, N., Hirasawa, K., Itagaki, S.I., Shiotaka K. and Ogawa, T., 1996. Molecular cloning and characterization of a new member of the rat placental prolactin (PRL) family, PRL-like protein D (PLP-D). **Endocrinology**, 137: 3849-3855.
- Jabbour, H.N., Critchley, H.O. and Boddy, S.C., 1998. Expression of functional prolactin receptors in nonpregnant human endometrium: janus kinase-2, signal transducer and activator of transcription-1 (STAT1), and STAT5 proteins are phosphorylated after stimulation with prolactin. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, 83: 2545–2553.
- Jacobson, E.M., Li, P., Leon-del-Rio, A., Rosenfeld, M.G. and Aggarwal, A.K., 1997. Structure of Pit-1 POU domain bound to DNA as a dimer: unexpected arrangement and flexibility. **Genes & Development**, 11 (2): 198-212.
- Jafari, Z., Ashtiani, S.R.M. and Sadeghi, M., 2014. A PCR-RFLP investigation on PROP1 gene polymorphism and its association with milk production and growth traits in Mahabadi goats. **Journal of Livestock Science and Technologies**, 2 (1): 43-48.
- Jain, A., Gour, D.S., Bisen, P.S., Dubey, P.P., Sharma, D.K., Tiwari, R.P., Gupta, N. and Kumar, D., 2012. Allele mining in β -lactoglobulin gene of *Capra hircus*. **African Journal of Biotechnology**, 11 (50): 11057-11064.
- Jauch, R., Choo, S.H., Ng, C.K.L. and Kolatkar, P.R., 2010. Crystal structure of the dimeric Oct6 (POU3f1) POU domain bound to palindromic MORE DNA. **Proteins**, 79: 674-677.
- Jayatilak, P.G. and Gibori, G., 1986. Ontogeny of prolactin receptors in rat decidual tissue: binding by a locally produced prolactin-like hormone. **Journal of Endocrinology**, 110: 115-121.
- Ji, D., Cheng, G., Li, Y., Zhang, H., Guo, H. and Cai, M., 2016. Association of polymorphisms at PRLR gene loci with litter size in Haimen goat. **Biochemistry and Molecular Biology**, 1 (2): 23-26.
- Jia, X.J., Wang, C.F., Yang, G.W., Huang, J.M. and Zhong, J.F., 2011. Polymorphism of POU1F1 gene and PRL gene and their combined effects on milk performance traits in Chinese Holstein cattle. **Hereditas**, 33 (12): 1359-1365.
- Jiang, R., Li, J., Qu, L. and Yang, N., 2004. A new single nucleotide polymorphism in the chicken pituitary-specific transcription factor (POU1F1) gene associated with growth rate. **Animal Genetics**, 35: 344-346.
- Jiang, R.S., Xu, G.Y., Zhang, X.Q. and Yang, N., 2005. Association of polymorphisms for prolactin and prolactin receptor genes with broody traits in chickens. **Poultry Science**, 84: 839-845.
- Jurcovicova, J., Day, R.N. and Macleod, R.M., 1993. Expression of prolactin in rat lymphocytes. **Neuroendocrine Immunology**, 5: 256-263.

- Jyotsana, B., Kumar, R., Kumari, R., Meena, A.S., Prince, L.L.L., Prakash, V. and Kumar, S., 2014. β -lactoglobulin gene polymorphism in Indian sheep breeds of different agro-climatic regions. **Indian Journal of Animal Sciences**, 84 (10): 1133-1136.
- Kacsoh, B., Toth, B.E., Avery, L.M., Yamamuro, Y. and Grosvenor, C.E., 1991. Molecular heterogeneity of prolactin in lactating rats and their pups: biological and immunological activities in pituitary gland, serum and milk. **Endocrine Regulations**, 25: 98-110.
- Kacsoh, B., Veress, Z., Toth, B.E., Avery, L.M. and Grosvenor, C.E., 1993. Bioactive and immunoreactive variants of prolactin in milk and serum of lactating rats and their pups. **Journal of Endocrinology**, 138: 242-257.
- Kageyama, R., Sasai, Y. and Nakanishi, S., 1991. Molecular characterization of transcription factors that bind to the cAMP responsive region of the substance P precursor gene. **Journal of Biological Chemistry**, 266: 15525-15531.
- Kahilo, K., El-Shazly, S., El-Khadrawy, A. and Fattouh, I., 2014. Genetic polymorphism in β -lactoglobulin gene of some goat breeds in Egypt and its influence on milk yield. **Life Science Journal**, 11 (10): 232-238.
- Kalra, P.S., Simpkins, J.W., Luttge, W.G. and Kalra, S.P., 1983. Effects on male sex behavior and preoptic dopamine neurons of hyperprolactinemia induced by MtTw15 pituitary tumors. **Endocrinology**, 113: 2065-2071.
- Kanuka, H., Matsuyama, S., Ohnishi, M., Matsumoto, Y., Nishihara, M. and Takahashi, M., 1997. Prolactin expresses differential effects on apoptotic cell death of luteal cells in vivo and in vitro. **Endocrine Journal**, 44: 11-22.
- Karaca, O., Cemal, İ. ve Atay, O., 1996. Hayvancılıkta kimi major genlerin aktarımı ve kullanımı. **Ege Üniversitesi Hayvancılık Kongresi**, s. 728-732, İzmir.
- Karaca, O., 1998. Ekstansif yetiştirme koşullarında yöresel sentetik koyun tipleri ve sakız ırkı koyunlarda döl verimine ilişkin kimi fenotipik ve genetik parameter tahminleri. **Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi**, Aydın.
- Karaca, O. ve Cemal, İ., 1998. Batı Anadolu koyunculuğunda genetik kaynakların korunma ve kullanımı. **Ege Bölgesi 1. Tarım Kongresi**, s. 573-582, Aydın.
- Karaca, O., Cemal, İ. ve Altın, T., 2002. Çine tipi koyunlarda batın genişliği ve kuzu yaşama gücüne ilişkin parameter tahminleri. **III. Ulusal Zootekni ve Bilim Kongresi**, Ankara.
- Karaca, O., Cemal, İ., Yılmaz, O., Yaralı, E., İnce, D. ve Ata, N., 2013. Türkiye koyunculuğunda ıslah planlaması önerileri. **8. Ulusal Zootekni Bilim Kongresi**, s. 235, Çanakkale.
- Karagöl, E., 2016. Şanlıurfa bölgesine mevsimsel göç eden keçi yetiştiricilerinin sorunları ve bu göçün orman alanlarına etkileri. **Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi**, Hatay.
- Karimi, K., Nassiri, M.T.B., Mirzadeh, K., Ashayerizadeh, A., Roushanfekr, H. and Fayyazi, J., 2009. Polymorphism of the β -lactoglobulin gene and its association with milk production traits in Iranian Najdi cattle. **Iranian Journal of Biotechnology**, 7 (2): 82-85.
- Karlı, T., Balcıoğlu, S., Şahin, E., Fidan, H.G. and Karabağ, K., 2016. Detection of β -lactoglobulin gene polymorphism of raised Hair Goats in Antalya province by using PCR-RFLP method. **VII. International Scientific Agriculture Symposium**, p. 2315-2318, Bosnia and Herzegovina.

- Kawecka, A. and Radko, A., 2011. Genetic polymorphism of β -lactoglobulin in sheep raised for milk production. **Journal of Applied Animal Research**, 39 (1): 68-71.
- Kaymakçı, M., Çıkin, A., Işın, F., Taşkın, T., Karaca, O., Tuncel, E., Ertuğrul, M., Özder, M., Güney, O., Torun, O., Emsen, H., Geren, H., Odabaşı, O. ve Sönmez, R., 2005. Türkiye küçükbaş hayvan yetiştiriciliği üzerine teknik ve ekonomik yaklaşımlar. **Ziraat Mühendisliği 6. Teknik Kongresi Bildirisi**, Ankara.
- Kaymakçı, M., Tuncel, E. ve Güney, O., 2005. Türkiye’de süt keçisi ıslah çalışmaları. **Süt Keçiciliği Ulusal Kongresi Bildiriler Kitabı**, İzmir.
- Kaymakçı, M. ve Dellal, G., 2006. Türkiye ve Dünya’da keçi yetiştiriciliği. (M. Kaymakçı, Editör). In: **Keçi Yetiştiriciliği**, İzmir İli Damızlık Koyun Keçi Yetiştiricileri Birliği Yayınları, No: 2, Bornova, İzmir.
- Kelberman, D., Rizzoti, K., Lovell-Badge, R., Robinson, I.C.A.F. and Dattani, M.T., 2009. Genetic regulation of pituitary gland development in human and mouse. **Endocrine Reviews**, 30: 790-829.
- Kelly, P.A., Bradley, C., Shiu, R.P., Meites, J., Friesen, H.G. 1974a. Prolactin binding to rat mammary tumor tissue. **Experimental Biology and Medicine**, 146: 816-819.
- Kelly, P.A., Posner, B.I., Tsushima, T., Shiu, R.P., Friesen, H.G., 1974b. Tissue distribution and ontogeny of growth hormone and prolactin receptors. (S. Raiti, Editor). **Advances in Human Growth Hormone Research**. General Printing Office, p. 567-584, Washington, USA.
- Kelly, P.A., Djiane, J., Postel-Vinay, M.C., Edery, M., 1991. The prolactin/growth hormone receptor family. **Endocrine Reviews**, 12: 235-251.
- Kerppola, T. and Curran, T., 1995. Zen and the art of Fos and Jun. **Nature**, 373: 199-200.
- Kesici, Ö., 1994. Kilis yöresinin coğrafyası. **Kilis Kültür Derneği Genel Yayın**, No:12.
- Keskin, M., 1995. Some morphological and physiological characteristics of goats reared in Hatay region. **Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi**, Hatay.
- Keskin, M., 1996. A study on some morphological and physiological characteristics reared in Hatay region. **Mustafa Kemal University Journal of Agricultural Faculty**, 1: 69-84.
- Keskin, M., 2000. Hatay bölgesinde yoğun yetiştirme koşullarında damascus keçilerinin morfolojik özellikleri ve performanslarının saptanması. **Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi**, Hatay.
- Keskin, M. ve Tüney, D., 2015. Kilis keçilerinde vücut kondüsyon puanı ve döl verimi arasındaki ilişki. **Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi**, 20 (2): 60-65.
- Keskin, M., Gül, S., Can, E. ve Gündüz, Z., 2016. Yarı entansif koşullarda yetiştirilen Şam keçileri ile Kilis x Kıl melez genotipinin süt ve döl verim özellikleri. **Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi**, 56 (1): 20-24.
- Keskin, M., Gül, S., Biçer, O. ve Gündüz, Z., 2017a. Kıl keçisi yetiştiriciliğinin organik üretim bakımından uygunluğu. **Türk Tarım-Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi**, 5 (13): 1700-1704.
- Keskin, M., Gül, S., Biçer, O. ve Daşkiran, İ., 2017b. Some reproductive, lactation and kid growth characteristics of Kilis goats under semi-intensive conditions. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, 41: 248-254.
- Keskin, M., Gül, S., Daşkiran, İ., Gündüz, Z., Biçer, O. and Behrem, S., 2018. Kilis goat breeding programme and some yield parameters in farm condition. **1st**

- International GAP Agriculture & Livestock Congress**, p.169, Şanlıurfa, Turkey.
- Kessler, C. and Manta, V., 1990. Specificity of restriction endonucleases and DNA modification methyltransferases- a review. **Gene**, 92 (1-2): 1-240.
- Khaizaran, Z.A. and Al-Razem, F., 2014. Analysis of selected milk traits in Palestinian Holstein-Friesian cattle in relation to genetic polymorphism. **Journal of Cell and Animal Biology**, 8 (5): 74-85.
- Khatami, S.R., Lazebny, O.E., Maksimenko, V.F. and Sulimova, G.E., 2005. Association of DNA polymorphisms of the growth hormone and prolactin genes with milk productivity in Yaroslavl and Black-and-White cattle. **Russian Journal of Genetics**, 41 (2): 167-173.
- Khatib, H., Huang, W., Wang, X., Tran, A.H., Bindrim, A.B., Schutzkus, V. and Monson, 2009. Single gene and gene interaction effects on fertilization and embryonic survival rates in cattle. **Journal of Dairy Science**, 92: 2238-2247.
- Kinghorn, B.P., Van-Arendonk, J.A.M. and Hetzel, J., 1994. Detection and use of major genes in animal breeding. **AgBiotech News and Information**, 6: 297-302.
- Kinney, P.R. and Gray, C.D., 1994. **SPSS for Windows**. Department of Psychology University of Aberdeen, UK.
- Klug, W.S., Cummings, M.R. and Spencer, C.A., 2005. **Concepts of Genetics**. Parson Education, Inc. publishing as Prentice Hall, 8th Edition, UK.
- Kmiec, M. and Terman, A., 2004. Polymorphism in the PRLR/AluI gene and its effect on litter size in Large White sows. **Animal Science Papers and Reports**, 22 (4): 523-528.
- Kmiec, M. and Terman, A., 2006. Association between the prolactin receptor gene polymorphism and reproductive traits of boars. **Journal of Applied Genetics**, 47 (2): 139-141.
- Kmiec, M., Polasik, D., Napierala, F. and Polasik, I., 2008. GH/HaeII and GH/MspI restriction polymorphism in a herd of Polish Large White sows. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, 7 (2): 165-169.
- Knorr, C., Moser, G. and Geldermann, H., 1997. Association of GH gene variants with performance traits in F2 generations of European wild boar, Pietran and Meishan pigs. **Animal Genetics**, 28: 124-128.
- Kobayashi, I., 2001. Behaviour of restriction-modification systems as selfish mobile elements and their impact on genome evolution. **Nucleic Acids Research**, 29 (18): 3742-3756.
- Koch, J.M., Wilinoth, T.A. and Wilson, M.E., 2010. Periconceptional growth hormone treatment alters fetal growth and development in lambs. **Journal of Animal Science**, 88: 1619-1625.
- Komisarek, J., Michalak, A. and Walendowska, A., 2011. The effects of polymorphisms in DGAT1, GH and GHR genes on reproduction and production traits in Jersey cows. **Animal Science Papers and Reports**, 29 (1): 29-36.
- Kondrashov, A.S. and Rogozin, I.B., 2004. Context of deletions and insertions in human coding sequences. **Human Mutation**, 23 (2): 177-185.
- Kontopidis, G., Holt, C. and Sawyer, L., 2004. Beta-lactoglobulin: binding properties, structure and function. **Journal of Dairy Science**, 87: 785-796.
- Kornberg, T.B., 1993. Understanding the homeodomain. **Journal of Biological Chemistry**, 268: 26813-26816.

- Kossiakoff, A.A., Somers, W., Ultsch, M., Andow, K., Muller, Y.A. and De Vos, A.M., 1994. Comparison of the intermediate complexes of human growth hormone bound to the human growth hormone and prolactin receptors. **Protein Science**, 3: 1697-1705.
- Kozanoğlu, H., 2002. Hayvan ıslahı ve genetiğinde kullanılan moleküler teknolojiler. **Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi**, İzmir.
- Krasnopiorova, N., Baltrenaite, L. and Miceikiene, I., 2012. Growth hormone gene polymorphism and its influence on milk traits in cattle breed in Lithuania. **Veterinarija Ir Zootechnika**, 58 (80): 42-46.
- Krüger, D.H. and Bickle, T.A., 1983. Bacteriophage survival: multiple mechanisms for avoiding the deoxyribonucleic acid restriction systems of their hosts. **Microbiological Reviews**, 47 (3): 345-360.
- Kumar, A., Rout, P.K. and Roy, R., 2006. Polymorphism of β -lacto globulin gene in Indian goats and its effect on milk yield. **Journal of Applied Genetics**, 47 (1): 49-53.
- Kurtz, A., Bristol, L.A., Toth, B.E., Lazar-Wesley, E., Takacs, L. and Kacsoh, B., 1993. Mammary epithelial cells of lactating rats express prolactin messenger ribonucleic acid. **Biology of Reproduction**, 48: 1095-1103.
- Kuwata, K., Hoshino, M., Forge, V., Era, S., Batt, C.A. and Goto, Y., 1999. Solution structure and dynamics of bovine beta-lactoglobulin A. **Protein Science**, 8 (11): 2541-2545.
- Kuzsa, S., Ilie, D.E., Sauer, M., Nagy, K., Patras, I. and Gavojdian, D., 2016. Genetic polymorphism of CSN2 gene in Banat White and Carpatina goats. **Acta Biochimica Polonica**, 63 (3): 577-580.
- Kvitnitskaya-Ryzhova, T., Shinkai, T., Ooka, H. and Ohtsubo, K., 1994. Immunocytochemical demonstration of prolactin interaction with choroid plexus in aging and acute hyperprolactinemia. **Mechanisms of Ageing and Development**, 76: 65-72.
- Lacroix, M.C., Devinoy, E., Servely, J.L., Puissant, C. and Kann, G., 1996. Expression of the growth hormone gene in ovine placenta: detection and cellular localization of the protein. **Endocrinology**, 137: 4886-4892.
- Lagziel, A., Lipkin, E. and Soller, M., 1996. Association between SSCP haplotypes at the bovine growth hormone gene and milk protein percentage. **Genetics**, 142: 945-951.
- Lagziel, A., Lipkin, E., Ezra, E., Soller, M. and Weller, J.I., 1999. An MspI polymorphism at the bovine growth hormone (bGH) gene is linked to a locus affecting milk protein percentage. **Animal Genetics**, 30 (4): 296-299.
- Lara, M.A.C., Gama, L.T., Bufarah G., Sereno, J.R.B., Celegato, E.M.L. and Abreu, U.P., 2002. Genetic polymorphisms at the K-Casein locus in Pantaneiro cattle. **Archivos de Zootechnia**, 51: 99-105.
- Lan, X.Y., Pan, C.Y., Chen, H., Lei, C.Z., Hua, L.S., Yang, X.B., Qiu, G.Y., Zhang R.F. and Lun Y.Z., 2007a, DdeI polymorphism in coding region of goat POU1F1 gene and its association with production traits. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, 20 (9): 1342-1348.
- Lan, X.Y., Pan, C.Y., Chen, H., Zhang, C.L., Li, J.Y., Zhao, M., Lei, C.Z., Zhang, AL. and Zhang, L., 2007b. An AluI PCR-RFLP detecting a silent allele at the goat POU1F1 locus and its association with production traits. **Small Ruminant Research**, 73: 8-12.

- Lan, X.Y., Chen, H., Pan, C.Y., Ming, L.J., Lei, C.Z., Hua, L.S., Zhang, C.L. and Hu, S.R., 2007c. Polymorphism in growth hormone gene and its association with production traits in goats. **Journal of Applied Animal Research**, 32: 55-60.
- Lan, X.Y., Shu, J.H., Chen, H., Pan, C.Y., Lei, C.Z., Wang, X., Liu, S.Q. and Zhang, Y.B., 2009a. A PstI polymorphism at 3' UTR of goat POU1F1 gene and its effect on cashmere production. **Molecular Biology Reports**, 36: 1371-1374.
- Lan, X.Y., Pan, C.Y., Li, J.Y., Guo, Y.W., Hu, S., Wang, J., Liu, Y.B., Hu, S.R., Lei, C.Z. and Chen, H., 2009b. Twelve novel SNPs of the goat POU1F1 gene and their associations with cashmere traits. **Small Ruminant Research**, 85: 116-121.
- Lan, X.Y., Li, M.J., Chen, H., Zhang, L.Z., Jing, Y.J., Wei, T.B., Ren, G., Wang, X., Fang, X.T., Zhang, C.L. and Lei, C.Z., 2009c. Analysis of caprine pituitary specific transcription factor-1 gene polymorphism in indigenous Chinese goats. **Molecular Biology Reports**, 36: 705-709.
- Lan, X.Y., Zhao, H.Y., Li, Z.J., Zhou, R., Pan, C.Y., Lei, C.Z. and Chen, H., 2013a. Exploring the novel genetic variant of PITX1 gene and its effect on milk performance in dairy goats. **Journal of Integrative Agriculture**, 12 (1): 118-126.
- Lantinga-van Leeuwen, I.S., Mol, J.A., Kooistra, H.S., Rijnberk, A., Breen, M., Renier C. and van Oost, B.A., 2000. Cloning of the canine gene encoding transcription factor Pit-1 and its exclusion as candidate gene in a canine model of pituitary dwarfism. **Mammalian Genome**, 11 (1): 31-36.
- Latchman, D.S., 1995a. **Gene Regulation-A Eukaryotic Perspective**, Chapman and Hall, 2nd Edn., p. 271, London, UK.
- Latchman D.S., 1995b. **Eukaryotic Transcription Factors**, Academic Press, 2nd Edn., New York, USA.
- Latchman, D.S., 1996. Inhibitory transcription factors. **International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, 28: 965-974.
- Latchman, D.S., 1997. Transcription factors: an overview. **International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, 29 (12): 1305-1312.
- Lebrun, J.J., Ali, S., Sofer, L., Ullrich, A. and Kelly, P.A., 1994. Prolactininduced proliferation of Nb2 cells involves tyrosine phosphorylation of the prolactin receptor and its associated tyrosine kinase JAK2. **Journal of Biological Chemistry**, 269: 14021-14026.
- Lebrun, J.J., Ali, S., Ulrich, A. and Kelly, P.A., 1995. Proline-rich sequencemediated JAK2 association to the prolactin receptor is required but not sufficient for signal transduction. **Journal of Biological Chemistry**, 270: 10664-10670.
- Lechniak, D., Machnik, G., Szydlowski, M. and Switonski, M., 1999. Growth hormone gene polymorphism and reproductive performance of AI bulls. **Theriogenology**, 52: 1145-1152.
- Lee, M.S., Ben-Rafael, Z., Meloni, F., Mastroianni, L.J. and Flickinger, G.L., 1986. Effects of prolactin on steroidogenesis by human luteinized granulosa cells. **Fertility and Sterility**, 46: 32-36.
- Lefevre, C., Imagawa, M., Dana, S., Grindlay, J., Bodner, M. and Karin, M., 1987. Tissue-specific expression of the human growth hormone gene is covered in part by the binding of a specific trans-acting factor. **The EMBO Journal**, 6: 971-981.
- Lerant, A. and Freeman, M.E., 1998. Ovarian steroids differentially regulate the expression of PRL-R in neuroendocrine dopaminergic neuron populations: a double label confocal microscopic study. **Brain Research**, 802: 141-154.

- Leung, D.W., Spencer, S.A., Cachianes, G., Hammonds, R.G., Collins, C., Henzel, W.J., Barnard, R., Waters, M.J. and Wood, W.I., 1987. Growth hormone receptor and serum binding protein: purification, cloning, and expression. **Nature**, 330: 537-543.
- Li, C.H., Dixon, J.S., Lo, T.B., Pankov, Y.M. and Schmidt, K.D., 1969 Amino acid sequence of ovine lactogenic hormone. **Nature**, 224: 695-696.
- Li, S., Crenshaw, I.E.B., Rawson, E.J., Simmons, D.M., Swanson, L.W. and Rosenfeld, M.G., 1990. Dwarf locus mutants lacking three pituitary cell types result from mutations in the POU-domain gene Pit-1. **Nature**, 347: 528-533.
- Li, Y.J., Zhang, L., Shang, L.Q., Wang, H.F., Zou, H., Zhang, H. and Ji, D.J., 2010. Genetic polymorphisms at three loci of PRLR and FSHR gene correlate with litter size in Chinese Haimen goat. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, 9 (22): 2835-2838.
- Li, G., An, X.P., Fu, M.Z., Hou, J.X., Sun, R.P., Zhu, G.Q., Wang, J.G. and Cao, B.Y., 2011a. Polymorphism of PRLR and LH β genes by SSCP marker and their association with litter size in Boer goats. **Livestock Science**, 136: 281-286.
- Li, G., An, X., Hou, J., Li, L., Han, D., Yang, M., Wang, Y., Zhu, G., Wang, J., Song, Y. and Cao, B.Y., 2011b. Study on polymerization effect of polyembryony genes by SSCP marker and family trees in Chinese goats. **Molecular Biology Reports**, 38: 739-744.
- Li, Z.J., Guo, W.J., Tian, Y.D., Han, R.L., Sun, Y.J., Xue, J., Lan, X.Y. and Chen, H., 2014. Characterisation of the genetic effects of the ADFP gene and its association with production traits in dairy goats. **Gene**, 538 (2): 244-250.
- Li, M.J., Zhang, C.M., Lan, X.Y., Fang, X.T., Lei, C.Z. and Chen, H., 2016. Analysis of POU1F1 gene DdeI polymorphism in Chinese goats. **Genetics and Molecular Research**, 15 (1): 1-6.
- Lin, C., Lin, S.C., Chang, C.P. and Rosenfeld, M.G., 1992. PIT-1 dependent expression of the receptor for growth hormone releasing factor mediates pituitary cell growth. **Nature**, 360: 765-767.
- Lin, C.Y., Sabour, M.P. and Lee, A.J., 1992. Direct typing to milk proteins as an aid for genetic improvement of dairy bulls and cows. **Animal Breeding Abstracts**, 60: 1-10.
- Linzer, D.I.H. and Fisher, S.J., 1999. The placenta and the prolactin family of hormones: regulation of the physiology of pregnancy. **Molecular Endocrinology**, 13: 837-840.
- Lipkin, S.M., Naar, A.M., Kalla, K.A., Sack, R.A. and Rosenfeld, M.G., 1993. Identification of a novel zinc finger protein binding a conserved element critical for Pit-1-dependent growth hormone gene expression. **Genes & Development**, 7: 1674-1687.
- Lippuner, K., Zehnder, H.J., Casez, J.P., Takkinen, R. and Jaeger P., 1996. PTH-related protein is released into the mother's bloodstream during lactation: Evidence for beneficial effects on maternal calcium-phosphate metabolism. **Journal of Bone and Mineral Research**, 11: 1394-1399.
- Liu, X., Robinson, G.W., Wagner, K.U., Garrett, L., Wynshaw-Boris, A. and Hennighausen, L., 1997. Stat5a is mandatory for adult mammary gland development and lactogenesis. **Genes & Development**, 11: 179-186.
- Liu, L.B., Li, D.Y., Zhao, X.L., Liu, Y.P., Wang, Y. and Zhu, Q., 2012. Polymorphism of prolactin receptor gene and its association with egg production traits in Erlang

- mountainous chicken. **Asian Journal of Animal and Veterinary Advances**, 7 (11): 1183-1190.
- Littlewood, T. and Evan, G., 1995. Helix-loop-helix. **Protein Profile**, 2: 621-702.
- Lkhider, M., Delpal, S. and Bousquet, M.O., 1996. Rat prolactin in serum, milk, and mammary tissue: characterization and intracellular localization. **Endocrinology**, 137: 4969-4979.
- Lkhider, M., Delpal, S., Le Provost, F. and Ollivier, M.B., 1997. Rat prolactin synthesis by lactating mammary epithelial cells. **FEBS Letters**, 401: 117-122.
- Locatelli, V., Apud, J.A., Gudelsky, G.A., Cocchi, D., Masotto, C., Casenueva, F., Racagni, G. and Muller, E.E., 1985. Prolactin in cerebrospinal fluid increases the synthesis and release of hypothalamic gamma-aminobutyric acid. **Journal of Endocrinology**, 106: 323-328.
- Lopez-Galvez, G., Ramos, M., Martin-Alvarez, P.J. and Juarez, M., 1993. Influence of milk protein polymorphism on cheese producing ability in the milk of Manchega sheep breed. In: **Cheese yield and factors affecting its control**, Int. Dairy Federation, p. 163-173, Brussels, Belgium.
- Lopez-Galvez, G., Amigo, G. and Ramos, M., 1994. Genetic polymorphism of whey proteins in two ovine breeds. **Milchwissenschaft**, 49: 123-125.
- Lopez-Galvez, G., Ramos, M., Martin-Alvarez, P.J. and Juarez, M., 1998. Influence of milk protein polymorphism on cheese producing ability in the milk of Manchega ewes breed. **Sheep Dairy News**, 15: 35-36.
- Lorens, J.B., Aasland, R., Brunstad, H., Bergh H. and Male, R., 1996. Two variants of the pituitary specific transcription factor PIT-1 in Atlantic salmon. **Journal of Molecular Endocrinology**, 17: 225-236.
- Lucas, B.K., Ormandy, C.J., Binart, N., Bridges, R.S. and Kelly, P.A., 1998. Null mutation of the prolactin receptor gene produces a defect in maternal behaviour. **Endocrinology**, 139 (10): 4102-4107.
- Lunden, A., Nilsson, M. and Janson, L., 1997. Marked effect of β -lactoglobulin polymorphism on the ratio of casein to total protein in milk. **Journal of Dairy Science**, 80: 2996-3005.
- Lucas, B.K., Ormandy, C.J., Binart, N., Bridges, R.S. and Kelly, P.A., 1998. Null mutation of the prolactin receptor gene produces a defect in maternal behavior. **Endocrinology**, 139: 4102-4107.
- Luo, X., Ikeda, Y. and Parker, K.L., 1994. A cell-specific nuclear receptor is essential for adrenal and gonadal development and sexual differentiation. **Cell**, 77: 481-490.
- Luo, G. and Yu-Lee, L., 1997. Transcriptional inhibition by Stat5. Differential activities at growth-related versus differentiation-specific promoters. **Journal of Biological Chemistry**, 272: 26841-26849.
- Luo, J., Qin, F., Deng, C., Li, F., Li, W. and Yue, X., 2019. Polymorphisms of IGF-1R gene and their association with economic traits in two indigenous Chinese dairy goat breeds. **Gene**, 695: 51-56.
- Lü, A., Hu, X., Chen, H., Dong, Y. and Pang, Y., 2011a. Single nucleotide polymorphisms of the prolactin receptor (PRLR) gene and its association with growth traits in Chinese cattle. **Molecular Biology Reports**, 38: 261-266.
- Lü, A., Hu, X., Chen, H., Dong, Y., Zhang, Y. and Wang, X., 2011b. Novel SNPs of the bovine PRLR gene associated with milk production traits. **Biochemical Genetics**, 49: 177-189.

- Lyklema, J. 1995. **Fundamentals of Interface and Colloid Science**. Academic Press, p. 786, Elsevier.
- Lymer, D., Logue, J.B., Brussaard, C.P.D., Baudoux, A.C., Vrede, K. and Lindström, E.S., 2008. Temporal variation in freshwater viral and bacterial community composition. **Freshwater Biology**, 53: 1163-1175.
- Lyons, W.R., 1958. Hormonal synergism in mammary growth. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, 149: 303-325.
- Ma, L., Qin, Q., Yang, Q., Zhang, M., Zhao, H., Pan, C., Lei, C., Chen, H. and Lan, X., 2017. Associations of six SNPs of POU1F1-PROP1-PITX1-SIX3 pathway genes with growth traits in two Chinese indigenous goat breeds. **Annals of Animal Science**, 17 (2): 399-411.
- Mackle, T.R., Bryant, A.M., Petch, S.F., Hill, J.P. and Auldist M.J., 1999. Nutritional influences on the composition of milk from cows of different protein phenotypes in New Zealand. **Journal of Dairy Science**, 82: 172-180.
- Madureira, A.R., Pereira, C.I., Gomes, A.M.P., Pintado, M.E., and Malcata, F.X., 2007. Bovine whey proteins-overview on their main biological properties. **Food Research International**, 40: 1197-1211.
- Mahmood, A., Jamy, M., Saqlain, M., Shaiq, P.A., Naqvi, S.M.S. and Raja, G.K., 2016. Association of β -lactoglobulin protein isoforms with milk constituents in goat breeds. **The Journal of Animal & Plant Science**, 26 (3): 862-867.
- Majumdar, S., Irwin D.M. and Elsholtz, H.P., 1996. Selective constraints of the activation domain of transcription factor PIT-1. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 93: 10256-10261.
- Maletic, M., Aleksic, N., Vejnovic, B., Niksic, D., Kulic, M., Dukic, B. and Cirkovic, D., 2016. Polymorphism of K-casein and β -lactoglobulin genes in Busha and Holstein Friesian dairy cows in Serbia. **Mljekarstvo**, 66 (3): 198-205.
- Malveiro, E., Pereira, M., Marques, P.X., Santos, I.C., Belo, C., Renaville, R. and Cravador, A., 2001. Polymorphisms at five exons of the growth hormone gene in the Algarvia goat: possible association with milk traits. **Small Ruminant Research**, 41: 163-170.
- Malven, P.V. and Sawyer, C.H., 1966. A luteolytic action of prolactin in hypophysectomized rats. **Endocrinology**, 79: 268-274.
- Mangalam, H.J., Albert, V.R., Ingraham, H.A., Kapiloff, M., Wilson, L., Nelson, C., Elsholtz, H. and Rosenfeld, M.G., 1989. A pituitary POU domain protein, Pit-1, activates both growth hormone and prolactin promoters transcriptionally. **Genes & Development**, 3: 946-958.
- Manjarin, R., Steibel, J.P., Kirkwood, R.N., Taylor, N.P. and Trottier, N.L., 2012. Transcript abundance of hormone receptors, mammalian target of rapamycin pathway-related kinases, insulin-like growth factor I, and milk proteins in porcine mammary tissue. **Journal of Animal Science**, 90: 221-230.
- Manjula, P., Choi, N., Seo, D. and Lee, J.H., 2018. POU class 1 homeobox 1 gene polymorphisms associated with growth traits in Korean native chicken. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, 31 (5): 643-649.
- Marle-Köster, E.V. and Nel, L.H., 2003. Genetic markers and their application in livestock breeding in South Africa. **South African Journal of Animal Science**, 33: 1-10.

- Marques, P.X., Pereira, M., Marques, M.R., Santos, I.C., Belo, C.C., Renaville, R. and Cravador, A., 2003. Association of milk traits with SSCP polymorphisms at the growth hormone gene in the Serrana goat. **Small Ruminant Research**, 50: 177-185.
- Marques, M.R., Santos, I.C., Carolino, N., Belo, C.C., Renaville, R. and Cravador, A., 2006. Effects of genetic polymorphisms at the growth hormone gene on milk yield in Serra da Estrela sheep. **Journal of Dairy Research**, 73: 394-405.
- Martial, J.A., Seeburg, P.H., Guenzi, D., Goodman, H.M. and Baxter, J.D., 1977. Regulation of growth hormone gene expression: Synergistic effects of thyroid and glucocorticoid hormones. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 74: 4293-4295.
- Martinez, H.J., Garzon, S.A., Mendez, M.D., Aparicio, R.F. and Vera, V.A., 1993. β -lactoglobulin genetic variants influence on ph, total casein and curd yield in Manchega sheep breed. **Archivos de Zootecnia**, 42: 245-252.
- Martinez-Barbera, J., Vila, V., Valdivia, M.M. and Castrillo, J.L., 1997. Molecular cloning of gilthead seabream (*Sparus aurata*) pituitary transcription factor GHF-1/PIT-1. **Gene**, 185: 87-93.
- Maslar, I.A. and Ansbacher, R., 1986. Effects of progesterone on decidual prolactin production by organ cultures of human endometrium. **Endocrinology**, 118: 2102-2108.
- Matsuyama, S., Chang, K.T., Kanuka, H., Ohnishi, M., Ikeda, A., Nishihara, M. and Takahashi, M., 1996. Occurrence of deoxyribonucleic acid fragmentation during prolactin-induced structural luteolysis in cycling rats. **Biology of Reproduction**, 54: 1245-1251.
- Mattos, K.K., Del Lama, S.N., Martinez, M.L. and Freitas, A.F., 2004. Association of bGH and Pit-1 gene variants with milk production traits in dairy Gyr bulls. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, 39 (2): 147-150.
- Maylinda, S., 2011. Genetic polymorphism of growth hormone locus and its association with bodyweight in Grati dairy cows. **International Journal for Biotechnology and Molecular Biology Research**, 2 (7): 117-120.
- McCormick, A., Brady, H., Theill, L.E. and Karin, M., 1990. Regulation of the pituitary-specific homeobox gene POU1F1 by cell-autonomous and environmental cues. **Nature**, 345: 829-832.
- McNeilly, A.S., Glasier, A., Jonassen, J. and Howie, P.W., 1982. Evidence for direct inhibition of ovarian function by prolactin. **Journal of Reproduction and Fertility**, 65: 559-569.
- McPherson, M.J. and Moller, S.G., 2000. **PCR. The Basics** Cromwell Press, p. 1-45, New York, USA.
- Meira, A.N., Montenegro, H., Coutinho, L.L., Mourao, G.B., Azevedo, H.C., Muniz, E.N., Machado, A.L., Sousa-Jr, L.P., Pedrosa, V.B. and Pinto, L.F.B., 2019. Single nucleotide polymorphisms in the growth hormone and IGF type-1 (IGF) genes associated with carcass traits in Santa Ines sheep. **Animal**, 13 (3): 460-468.
- Mele, M., Conte, G., Serra, A., Buccioni, A. and Secchiari, P., 2007. Relationship between beta-lactoglobulin polymorphism and milk fatty acid composition in milk of Massese dairy ewes. **Small Ruminant Research**, 73 (1): 37-44.
- Mercier, L., Rentier-Delrue, F., Swennen, D., Lion, M., Le Goff, P., Prunet, P. and Martial, J.A., 1989. Rainbow trout prolactin cDNA cloning in Escherichia coli. **DNA**, 8: 119-125.

- Mercier, J.C. and Vilotte, J.L., 1993. Structure and function of milk protein genes. **Journal of Dairy Science**, 76: 3079-3098.
- Mete, Ö.S., 2016. Yerli Kıl keçilerinde büyüme hormone gen polimorfizmi ve büyüme özellikleri ile ilişkisi. **Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi**, Aydın.
- Mihailov, N.V., Usatov, A.V., Getmantseva, L.V. and Bakoev, S., 2014. Association of PRLR/AluI gene polymorphism with reproductive, growth and meat quality traits in pigs. **Tsitol Genet**, 48 (5): 60-64.
- Miller, W.L., Coit, D., Baxter, J.D. and Martial, J.A., 1981. Cloning of bovine prolactin cDNA and evolutionary implications of its sequence. **DNA**, 1: 37-50.
- Miller, W.L. and Eberhardt, N.L., 1983. Structure and evolution of the growth hormone gene family. **Endocrine Reviews**, 4: 97-130.
- Miller, S.A., Dykes, D.D. and Polesky, H.F., 1988. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. **Nucleic Acids Research**, 16 (3): 1215.
- Mir, S.N., Ullah, O. and Sheikh, R., 2014. Genetic polymorphism of milk protein variants and their association studies with milk yield in Sahiwal cattle. **African Journal of Biotechnology**, 13 (4): 555-565.
- Mitchell, P.J. and Tjian, R., 1989. Transcriptional regulation in mammalian cells by sequence specific DNA binding proteins. **Science**, 245: 371-378.
- Mohammadi, Y., Aslaminejad, A.A., Nassiri, M.R. and Koshkoieh, A.E., 2013. Allelic polymorphism of K-casein, β -lactoglobulin and Leptin genes and their association with milk production traits in Iranian Holstein cattle. **Journal of Cell and Molecular Research**, 5 (2): 75-80.
- Mol, J.A., Lantinga-van Leeuwen, I., vanGarderen, E. and Rijnberk, A., 2000. Progestin-induced mammary growth hormone (GH) production. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, 480: 71-76.
- Molee, A., Poompramun, C. and Mernkrathoke, P., 2015. Effect of casein genes -beta-LGB, DGAT1, GH and LHR- on milk production and milk composition traits in crossbred Holsteins. **Genetics and Molecular Research**, 14 (1): 2561-2571.
- Moller, N. and Jorgensen, J.O., 2009. Effects of growth hormone on glucose, lipid, and protein metabolism in human subjects. **Endocrine Reviews**, 77: 152-177.
- Montgomery, D.W., Zukoski, C.T., Shah, G.N., Buckley, A.R., Pacholczyk, T. and Russell, D.H., 1987. Concanavalin A-stimulated murine splenocytes produce a factor with prolactin-like bioactivity and immunoactivity. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 145: 692-698.
- Montgomery, D.W., Lefevre, J.A., Ulrich, E.D., Adamson, C.R. and Zukoski, C.F., 1990. Identification of prolactin-like proteins synthesized by normal murine lymphocytes. **Endocrinology**, 127: 2601-2603.
- Montgomery, D.W., Shen, G.K., Ulrich, E.D., Steiner, L.L., Parrish, P.R. and Zukoski, C.F., 1992. Human thymocytes express a prolactin-like messenger ribonucleic acid and synthesize bioactive prolactin-like proteins. **Endocrinology**, 131: 3019-3026.
- Montgomery, G.W. and Sise, J.A., 1990. Extraction of DNA from Sheep White Blood Cells. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, 33: 437-441.
- Moradian, C., Mohamadi, N., Sheshdeh, S.A.R., Hajihosseini, A. and Ashrafi, F. 2013. Effects of genetic polymorphism at the growth hormone gene on growth traits in Makooei sheep. **European Journal of Experimental Biology**, 3 (3): 101-105.

- Morammazi, S., Masoudi, A.A., Torshizi, R.V. and Pakdel, A., 2016. Changes in the expression of the prolactin receptor (PRLR) gene in different physiological stages in the mammary gland of the Iranian Adani goat. **Reproduction in Domestic Animals**, 51: 585-590.
- Morishige, W.K. and Rothchild, I., 1974. Temporal aspects of the regulation of corpus luteum function by luteinizing hormone, prolactin and placental luteotrophin during the first half of pregnancy in the rat. **Endocrinology**, 95: 260-274.
- Morita, S., Matsuo, K., Tsuruta, M., Leng, S., Yamashita, S., Izumi, M. and Nagataki, S., 1990. Stimulatory effect of retinoic acid on GH gene expression: the interaction of retinoic acid and tri-iodothyronine in rat pituitary cells. **Journal of Endocrinology**, 125: 251-256.
- Mroczkowski, S., Korman, K., Erhardt, G., Piwczynski, D. and Borys, B., 2004. Sheep milk protein polymorphism and its effect on milk performance of Polish Merino. **Archiv Tierzucht**, 114-121.
- Muccioli, G. and Dicarlo, R., 1989. S-adenosyl-L-methionine restores prolactin receptors in the aged rabbit brain. **European Journal of Pharmacology**, 166: 223-230.
- Mukherjee, P., Salada, T. and Hymer, W.C., 1991. Function of prolactin cells in the individual rat pituitary gland is location dependent. **Molecular and Cellular Endocrinology**, 76: 35-44.
- Mullen, M.P., Lynch, C.O., Waters, S.M., Howard, D.J., O'Boyle, P., Kenny, D.A., Buckley, F., Horan, B. and Diskin, M.G., 2011. Single nucleotide polymorphisms in the growth hormone and insulin-like growth factor-1 genes are associated with milk production, body condition score and fertility traits in dairy cows. **Genetics and Molecular Research**, 10: 1819-1830.
- Mullis, K.B., 1990. The unusual origin of the polymerase chain reaction. **Scientific American**, 262 (4): 56-61.
- Mulloy, A.L. and Malven, P.V., 1979. Relationships between concentrations of porcine prolactin in blood serum and milk of lactating sows. **Journal of Animal Science**, 48: 876-881.
- Mulloy, A.L., Smith, T.J. and Stachura, M.E., 1992. Comparative effects of thyroxine and/or retinoic acid treatment in vivo on growth hormone synthesis and release by pituitaries from thyroidectomized rats. **Hormone and Metabolic Research**, 24: 466-470.
- Mulvihill, D.M. and Kinsella, J.E., 1987. Gelation characteristics of whey proteins and beta-lactoglobulin. **Food Technology**, 41: 102-111.
- Mura, M.C., Daga, C., Paludo, M., Luridiana, S., Pazzola, M., Bodano, S., Dettori, M.L., Vacca, G.M. and Carcangiu, V., 2012. Analysis of polymorphism within POU1F1 gene in relation to milk production traits in dairy Sarda sheep breed. **Molecular Biology Reports**, 39: 6975- 6979.
- Murakami, M., Narazaki, M., Hibi, M., Yawata, H., Yasukawa, K., Hamaguchi, M., Taga, T. and Kishimoto, T., 1991. Critical cytoplasmic region of the interleukin-6 signal transducer, gp 130, is conserved in the cytokine receptor family. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 88: 11349-11353.
- Mustafa, A., Nyberg, F., Bogdanovic, N., Islam, A., Suliman, I., Lindgren, U., Roos, P. and Adem, A., 1995. Prolactin binding sites in rat brain and liver: effects of long-term ovariectomy and ovarian steroids. **Neuroscience Letters**, 200: 179-182.

- Nagano, M., Chastre, E., Choquet, A., Bara, J., Gespach, C. and Kelly, P.A., 1995. Expression of prolactin and growth hormone receptor genes and their isoforms in the gastrointestinal tract. **American Journal of Physiology**, 268: G431-G442.
- Nakane, P.K., 1970. Classifications of anterior pituitary cell types with immunoenzyme histochemistry. **Journal of Histochemistry and Cytochemistry**, 18: 9-21.
- Neill, J.D. and Frawley, L.S., 1983. Detection of hormone release from individual cells in mixed populations using a reverse haemolytic plaque assay. **Endocrinology**, 112: 1135-1137.
- Nelson, C., Albert, V.R., Elsholtz, H.P., Lu, L.I.W. and Rosenfeld, M.G., 1988. Activation of cell-specific expression of rat growth hormone and prolactin genes by a common transcription factor. **Science**, 239: 1400-1405.
- Nemeth, E., Bole-Feysot, C. and Tashima, L.S., 1998. Suppression subtractive hybridization (SSH) identifies prolactin stimulation of p38 MAP kinase gene expression in Nb2 T lymphoma cells: molecular cloning of rat p38 MAP kinase. **Journal of Molecular Endocrinology**, 20: 151-156.
- Neville, M.C., McFadden, T.B. and Forsyth, I., 2002. Hormonal regulation of mammary differentiation and milk secretion. **Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia**, 7(1): 49-66.
- Niall, H.D., Hogan, M.L., Sauer, R., Rosenblum, I.Y. and Greenwood, F.C., 1971. Sequences of pituitary and placental lactogenic and growth hormones: evolution from a primordial peptide by gene reduplication. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 68: 866-870.
- Nica, G., Herzog, W., Sonntag, C. and Hammerschmidt, M., 2004. Zebrafish pit1 mutants lack three pituitary cell types and develop severe dwarfism. **Molecular Endocrinology**, 18 (5): 1196-1209.
- Nicholas, F.W., 1996. **Introduction to Veterinary Genetics**. Oxford University Press, UK.
- Nikolev, D.B. and Burley, S.K., 1997. RNA polymerase II transcription initiation: a structural view. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 94: 15-22.
- Nicoll, C.S., Mayer, G.L. and Russell, S.M., 1986. Structural features of prolactins and growth hormones that can be related to their biological properties. **Endocrine Reviews**, 7: 169-203.
- Nishizuka, M., Shivers, B.D., Leranth, C. and Pfaff, D.W., 1990. Ultrastructural characterization of prolactin-like immunoreactivity in rat medial basal hypothalamus. **Neuroendocrinology**, 51: 249-254.
- Niswender, G.D. and Nett, T.M., 1994. Corpus luteum and its control in infraprimates species. (E. Knobil and J.D. Neill, Editors). In: **The Physiology of Reproduction**, Raven, p.781-816, New York, USA.
- Ng-Kwai, H.K. and Grosclaude, F., 1992. Genetic polymorphism of milk proteins. (P.F. Fox, Editor). In: **Advanced Dairy Chemistry**. Elsevier, p.405-455, London, UK.
- Nohara, A., Ohmichi, M., Koike, K., Jikihara, H., Kimura, A., Masuhara, K., Ikegami, H., Inoue, M., Miyake, A. and Murata, Y., 1997. Prolactin stimulates mitogen-activated protein kinase in human leiomyoma cells. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 238: 473-477.
- Nokelainen, P., Peltoketo, H., Vihko, R. and Vihko, P., 1998. Expression cloning of a novel estrogenic mouse 17 beta-hydroxysteroid dehydrogenase/17-ketosteroid reductase (m17HSD7), previously described as a prolactin receptor-associated protein (PRAP) in rat. **Molecular Endocrinology**, 12: 1048-1059.

- Nolin, J.M. and Witorsch, R.J., 1976. Detection of endogenous immunoreactive prolactin in rat mammary epithelial cells during lactation. **Endocrinology**, 99: 949-958.
- Nudda, A., Feligini, M., Battacone, G., Macciotta, N.P.P. and Pulina, G., 2003. Effects of lactation stage, parity, beta-lactoglobulin genotype and milk SCC on whey protein composition in Sarda dairy ewes. **Italian Journal of Animal Science**, 2: 29-39.
- Numan, M., 1994. Maternal behavior. (E. Knobil and J.D. Neill, Editors). In: **The Physiology of Reproduction**, Raven, p.221-302, New York, USA.
- Ofir, R. and Gootwine, E., 1997. Ovine growth hormone gene duplication-structural and evolutionary implications. **Mammalian Genome**, 8: 770-772.
- Ogren, L. and Talamantes, F., 1998. Prolactins of pregnancy and their cellular source. **International Review of Cytology**, 112: 1-65.
- Ogurtsov, A.Y., Sunyaev, S. and Kondrashov, A.S., 2004. Indel-based evolutionary distance and mouse-human divergence. **Genome Research**, 14 (8): 1610-1616.
- Ohta, T., 1993. Pattern of nucleotide substitutions in growth hormone-prolactin gene family: a paradigm for evolution by gene duplication. **Genetics**, 134: 1271-1276.
- Ollivier, M.B., Kann, G. and Durand, G., 1993. Prolactin transit through mammary epithelial cells and appearance in milk. **Endocrine Regulations**, 27: 115-124.
- Olmeka, R., Martiniakova, M., Peskovicova, D. and Bauerova, M., 2008. Association between AluI polymorphism in the prolactin receptor gene and reproductive traits of Slovak Large White, White Meaty and Landrace pigs. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, 21 (4): 484-488.
- OMIM, 2019. <https://www.omim.org/entry/173110>. Erişim tarihi: 17.09.2019.
- Ono, M. and Takayama, Y., 1992. Structures of cDNAs encoding chum salmon pituitary-specific transcription factor, PIT-1/ GHF-1. **Gene**, 116: 275-279.
- Ormandy, C.J., Camus, A., Barra, J., Damotte, D., Lucas, B., Buteau, H., Edery, M., Brousse, N., Babinet, C., Binart, N. and Kelly, P.A., 1997. Null mutation of the prolactin receptor gene produces multiple reproductive defects in the mouse. **Genes & Development**, 11: 167-178.
- Ovesen, P., Ingerslev, J., Orskov, H. and Ledet, T., 1994. Effect of growth hormone on steroidogenesis, insulin-like growth factor-I (IGF-I) and IGF-binding protein-1 production and DNA synthesis in cultured human luteinized granulosa cells. **Journal of Endocrinology**, 140: 313-319.
- Ovesen, P., 1998. Synergistic effects of growth hormone and insulin-like growth factor-I on differentiation and replication of cultured human luteinized granulosa cells. **Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica**, 77: 487-491.
- Öner, Y., Pullu, M., Akın, O. and Elmacı, C., 2011. Investigation of Beta-Lactoglobulin (β -lg) and Bovine Growth Hormone (bGH) genes polymorphisms by using HaeIII and MspI restriction enzymes in Brown Swiss and Holstein breeds reared in Bursa region. **Journal of The Kafkas University Faculty of Veterinary Medicine**, 17 (3): 371-376.
- Öner, Y., Yılmaz, O., Okut, H., Ata, N., Mecitoğlu, G.Y. and Keskin, A., 2017. Association between GH, PRL, STAT5A, OPN, PIT-1, LEP and FGF2 polymorphisms and fertility in Holstein-Friesian heifers. **Journal of The Kafkas University Faculty of Veterinary Medicine**, 23 (4): 527-534.
- Özbeyaz, C. ve Kocakaya, A., 2011, Süt sığırlarında genomik değerlendirme. **Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi**, 51 (2): 93-104.

- Özcan, L., Pekel, E. ve Güney, O., 1974. Ç.Ü. Üniversitesinde yetiştirilen Kilis, Kıl ve GS₁ keçilerinde döl ve süt verim özellikleri üzerinde karşılaştırmalı araştırmalar. (O. Güney, Editör). In: **Keçi Yetiştiriciliğinin Bilimsel ve Teknik Esasları**, Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, No: 284, Adana.
- Özcan, L. 1989. Küçükbaş Hayvan Islahı I. In: **Keçi Yetiştirme**, Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, No: 111, Adana.
- Özdemir, M., Topal, M. and Aksakal, V., 2018. The relationships between performance traits and the bGH/AluI and Pit-1/HinFI polymorphisms in Holstein cows. **Indian Journal of Animal Research**, 52 (2): 186-191.
- Özdemir, F.H. ve Keskin, M., 2018. Kilis ve Gaziantep illerinde yetiştirilen Kilis keçilerinin bazı morfolojik ve fizyolojik özellikler bakımından karşılaştırılması. **Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi**, 23 (1): 115-123.
- Özden, A. ve Emir, F., 2006. Genetik polimorfizm ve polimorfizm çalışmaları. **Güncel Gastroenteroloji**, 24-28.
- Özder, M., 2006. Keçi Irkları. (M. Kaymakçı, Editör). In: **Keçi Yetiştiriciliği**. İzmir ili Damızlık Koyun-Keçi Yetiştiricileri Birliği Yayınları, No: 2, İzmir.
- Özmen, Ö., Kul, S. and Ünal E.Ö., 2014. Polymorphism of sheep POU1F1 gene exon 6 and 3'UTR region and their association with milk production traits. **Iranian Journal of Veterinary Research**, 15 (4): 331-335.
- Özmen, Ö. And Kul, S., 2016. Investigating the genetic polymorphism in the exon 2 region of ovine beta-lactoglobulin gene and its association with some milk traits. **Ankara University Journal of Veterinary Faculty**, 63: 323-328.
- Pagano, R.I., Pennisi, P., Valenti, B., Lanza, M., Di Trana, A., Di Gregorio, P., De Angelis, A. and Avondo, M., 2010. Effect of CSN1S1 genotype and its interaction with diet energy level on milk production and quality in Girgentana goats fed ad libitum. **Journal of Dairy Research**, 77 (2): 245-251.
- Palin, M.F., Beaudry, D. and Farmer, C., 2004. Gene expression of leptin, leptin receptor, prolactin receptor and whey acidic protein in mammary glands of late-pregnant gilts from two breed. **Canadian Journal of Animal Science**, 84: 621-629.
- Pan, C., Lan, X., Chen, H., Guo, Y., Shu, J., Lei, C. and Wang, X., 2008a. A TaqI PCR-RFLP detecting a novel SNP in exon 2 of the bovine POU1F1 gene. **Biochemical Genetics**, 46: 424-432.
- Pan, C.Y, Lan, X.Y., Chen, H., Yang, D.Y., Hua, L.S., Yang, X.B., Lei, C.Z., Guo, Y.K., Zhang, B., Zhang, C.L., Kang, X.T. and Wang, I.Q., 2008b. A DdeI PCR-RFLP detecting a novel missense mutation of the POU1F1 gene showed no effects on growth traits in cattle. **Czech Journal of Animal Science**, 53 (12): 523-527.
- Parks, J.S., Adess, M.E. and Brown, M.R., 1997. Genes regulating hypothalamic and pituitary development. **Acta Paediatrica**, 86: 28-32.
- Parker, M.G., 1993. Steroid and related receptors. **Current Opinion in Cell Biology**, 1: 512-518.
- Parmentier, I., Gengler, N., Fontaine, S., Auvray, B., Burnside, T., Portelle, D. and Renaville, R., 2001. PIT-1, a candidate gene for mass assisted selection in dairy bulls. **Journal of Dairy Science**, 84: 1-340.
- Pausch, H., Wurmser, C., Reinhardt, F., Emmerling, R. and Fries, R., 2015. Validation of 4 candidate causative trait variants in 2 cattle breeds using targeted sequence imputation. **Journal of Dairy Science**, 98: 4162-4167.

- Pawar, R.S., Tajane, K.R., Joshi, C.G., Rank, D.N. and Bramkshtri, B.P., 2007. Growth hormone gene polymorphism and its association with lactation yield in dairy cattle. **Indian Journal of Animal Science**, 77 (9): 884-888.
- Pena, R.N., Folch, J.M., Sanchez, A. and Whitelaw, C.B.A., 1998. Chromatin structures of goat and sheep β -lactoglobulin gene differ. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 252: 649-653.
- Pena, R.N., Sanchez, A. and Folch, J.M., 2000. Characterization of genetic polymorphism in the goat β -lactoglobulin gene. **Journal of Dairy Research**, 67: 217-224.
- Perez, M.D., Sanchez, L., Aranda, P., Ena, J.M., Oria, R. and Calvo, M., 1990. Synthesis and evolution of concentration of beta-lactoglobulin and alpha-lactalbumin from cow and sheep colostrum and milk through early lactation. **Cellular and Molecular Biology**, 36: 205-212.
- Perez, M.D. and Calvo, M., 1995. Interaction of beta-lactoglobulin with retinol and fatty acids and its role as a possible biological function for this protein: a review. **Journal of Dairy Science**, 78: 978-988.
- Peakall, R. and Smouse, P.E. 2012. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research--an update. **Bioinformatics**, 28 (19): 2537-2539.
- Phillips, K. and Luisi, B., 2000. The virtuoso of versatility: POU proteins that flex to fit. **Journal of Molecular Biology**, 302: 1023-1039.
- Pi, X.J. and Grattan, D.R., 1998. Distribution of prolactin receptor immunoreactivity in the brain of estrogen-treated, ovariectomized rats. **The Journal of Comparative Neurology**, 394: 462-474.
- Piacere, A., Ricordeau, G., Manfredi, E., Sigwald, J.P., Lahaye, P., Bibe, B. and Bouillon, J., 2000. From cooperative genetical research work to technological transfer into the selection schemes: the French example on genetic improvement of protein contents in milk goat. **7th International Conference on Goats**, I: 18-22, Tours, France.
- Piccoletti, R., Maroni, P., Bendinelli, P. and Bernelli-Zazzera, A., 1994. Rapid stimulation of mitogen-activated protein kinase of rat liver by prolactin. **Biochemical Journal**, 303: 429-433.
- Pingoud, A., Alves, J. and Geiger, R., 1993. Restriction Enzymes. (M. Burrell, Editor). In: **Enzymes of Molecular Biology**. Humana Press, p. 107-200, USA.
- Pinton, P., Schibler, L., Cribiu, E., Gellin, J. and Yerle, M., 2000. Localization of 113 anchor loci in pigs: improvement of the comparative map for humans, pigs, and goats. **Mammalian Genome**, 11: 306-315.
- Pfaffle, R.W., DiMattia, G.E., Parks, J., Brown, M., Wit, J.M., Jansen, M., Van Der N.H., Van Den Brande, J.L., Rosenfel, M.G. and Ingraham, H.A., 1992. Mutation of the POU-specific domain of Pit-1 and hypopituitarism without pituitary hypoplasia. **Science**, 257: 1118-1121.
- Posner, B.I., Kelly, P.A., Shiu, R.P. and Friesen, H.G., 1974. Studies of insulin, growth hormone and prolactin binding: tissue distribution, species variation and characterization. **Endocrinology**, 95: 521-531.
- Posner, B.I., Kelly, P.A. and Friesen, H.G., 1975. Prolactin receptors in rat liver: possible induction by prolactin. **Science**, 188: 57-59.
- Porter, T.E., Chapman, L.E., Van Dolah, F.M. and Frawley, L.S., 1991. Normal differentiation of prolactin cells in neonatal rats requires a maternal signal specific to early lactation. **Endocrinology**, 128: 792-796.

- Porter, T.E. and Frawley, L.S., 1991. Stimulation of prolactin cell differentiation in vitro by a milk-borne peptide. **Endocrinology**, 129: 2707-2713.
- Postel-Vinay, M.C., Belair, L., Kayser, C., Kelly, P.A. and Djiane, J., 1991. Identification of prolactin and growth hormone binding proteins in milk. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 88: 6687-6690.
- Powers, C.A., 1993. Anterior pituitary glandular kallikrein: a putative prolactin processing protease. **Molecular and Cellular Endocrinology**, 90: 15-20.
- Prager, D., Gebremedhin, S. and Melmed, S.J., 1990. An insulin-induced DNA-binding protein for the human growth hormone gene. **Journal of Clinical Investigation**, 85: 1680-1685.
- Prinzenberg, E.M. and Erhardt, G., 1999. Molecular genetic characterization of ovine β -lactoglobulin C allele and detection by PRC-RFLP. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, 116: 9-14.
- Psifidi, A., Basdagianni, Z., Dovas, C.I., Arsenos, G., Sinapis, E., Papanastassopoulou, M. and Banos, G., 2011. Characterization of the PRNP gene locus in Chios dairy sheep and its association with milk production and reproduction traits. **Animal Genetics**, 42 (4): 406-414.
- Putnova, L., Knoll, A., Dvorak, J. and Cepica, S., 2002. A new HpaII PCR-RFLP within the porcine prolactin receptor (PRLR) gene and study of its effect on litter size and number of teats. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, 119: 57-63.
- Qu, Y., Liu, Y., Ma, L., Sweeney, S., Lan, X., Chen, Z., Li, Z., Lei, C. and Chen, H., 2011. Novel SNPs of butyrophilin (BTN1A1) and milk fat globule epidermal growth factor (EGF) 8 (MFG-E8) are associated with milk traits in dairy goat. **Molecular Biology Reports**, 38 (1): 371-377.
- Quesnel, H., 1999. Localization of binding sites for IGF-I, insulin and GH in the sow ovary. **Journal of Endocrinology**, 163: 363-372.
- Radovick, S., Nations, M., Du, Y., Berg, L.A., Weintraub, B.D. and Wondisford, F.E., 1992. A mutation in the POU-homeodomain of Pit-1 responsible for combined pituitary hormone deficiency. **Science**, 257: 1115-1118.
- Ramos, A.M., Matos, C.A.P., Russo-Almeida, P.A., Bettencourt, C.M.V., Matos, J., Martins, A., Pinheiro, C. and Rangel-Figueiredo, T., 2009. Candidate genes for milk production traits in Portuguese dairy sheep. **Small Ruminant Research**, 82: 117-121.
- Rashidi, H., Mianji, G.R., Farhadi, A. and Gholizadeh, M., 2012. Association of prolactin receptor gene polymorphisms with economic traits in breeder hens of indigenous chickens of Mazandaran province. **Iranian Journal of Biotechnology**, 10 (2): 129-135.
- Ratovondrahona, D., Fournier, B., Odessa, M.F. and Dufy, B., 1998. Prolactin stimulation of phosphoinositide metabolism in CHO cells stably expressing the PRL receptor. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 243: 127-130.
- Recio, M.I., Fernandez, A.F., Alvarez, P.J.M. and Ramos, M., 1997. β -lactoglobulin polymorphism in ovine breeds: influence on cheesemaking properties and milk composition. **Le Lait**, 77 (2): 259-265.
- Reid E., 1998. **Emery's Elements of Medical Genetics**. (R.F. Mueller and I.D. Young, Editors). UK.
- Remenyi, A., Tomilin, A., Pohl, E., Lins, K., Philippsen, A., Reinbold, R., Schöler, H.R. and Wilmanns, M., 2001. Differential dimer activities of the transcription factor Oct-1 by DNA-induced interface swapping. **Molecular Cell**, 8: 569-580.

- Rempel, L.A., Nonneman, D.J., Wise, T.H., Erkens, T., Peelman, L.J. and Rohrer, G.A., 2010. Association analyses of candidate single nucleotide polymorphisms on reproductive traits in swine. **Journal of Animal Science**, 88: 1-15.
- Renaville, R., Gengler, N., Vrech, E., Prandi, A., Massart, S., Corradini, C., Bertozzi, C., Mortiaux, F., Burny, A. and Portetelle, D., 1997. Pit-1 gene polymorphism, milk yield and conformation traits for Italian Holstein-Friesian bulls. **Journal of Dairy Science**, 80: 3431-3438.
- Rentier-Delrue, F., Swennen, D., Prunet, P., Lion, M. and Martial, J.A., 1989. Tilapia prolactin: molecular cloning of two cDNAs and expression in *Escherichia coli*. **DNA**, 8: 261-270.
- Reynaud, R., Saveanu, A., Barlier, A., Enjalbert, A. and Brue, T., 2004. Pituitary hormone deficiencies due to transcription factor gene alterations. **Growth Hormone & IGF Research**, 14 (6): 442-448.
- Rhodes, D. and Klug, A., 1993. Zinc finger structure. **Scientific American**, 268: 32-39.
- Richards, J.S. and Williams, J.L., 1976. Luteal cell receptor content for prolactin (PRL) and luteinizing hormone (LH). Regulation by LH and PRL. **Endocrinology**, 99: 1571-1581.
- Richardson, D.W., Goldsmith, L.T., Pohl, C.R., Schallenberger, E. and Knobil, E., 1985. The role of prolactin in the regulation of the primate corpus luteum. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, 60: 501-504.
- Riddick, D.H., Luciano, A.A., Kusmik, W.F. and Maslar, I.A., 1978. De novo synthesis of prolactin by human decidua. **Life Sciences**, 23: 1913-1921.
- Rincon, J.C., Herrera, A.L. and Echeverri, J.J., 2013. Effect of two single nucleotide polymorphisms on milk yield and composition. **Genetics and Molecular Research**, 12 (2): 995-1004.
- Roberts, R.J., 1976. Restriction endonucleases. **Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology**, 4 (2): 123-164.
- Roberts, R.C. and Smith, C., 1982. Genes with large effect theoretical aspects in livestock breeding. **2nd World Congress on Applied Livestock Production**, 6: 420-438, Madrid, Spain.
- Robertson, M.C., Gillespie, B. and Friesen, H.G., 1982. Characterization of the two forms of rat placental lactogen (rPL): rPL-I and rPL-II. **Endocrinology**, 111: 1862-1866.
- Robertson, M.C., Cosby, H., Fresnoza, A., Cattini, P.A., Shiu, R.P.C. and Friesen, H.G., 1994. Expression, purification, and characterization of recombinant rat placental lactogen-I: a comparison with the native hormone. **Endocrinology**, 134: 393-400.
- Roeder, R.G., 1996. The role of general initiation factors in transcription by RNA polymerase II. **Trends in Biochemical Sciences**, 21: 327-334.
- Roky, R., Paut-Pagano, L., Goffin, V., Kitahama, K., Valatx, J.L., Kelly, P.A. and Jouvot, M., 1996. Distribution of prolactin receptors in the rat forebrain. Immunohistochemical study. **Neuroendocrinology**, 63: 422-429.
- Ruberg, M., Rotsztejn, W.H., Arancibia, S., Besson, J. and Enjalbert, A., 1978. Stimulation of prolactin release by vasoactive intestinal peptide (VIP). **European Journal of Pharmacology**, 51: 319-320.
- Rui, H., Djeu, J.Y., Evans, G.A., Kelly, P.A. and Farrar, W.L., 1992. Prolactin receptor triggering: evidence for rapid tyrosine kinase activation. **Journal of Biological Chemistry**, 267: 24076-24081.

- Russell, D.H., 1989. New aspects of prolactin and immunity: a lymphocyte-derived prolactin-like product and nuclear protein kinase-C activation. **Trends in Pharmacological Sciences**, 10: 40-44.
- Ryan, A. and Rosenfeld, M., 1997. POU domain family values: flexibility, partnerships, and developmental codes. **Genes & Development**, 11: 1207-1225.
- Sabharwal, P., Glaser, R., Lafuse, W., Varma, S., Liu, Q., Arkins, S., Kooijman, R., Kutz, L., Kelley, K.W. and Malarkey, W.B., 1992. Prolactin synthesized and secreted by human peripheral blood mononuclear cells: an autocrine growth factor for lymphoproliferation. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 89: 7713-7716.
- Sadeghi, M., Sarghale, A.J. and Shahrbabak, M.M., 2014. Associations of POU1F1 gene polymorphisms and protein structure changes with growth traits and blood metabolites in two Iranian sheep breeds. **Journal of Genetics**, 93: 831- 835.
- Sakaguchi, K., Tanaka, M., Ohkubo, T., Doh-Ura, K., Fujikawa, T., Sudo, S. and Nakashima, K., 1996. Induction of brain prolactin receptor longform mRNA expression and maternal behavior in pup-contacted male rats: promotion by prolactin administration and suppression by female contact. **Neuroendocrinology**, 63: 559-568.
- Sambrook, J., Fritsch, E.F. and Maniatis, T., 1989: **Molecular Cloning: A Laboratory Manual**. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, USA.
- Sambrook, J. and Russel, D.W., 2006. **Purification of Nucleic Acids by Extraction with Phenol: Chloroform**. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, USA.
- Sarghale, A.J., Shahrbabak, M.M., Shahrbabak, H.M., Sadeghi, M. and Mura M.C., 2014. Association of pituitary specific transcription factor-1 (POU1F1) gene polymorphism with growth and biometric traits and blood metabolites in Iranian Zel and Lori-Bakhtiari sheep. **Molecular Biology Reports**, 41: 5787-5792.
- Schanke, J.T., Conwell, C.M., Durning, M., Fisher, J.M. and Golos, T.G., 1997. Pit-1/Growth hormone factor 1 splice variant expression in the rhesus monkey pituitary gland and the rhesus and human placenta. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, 82 (3): 800-807.
- Schibler, L., Vaiman, D., Oustry, A., Giraud-Delville, C., Cribiu E.P. and Cribiu E.P., 1998. Comparative gene mapping: a fine-scale survey of chromosome rearrangements between ruminants and humans. **Genome Research**, 8: 901-915.
- Schuler, L.A. and Kessler, M.A., 1992. Bovine placental prolactinrelated hormones. **Trends in Endocrinology and Metabolism**, 3: 334-338.
- Schwerin, M., Brockmann, G., Vanselow, J., and Seyfert, H.M., 1995. Perspectives of molecular genome analysis in livestock improvement. **Archiv Tierzucht**, 38: 21-31.
- Secchi, C. and Borromeo, V., 1997. Structure and function of bovine growth hormone. bovine growth hormone as a experimental model for studies of protein-protein interactions. **Journal of Chromatography B**, 688: 161-177.
- Seddiki, T. and Ollivier, M.B., 1991. Temperature dependence of prolactin endocytosis and casein exocytosis in epithelial mammary cells. **European Journal of Cell Biology**, 55: 60-70.
- Shah, G.V., Shyr, S.W., Grosvenor, C.E. and Crowley, W.R., 1988. Hyperprolactinemia after neonatal prolactin (PRL) deficiency in rats: evidence for altered anterior pituitary regulation of PRL secretion. **Endocrinology**, 122: 1883-1889.

- Shamgochian, M.D., Avakian, C., Truong, N.H., Stone, S., Tang, K.T. and Devito, W.J., 1995. Regulation of prolactin receptor expression by estradiol in the female rat brain. **NeuroReport**, 6: 2537-2541.
- Sharma, S., Tiwari, M., Sharma, D., Singh, S.P., Sharma, A. and Pandey, V., 2013. The study of PIT1/POU1F1 gene polymorphism in Indian Barbari goats using PCR-RFLP methods. **Indian Veterinary Journal**, 90 (11): 15-16.
- Sharp, Z.D., 1995. Rat Pit-1 stimulates transcription in vitro by influencing preinitiation complex assembly. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 206: 40-45.
- Sharrocks, A.D., Brown, A.L., Ling, Y. and Yates, P.R., 1997. The ETS-domain transcription factor family. **International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, 29 (12): 1371-1387.
- Shi, D.S., Wang, J., Yang, Y., Lu, F.H., Li, X.P. and Liu, Q.Y., 2012. DGAT1, GH, GHR, PRL and PRLR polymorphism in Water Buffalo (*Bubalus bubalis*). **Reproduction in Domestic Animals**, 47: 328-334.
- Shirota, M., Banville, D., Ali, S., Jolicoeur, C., Boutin, J.M., Edery, M., Djiane, J. and Kelly, P.A., 1990. Expression of two forms of prolactin receptor in rat ovary and liver. **Molecular Endocrinology**, 4: 1136-1142.
- Shwab, E.K., Zhu, X.Q., Majumdar, D., Pena, H.F.J., Gennari, S.M., Dubey, J.P. and Su, C., 2014. Geographical patterns of *Toxoplasma gondii* genetic diversity revealed by multilocus PCR-RFLP genotyping. **Parasitology**, 141: 453-461.
- Shyr, S.W., Crowley, W.R. and Grosvenor, C.E., 1986. Effect of neonatal prolactin deficiency on prepubertal tuberinfundibular and tuberohypophyseal dopaminergic neuronal activity. **Endocrinology**, 119: 1217-1221.
- Siaud, P., Manzoni, O., Balmeffrezol, M., Barbanel, G., Assenmacher, I. and Alonso, G., 1989. The organization of prolactin-like-immunoreactive neurons in the rat central nervous system. Light and electronmicroscopic immunocytochemical studies. **Cell and Tissue Research**, 255: 107-115.
- Simons, J.P., McClenaghan, M. and Clark, A.J., 1987. Alteration of the quality of milk by expression of sheep beta-lactoglobulin in transgenic mice. **Nature**, 328 (6130): 530-532.
- Sinha, Y.N., 1986. Structural variants of prolactin. (F. Yoshimura and A. Gorbman, Editors). In: **Pars Distalis of the Pituitary Gland-Structure, Function and Regulation**, Elsevier Science, p. 399-412, Amsterdam.
- Sinha, Y.N., 1995. Structural variants of prolactin: Occurrence and physiological significance. **Endocrine Reviews**, 16: 354-369.
- Skrzypczak, E., Babicz, M. and Pastwa, M., 2015. Effect of prolactin receptor (PRLR), and beta-casein (CSN2) gene polymorphism on the chemical composition of milk sows. **Folia Biologica**, 63 (2): 135-144.
- Slater, E.P., Baxter, J.D. and Eberhardt, N.L., 1986. Evolution of the growth hormone gene family. **American Zoologist**, 26: 939-949.
- Snustad, D.P. and Simmons, M.J., 2011. **Principles of Genetics**. John Wiley & Sons, Inc., 6th Edition. USA.
- Snyder, J.M., Wilfinger, W.W. and Hymer, W.C., 1976. Maintenance of separated rat pituitary mammothrophs in cell culture. **Endocrinology**, 98: 25-32.
- Soares, M.J., Müller, H., Orwig, K.E., Peters, T.J. and Dai, G.L., 1998. The uteroplacental prolactin family and pregnancy. **Biology of Reproduction**, 58: 273-284.

- Sobrinho, L.G., 1993. The psychogenic effects of prolactin. **Acta Endocrinologica**, 129 (1): 38-40.
- Sodersten, P., Hansen, S. and Eneroth, P., 1983a. Evidence that prolactin does not affect the induction of sexual behavior by oestradiol and progesterone in ovariectomized rats. **Journal of Endocrinology**, 99: 181-187.
- Sodersten, P., Hansen, S. and Eneroth, P., 1983b. Inhibition of sexual behaviour in lactating rats. **Journal of Endocrinology**, 99: 189-197.
- Somers, W., Ultsch, M., De Vos, A.M. and Kossiakoff, A.A., 1994. The X-ray structure of the growth hormone-prolactin receptor complex. **Nature**, 372: 478-481.
- Song, C., Gao, B., Teng, Y., Wang, X., Wang, Z., Li, Q., Mi, H., Jing, R. and Mao, J., 2005. MspI polymorphisms in the 3rd intron of the swine POU1F1 gene and their associations with growth performance. **Journal of Applied Genetics**, 46 (3): 285-289.
- Sorensen, P. and Sheffield, L.G., 1997. Involvement of c-src in beta-casein expression by mammary epithelial cells. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 241: 710-713.
- Soysal, M.İ., 1983. Atatürk Üniversitesi koyun populasyonunun bazı kalıtsal polimorfik kan proteinleri bakımından genetik yapısı ve bu biyokimyasal karakterler ile çeşitli verim özellikleri arasındaki ilişkiler. **Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi**, Erzurum.
- Spindler, S.R., Mellon, S.H. and Baxter, J.D., 1982. Growth hormone gene transcription is regulated by thyroid and glucocorticoid hormones in cultured rat pituitary tumor cells. **Journal of Biological Chemistry**, 257: 11627-11632.
- Staiger, E.A., Thonney, M.L., Buchanan, J.W., Rogers, E.R., Oltenacu, P.A. and Mateescu, R.G., 2010. Effect of Prolactin, β -lactoglobulin and k-casein genotype on milk yield in East Friesian sheep. **Journal of Dairy Science**, 93: 1736-1742.
- Stancekova, K., Vasicek, D., Peskovicova, D., Bulla, J. and Kubek, A., 1999. Effect of genetic variability of the porcine pituitary-specific transcription factor (PIT-1) on carcass traits in pigs. **Animal Genetics**, 313-315.
- Stanhope, R., Albanese, A., Hindmarsh, P. and Brook, C.G.D., 1992. The effects of growth hormone therapy on spontaneous sexual development. **Hormone Research**, 38: 9-13.
- Stasio, L.D., Sartore, S. ve Albera, A., 2002. Lack of association of GH1 and POU1F1 gene variants with meat production traits in Piemontese cattle. **Animal Genetics**, 33: 61-64.
- Steger, R.W., Chandrashekar, V., Zhao, W., Bartke, A. and Horseman, N.D., 1998. Neuroendocrine and reproductive functions in male mice with targeted disruption of the prolactin gene. **Endocrinology**, 139: 3691-3695.
- Steinmetz, R.W., Grant, A.L. and Malven, P.V., 1993. Transcription of prolactin gene in milk secretory cells of the rat mammary gland. **Journal of Endocrinology**, 136: 271-276.
- Stoecklin, E., Wissler, M., Gouilleux, F., and Groner, B., 1996. Functional interactions between STAT5 and the glucocorticoid receptor. **Nature**, 383: 726-728.
- Stoecklin, E., Wissler, M., Moriggl, R. and Groner, B., 1997. Specific DNA binding of Stat5, but not of glucocorticoid receptor, is required for their functional cooperation in the regulation of gene transcription. **Molecular and Cellular Biology**, 17: 6708-6716.

- Struthers, R.S., Gaddy-Kurten, D. and Vale, W.W., 1992. Activin inhibits binding of transcription factor Pit-1 to the growth hormone promoter. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 89: 11451-11455.
- Suen, C.S. and Chin, W.W., 1993. Ligand-dependent, Pit-1/growth hormone factor-1 (GHF-1)-independent transcriptional stimulation of rat growth hormone gene expression by thyroid hormone receptors in vitro. **Molecular and Cellular Biology**, 13: 1719-1727.
- Sugiyama, T., Minoura, H., Kawabe, N., Tanaka, M. and Nakashima, K., 1994. Preferential expression of long form prolactin receptor mRNA in the rat brain during the oestrous cycle, pregnancy and lactation: hormones involved in its gene expression. **Journal of Endocrinology**, 141: 325-333.
- Sumantri, C., Nurhayati, D., Farajallah, A. and Anggraeni, A., 2008. Association between polymorphism of β -lactoglobulin gene on milk yield and quality in local sheep at Jonggol Animal Science Teaching and Research Unit (JASTRU). **Annales Bogorienses**, 12 (1): 17-24.
- Sumantri, C., Herdiana, D., Farajallah, A. and Rahmat, D., 2009. Keragaman gen Pituitary-Specific Transcription Factor-I lokus Pit-1-HinfI dan pengaruhnya terhadap bobot tubuh induk, dan produksi susu pada domba lokal. **Indonesian Journal of Animal and Veterinary Sciences**, 14 (3): 222-229.
- Sun, P.Q., Lou, L.M. and Maurer, R.A., 1996. Regulation of activating transcription factor-1 and the cAMP response element-binding protein by Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinases type I, II, and IV. **Journal of Biological Chemistry**, 271: 3066-3073.
- Sun, H.S., Anderson, L.L., Yu, T.P., Kim, K.S., Klindt, J. and Tuggle, C.K., 2002. Neonatal Meishan pigs show POU1F1 genotype effects on plasma GH and PRL concentration. **Animal Reproduction Science**, 69: 223-237.
- Sun, Y.X., Zeng, Y.Q., Tang, H., Fan, X.Z., Chen, Q.M., Li, H., Qian, Y. and Song, Y.P., 2009. Relationship of genetic polymorphism of PRLR and RBP4 genes with litter size traits in pig. **Hereditas**, 31 (1): 63-68.
- Şahin, E., Karslı, T., Elmacı, C., Balcıoğlu, M.S., 2011. Beta-lactoglobulin gene types in Turkish fat-tailed sheep breeds. **Journal of The Kafkas University Faculty of Veterinary Medicine**, 17 (6): 1031-1033.
- Şahin, E., 2017. Siyah Alaca ineklerin Kappa Kezein (CSN3), sığırlarında β -laktoglobulin (LGB), Prolaktin (Prl) ve DGAT1 (Diacylglycerol Acyltransferase1) gen lokusları bakımından genotipik yapılarının ve bu özellikleriyle süt verimleri arasındaki ilişkilerin saptanması. **Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi**, Antalya.
- Şengonca, M., 1974. **Keçi Yetiştiriciliği**. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, No:22, İzmir.
- Şengonca, M., 1989. Küçükbaş hayvan yetiştirme. In: **Keçi Yetiştirme**, Uludağ Üniversitesi Güçlendirme Vakfı, Yayın No: 27, Bursa.
- Tahmoorespur, M., Taheri, A., Gholami, H. and Ansary, M., 2011. PCR-SSCP variation of GH and STAT5A genes and their association with estimated breeding values of growth traits in Baluchi sheep. **Animal Biotechnology**, 22: 37-43.
- Takahashi, H., Nabeshima, Y., Ogata, K. and Takeuchi, S., 1984. Molecular cloning and nucleotide sequence of DNA complementary to human decidua prolactin mRNA. **Journal of Biochemistry**, 95: 1491-1499.

- Tanaka, M., Hosokawa, Y., Watahiki, M. and Nakashima, K., 1992. Structure of the chicken growth hormone-encoding gene and its promoter region. **Gene**, 112: 235-239.
- Tanaka, M., Yamamoto, I., Ohkubo, T., Wakita, M., Hoshino S. and Nakashima, K., 1999. cDNA cloning and developmental alterations in gene expression of the two Pit-1/GHF-1 transcription factors in the chicken pituitary. **General and Comparative Endocrinology**, 114 (3): 441-448.
- Tang, Y., Lin, C.M., Chen, T.T., Kawauchi, H., Dunham, R.A. and Powers, D.A., 1993. Structure of the channel catfish (*Ictalurus punctatus*) growth hormone gene and its evolutionary implications. **Molecular Marine Biology and Biotechnology**, 2: 198-206.
- Tatsumi, K., Notomi, T., Amino, N. and Miyai, K., 1992. Nucleotide sequence of the complementary DNA for human PIT-1/GHF-1. **Biochimica et Biophysica Acta**, 1129: 231-234.
- Tempfli, K., Farkas, G., Simon, Z. and Bali Papp, A., 2011. Effects of prolactin receptor genotype on the litter size of Mangalica. **Acta Veterinaria Hungarica**, 59 (2): 269-277.
- Telleria, C.M., Parmer, T.G., Zhong, L., Clarke, D.L., Albarracin, C.T., Duan, W.R., Linzer, D.I. and Gibori, G., 1997. The different forms of the prolactin receptor in the rat corpus luteum: developmental expression and hormonal regulation in pregnancy. **Endocrinology**, 138: 4812-4820.
- Terman, A., 2005. Effect of the polymorphism of prolactin receptor (PRLR) and leptin (LEP) genes on litter size in Polish pigs. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, 122: 400-404.
- Theill, L.E., Castrillo, J.L., Wu, D. and Karin, M., 1989. Dissection of functional domains of the pituitary-specific transcription factor GHF-1. **Nature**, 342: 945-948.
- Theill, L.E. and Karin, M., 1993. Transcriptional control of GH expression and anterior pituitary development. **Endocrine Reviews**, 14: 670-689.
- Thomas, M.G., Carroll, J.A., Raymond, S.R., Matteri, R.L. and Keisler, D.H., 2000. Transcriptional regulation of pituitary synthesis and secretion of growth hormone in growing wethers and the influence of zeranol on these mechanisms. **Domestic Animal Endocrinology**, 18: 309-324.
- Thomas, M.G., Enns, R.M., Shirley, K.L., Garcia, M.D., Garrett, A.J. and Silver, G.A., 2007. Associations of DNA polymorphisms in growth hormone and its transcriptional regulators with growth and carcass traits in two populations of Brangus bulls. **Genetics and Molecular Research**, 6 (1): 222-237.
- Thompson, S.A., 1982. Localization of immunoreactive prolactin in ependyma and circumventricular organs of rat brain. **Cell and Tissue Research**, 225: 79-93.
- Thraillkill, K.M., Golander, A., Underwood, L.E. and Handwerger, S., 1988. Insulin-like growth factor I stimulates the synthesis and release of prolactin from human decidual cells. **Endocrinology**, 123: 2930-2934.
- Thraillkill, K.M., Golander, A., Underwood, L.E., Richards, R.G. and Handwerger, S., 1989. Insulin stimulates the synthesis and release of prolactin from human decidual cells. **Endocrinology**, 124: 3010-3014.
- Thuy, N.T.D., Thu, N.T., Cuong, N.H., Ty, L.V., Nguyen, T.T.B. and Khao, D.V.A., 2018. Polymorphism of PIT-1 and Prolactin genes and their effects on milk yield in Holstein Frisian dairy cows bred in Vietnam. **Animal Genetics**, 54 (3): 346-352.

- Toft, D.J. and Linzer, D.I., 1999. Prolactin (PRL)-like protein J, a novel member of the PRL/growth hormone family, is exclusively expressed in maternal decidua. **Endocrinology**, 140: 5095-5101.
- Tolunay, A., Korkmaz, M. ve Alkan, H., 2005. Batı Anadolu Bölgesi'nin Silvopostoral sistemleri ve Kıl keçisi otlatmacılığında yeri ve önemi. **Süt Keçiciliği Ulusal Kongresi**, İzmir.
- Tomas, A., Casellas, J., Ramirez, O., Munoz, G., Noguera, J.L. and Sanchez, A., 2006. High amino acid variation in the intracellular domain of the pig prolactin receptor (PRLR) and its relation to ovulation rate and piglet survival traits. **Journal of Animal Science**, 84 (8): 1991-1998.
- Torner, L., Mejia, S., Lopez-Gomez, F.J., Quintanar, A., De La Escalera, G.M. and Clapp, C., 1995. A 14-kilodalton prolactin-like fragment is secreted by the hypothalamo-neurohypophyseal system of the rat. **Endocrinology**, 136: 5454-5460.
- Tougaard, C. and Tixier-Vidal, A., 1994. Lactotropes and gonadotropes. (E. Knobil and J. Neill, Editors). In: **The Physiology of Reproduction**, Raven, 1711-1747, New York, USA.
- Trakovicka, A., Moravcikova, N., Kasarda, R., 2013. Genetic polymorphisms of leptin and leptin receptor genes in relation with production and reproduction traits in cattle. **Acta Biochimica Polonica**, 60 (4): 783-787.
- Trakovicka, A., Moravcikova, N., Gabor, M. and Miluchova, M., 2014. Genetic polymorphism of Pit-1 gene associated with milk production traits in Holstein cattle. **Acta Agraria Kaposvariensis**, 18 (1): 146-151.
- Travers, A., 1993. **DNA-Protein Interactions**. Chapman and Hall, London, UK.
- Triantaphyllopoulos, K.A., Koutsouli, P., Kandris, A., Papachristou, D., Markopoulou, K.E., Mataragka, A., Massouras, T. and Bizelis, I., 2017. Effect of β -lactoglobulin gene polymorphism, lactation stage and breed on milk traits in Chios and Karagouniko sheep breeds. **Annals of Animal Science**, 17 (2): 371-384.
- Truong, A.T., Duez, C., Belayew, A., Renard, A., Pictet, R., Bell, G.I. and Martial, J.A., 1984. Isolation and characterization of the human prolactin gene. **The EMBO Journal**, 3: 429-437.
- Tsai, S.J., Juengel, J.L. and Wiltbank, M.C., 1997. Hormonal regulation of monocyte chemoattractant protein-1 messenger ribonucleic acid expression in corpora lutea. **Endocrinology**, 138: 4517-4520.
- Tsiaras, A.M., Bargouli, G.G., Banos, G. and Boscós, C.M., 2005. Effect of Kappa-Casein and Beta-lactoglobulin loci on milk production traits and reproductive performance of Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, 88: 327-334.
- Tucker, H.A., 1994. Lactation and its hormonal control. (E. Knobil and J.D. Neill, Editors). In: **The Physiology of Reproduction**, Raven, p.1065-1098, New York, USA.
- Tuggle, C.K., Yu, T.P., Helm, J. and Rothschild, M.F., 1993. Cloning and restriction fragment length polymorphism analysis of a cDNA for swine PIT-1, a gene controlling growth hormone expression. **Animal Genetics**, 24: 17-21.
- Tuggle, C.K. and Trenkle, A., 1996. Control of growth hormone synthesis. **Domestic Animal Endocrinology**, 13: 1-33.
- TÜİK, 2019. <http://tuik.gov.tr/Start.do>. Erişim tarihi: 18.11.2020.
- TÜİK, 2020. <http://tuik.gov.tr/Start.do>. Erişim tarihi: 18.11.2020

- Tuncel, E. ve Aşkın, Y., 1982. Saanen X Kilis melezi sütçü keçilerde erken damızlıkta kullanma olanakları. **TÜBİTAK Veteriner Hayvancılık Grubu**, Proje No: 299 Kesin Raporu, Ankara.
- Tuncel, E., Eker, M. ve Cengiz, F., 1983. Saanen ve Saanen X Kilis melezi G1 tekeler kullanarak Kilis keçilerinin ıslahı olanakları. **Doğa Bilim Dergisi, Veterinerlik ve Hayvancılık**, Seri: D1, Cilt: 7; Sayı: 2.
- Tzeng, S.J. and Linzer, D.I.H., 1997. Prolactin receptor expression in the developing mouse embryo. **Molecular Reproduction and Development**, 48: 45-52.
- Valinsky, A., Shani, M. and Gootwine, E., 1990. Restriction fragment length polymorphism in sheep at the growth hormone locus is the result of variation in gene number. **Animal Biotechnology**, 1: 135-144.
- Van Rens, B.T.T.M and Lende, T., 2002. Litter size and piglet traits of gilts with different prolactin receptor genotypes. **Theriogenology**, 57: 883-893.
- Velkeniers, B., Hooghe-Peters, E.L., Hooghe, R., Belayew, A., Smets, G., Claeys, A., Robberecht, P. and Vanhaelst, L., 1988. Prolactin cell subpopulations separated on discontinuous percoll gradient: an immunocytochemical, biochemical and physiological characterization. **Endocrinology**, 123: 1619-1630.
- Vidovic, V., Lukac, D., Nemes, Z., and Trivunovic, S., 2014. β -lactoglobulin genetic variants in Serbian Holstein-Friesian dairy cattle and their association with yield and quality of milk. **Animal Science Papers and Reports**, 32 (2): 179-182.
- Vohra, V., Dayal, S. and Bhattacharya, T.K., 2012. SSCP typing of alpha-lactalbumin and beta-lactoglobulin gene and its association with milk production and constituent traits in Indian riverine buffalo. **Indian Journal of Animal Science**, 82 (8): 884-888.
- Walawski, K. and Czarnik, U., 2003. Prion octapeptide-repeat polymorphism in Polish Black-and-White cattle. **Journal of Applied Genetics**, 44 (2): 191-195.
- Wallis, M., 1992. The expanding growth hormone/prolactin family. **Journal of Molecular Endocrinology**, 9: 185-188.
- Wallis, M., 1994. Variable evolutionary rates in the molecular evolution of mammalian growth hormones. **Journal of Molecular Evolution**, 38: 619-627.
- Wallis, M., 1996. The molecular evolution of vertebrate growth hormones: a pattern of near-stasis interrupted by sustained bursts of rapid change. **Journal of Molecular Evolution**, 43: 93-100.
- Wallis, M., Lioupis, A. and Wallis, O.C., 1998. Duplicate growth hormone genes in sheep and goat. **Journal of Molecular Endocrinology**, 21: 1-5.
- Walters, C.A., Daly, D.C., Chapitis, J., Kuslis, S.T., Prior, J.C., Kusmik, W.F. and Riddick, D.H., 1983. Human myometrium: a new potential source of prolactin. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, 147: 639-644.
- Wang, X.P., Wang, L.X., Luo Reng, Z.M. and Sun, S.D., 2008. Analysis of PRLR and BF genotypes associated with litter size in Beijing Black pig population. **Agricultural Sciences in China**, 7 (11): 1374-1378.
- Wang, J., Li, G., Elzo, M.A., Yan, L., Chen, S., Jia, X. and Lai S., 2015. A novel single nucleotide polymorphism of the POU1F1 gene associated with meat quality traits in rabbits. **Annals of Animal Science**, 15 (3): 611-620.
- Wang, L.P., Geng, R.Q., Zhang, X.N. and Sun, W., 2015. Identification of SNPs within the PRLR gene and effects on maternal behavior in sheep. **Genetics and Molecular Research**, 14 (4): 17536-17543.

- Wang, L.P., 2015. mRNA expression of prolactin receptor in sheep pituitary and its effect on maternal behavior. **Genetics and Molecular Research**, 14 (3): 8650-8657.
- Watson, C.J., Gordon, K.E., Robertson, M. and Clark A.J., 1991. Interaction of DNA-binding proteins **Nucleic Acids Research**, 19: 6603-6610.
- Watson, J.D., Gilman, M., Witkowski J. and Zoller, M., 1992. The polymerase chain reaction. In: **Recombinant DNA**. 2nd Edition, p. 79-98, New York, USA.
- Watson, J.D., Baker, T.A., Bell, S.P., Gann, A., Lecine M. and Losick, R., 2004. **Molecular Biology of the Gene**. Benjamin Cummings Press, 5th Edition, California, USA,
- Wells, J.A. and De Vos, A.M., 1996. Hematopoietic receptor complexes. **Annual Review of Biochemistry**, 65: 609-634.
- Whitelaw, C.B.A., Harris, S., McClenaghan, M., Simons, J.P. and Clark, A.J., 1992. Position-independent expression of the ovine β -lactoglobulin gene in transgenic mice. **Biochemical Journal**, 286: 31-39.
- Whitelaw, C.B.A. and Webster, J., 1998. Temporal profiles of appearance of DNase I hypersensitive sites associated with the ovine β -lactoglobulin gene differ in sheep and transgenic mice. **Molecular Genetics and Genomics**, 257: 649-654.
- Wight, P.A., Crew, D.D. and Spindler, S.R., 1988. Sequences essential for activity of the thyroid hormone responsive transcription stimulatory element of the rat growth hormone gene. **Molecular Endocrinology**, 2: 536-542.
- Wilson, D.M., Emanuele, N.V., Jurgens, J.K. and Kelley, M.R., 1992. Prolactin message in brain and pituitary of adult male rats is identical: PCR cloning and sequencing of hypothalamic prolactin cDNA from intact and hypophysectomized adult male rats. **Endocrinology**, 131: 2488-2490.
- Wit, J.N., 1998. Nutritional and functional characteristics of whey proteins in food products. **Journal of Dairy Science**, 81: 597-608.
- Witcher, J.A. and Freeman, M.E., 1985. The proestrous surge of prolactin enhances sexual receptivity in the rat. **Biology of Reproduction**, 32: 834-839.
- Wong, E.A., Silsby, J.L. and Halawani, M.E., 1992. Complementary DNA cloning and expression of Pit-1/GHF-1 from the domestic turkey. **DNA and Cell Biology**, 11 (9): 651-660.
- Woodside, B., Abizaid, A. and Walker, C., 2000. Changes in leptin levels during lactation: Implications for lactational hyperphagia and anovulation. **Hormones and Behavior**, 37: 353-365.
- Woollard, J., Tuggle, C.K. and Ponce de Leo'n, F.A., 2000. Localization of POU1F1 to bovine, ovine, and caprine 1q21–22. **Journal of Animal Science**, 78 (1): 242-243.
- Wright, A.F., 2005. Genetic variation: polymorphisms and mutations. **Encyclopedia of Life Sciences**, doi.org/10.1038/npg.els.0005005.
- Wu, X.H., Mu, X.K., Lu, J.Y., Wang, Y. and Zi, X.D., 2014. mRNA expression, polymorphism of prolactin receptor gene and their association with prolificacy in Lezhi black goats. **Journal of Applied Animal Research**, 42 (4): 414-419.
- Wuttke, W. and Meites, J., 1971. Luteolytic role of prolactin during the estrous cycle of the rat. **Experimental Biology and Medicine**, 137: 988-991.
- Xu, N.Y., Zhang, S.Q. and Peng, S.H., 2003. Investigation on the distribution and their effects on reproduction traits of three major genes in Jinhua pigs. **Acta Genetica Sinica**, 30 (12): 1090-1096.

- Xu, T.S., Liu, J.B., Yao, D.W., Cai, H.F., Chen, H., Zhou, H.L. and Lan, X.Y., 2010. The prophet of PIT-1 gene variation and its effect on growth traits in Chinese indigeous goat. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, 9 (23): 2940-2946.
- Xu, H.Y., Wang, Y., Liu, Y.P., Wang, J.W. and Zhu, Q., 2012. Polymorphisms and expression of the chicken POU1F1 gene associated with carcass traits. **Molecular Biology Reports**, 39: 8363-8371.
- Xue, K., Chen, H., Wang, S., Cai, X., Liu, B., Zhang, C.F., Lei, C.Z., Wang, X.Z., Wang, Y.M. and Niu, H., 2006. Effect of genetic variations of the POU1F1 gene on growth traits of Nanyang cattle. **Acta Genetica Sinica**, 33 (10): 901-907.
- Yaffe, B.M. and Samuels, H.H., 1984. Hormonal regulation of the growth hormone gene. Relationship of the rate of transcription to the level of nuclear thyroid hormone-receptor complexes. **Journal of Biological Chemistry**, 259: 6284-6291.
- Yalçın, B.C., 1986. Sheep and goat in Turkey. **FAO Animal Production and Health Paper**, 60: 168.
- Yamada, S., Hata, J. and Yamashita, S., 1993. Molecular cloning of fish PIT-1 cDNA and its functional binding to promoter of gene expressed in the pituitary. **Journal of Biological Chemistry**, 268: 24361-24366.
- Yamano, Y., Abe, M., Mikawa, S., Kioka, N., Manabe, E., Sakai, H., Komano, T., Utsumi, K. and Iritani, A., 1991. Structural analysis of repetitive DNA sequences in the goat growth hormone gene region. **Agricultural and Biological Chemistry**, 55: 633- 639.
- Yamashita, S., Weiss, M. and Melmed, S., 1986. Insulin-like growth factor I regulates growth hormone secretion and messenger ribonucleic acid levels in human pituitary tumor cells. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, 63: 730-735.
- Yamashita, S. and Melmed, S., 1987. Insulin-like growth factor I regulation of growth hormone gene transcription in primary rat pituitary cells. **Journal of Clinical Investigation**, 79: 449-452.
- Yan, L.J., Fang, X.T., Zhang, R.F., Zhang C.L. and Chen, H., 2011. Analysis of pituitary specific transcription factor-1 gene polymorphism in several indigenous Chinese cattle and crossbred cattle. **Journal of Applied Animal Research**, 39 (3): 269-274.
- Yang, F., Li, L., Liu, H., Cai, Y. and Wang, G., 2012. Polymorphism in the exon 4 of β -lactoglobulin variant B precursor gene and its association with milk traits and protein structure in Chinese Holstein. **Molecular Biology Reports**, 29: 3957-3964.
- Yao, J., Aggrey, S.E., Zadworny, D., Hayes, J.F. and Kühnlein, U., 1996. Sequence variation in the bovine growth hormone gene characterized by Single-Strand Conformation Polymorphism (SSCP) analysis and their association with milk production traits in Holsteins. **Genetics**, 144 (4): 1809-1816.
- Yardibi, H., Turkay, G., Mengi, A., Kaygısız, F. and Öztürk, K., 2009. Genetic polymorphisms of α -lactalbumin and β -lactoglobulin in South Anatolian and East Anatolian Red cattle. **Asian Journal of Animal and Veterinary Advances**, 4 (5): 252-257.
- Yarkın, İ. ve Sönmez, R., 1961. Kilis süt keçilerinin ırk vasıfları, vücut yapıları ve oğlaklarında büyüme üzerine araştırmalar. **Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi**, Fas:1'den ayrı baskı, Ankara.

- Yasuda, A., Miyazima, K.I., Kawauchi, H., Peter, R.E., Lin, H.R., Yamaguchi, K. and Sano, H., 1987. Primary structure of common carp prolactins. **General and Comparative Endocrinology**, 66: 280-290.
- Yeh, F., Yang, R.C. and Boyle, T., 2000. **Popgene Microsoft Windows based freeware for population genetic analysis**. <https://sites.ualberta.ca/~fyeh/>.
- Yılmaz, O., Cemal, İ., Karaca, O. and Ata, N., 2014a. Association of Calpastatin (CAST) gene polymorphism with weaning weight and ultrasonic measurements of loin eye muscle in Kivircik lambs. **Journal of The Kafkas University Faculty of Veterinary Medicine**, 20 (5): 675-680.
- Yılmaz, O., Sezenler, T., Ata, N., Yaman, Y., Cemal, İ. and Karaca, O., 2014b. Polymorphism of the ovine calpastatin gene in some Turkish sheep breeds. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, 38: 354-357.
- Yorgancılar, M., Yakışır, E. ve Erkoyuncu, M.T., 2015. Moleküler markörlerin bitki ıslahında kullanımı. **Bahri Dağdaş Bitkisel Araştırma Dergisi**, 4 (2) 1-12.
- Yoshimura, Y., Nakamura, Y., Koyama, N., Iwashita, M., Adachi, T. and Takeda, Y., 1993. Effects of growth hormone on follicle growth, oocyte maturation, and ovarian steroidogenesis. **Fertility and Sterility**, 59: 917-923.
- Yoshimura, Y., Iwashita, M., Karube, M., Oda, T., Akiba, M., Shiokawa, S., Ando, M., Yoshinaga, A. and Nakamura, Y., 1994. Growth hormone stimulates follicular development by stimulating ovarian production of insulin-like growth factor-I. **Endocrinology**, 135: 887-894.
- Yousefi, S. and Azari, M.A., 2012. Genetic effect of growth hormone gene on yearling weight and wool traits in Zel sheep. **Archiv Tierzucht**, 55 (3): 303-306.
- Yousefi, S., Azari, M.A., Zerehdaran, S., Samiee, R. and Khataminejhad, R., 2013a. Effect of β -lactoglobulin and K-casein genes polymorphism on milk composition in indigenous Zel sheep. **Archiv Tierzucht**, 56: 216-224.
- Yousefi, S., Shahmohammadi, L., Azari, M.A., Zerehdaran, S. and Dehnavi, E., 2013b. Survey of FecXL locus of BMP15 gene and growth hormone (GH) gene and their effects on lambing rate in Zel sheep. **Iranian Journal of Applied Animal Science**, 3: 351-355.
- Zaglool, A.W., Awad, A., El-Araby, I.E.S. and El-Bayomi, K.M., 2016. Association of β -lactoglobulin gene polymorphism with milk yield, fat and protein in Holstein-Friesian Cattle. **World's Veterinary Journal**, 6 (3): 117-122.
- Zakizadeh, S., Reissmann, M., Rahimi, G., Javaremi, A.N., Reinecke, P., Mirae-Ashtiani, S.R. and Shahrabak, M.M., 2007. Polymorphism of the Bovine POU1F1 gene: Allele frequencies and effects on milk production in three Iranian native breeds and Holstein cattle of Iran. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, 10 (15): 2575-2578.
- Zeder, M.A. and Hesse, B., 2000. The initial domestication of goats (*Capra hircus*) in the Zagros mountains 10,000 years ago. **American Association for the Advancement of Science**, 287 (5461): 2254-2257.
- Zeng, X.C., Chen, H.Y., Jia, B., Zhao, Z.S., Hui, W.Q., Wang, Z.B. and Du, Y.C., 2011. Identification of SNPs within the sheep PROP1 gene and their effects on wool traits. **Molecular Biology Reports**, 38: 2723-2728.
- Zhang, S.J., Xiong, Y.Z., Deng, C.Y., Zeng, F.T., Qiu, X.P., Xiao, S.M., Xia, Y., Xu, J.X. and Ruan, Z., 2002. Study of molecular genetics of the size of reproductive organs and litter size in the sow. **Acta Genetica Sinica**, 29 (12): 1073-1077.

- Zhang, G.X., Chu, M.X., Wang, J.Y., Fang, L. and Ye, S.C., 2007. Polymorphism of exon 10 of prolactin receptor gene and its relationship with prolificacy of Jining Grey goats. **Hereditas**, 29 (3): 329-336.
- Zhang, J.L., Zan, L.S., Fang, P., Zhang, F., Shen, G. and Tian, W.Q., 2008. Genetic variation of PRLR gene and association with milk performance traits in dairy cattle. **Canadian Journal of Animal Science**, 88: 33-39.
- Zhang, C., Liu, B., Chen, H., Lan, X., Lei, C., Zhang, Z. and Zhang, R., 2009. Association of A HinfI PRC-RFLP of POU1F1 gene with growth traits in Qinchuan cattle. **Animal Biotechnology**, 20: 71-74.
- Zhang, C., Liu, Y., Huang, K., Zeng, W., Xu, D., Wen, Q. and Yang, L., 2011. The association of two single nucleotide polymorphisms (SNPs) in growth hormone (GH) gene with litter size and superovulation response in goat-breeds. **Genetics and Molecular Biology**, 34 (1): 49-55.
- Zhao, Q., Davis, M.E. and Hines, H.C., 2004. Associations of polymorphisms in the Pit-1 gene with growth and carcass traits in Angus beef cattle. **Journal of Animal Science**, 82: 2229-2233.
- Zhao, H., Wu, X., Cai, H., Pan, C., Chen, H. and Lan, X., 2013. Genetic variants and effects on milk traits of the caprine paired-like homeodomain transcription factor 2 (PITX2) gene in dairy goats. **Gene**, 532 (2): 203-210.
- Zhou, J.P., Zhu, X.P., Zhang, W., Qin, F., Zhang, S.W. and Jia, Z.H., 2011. A novel single nucleotide polymorphism in the 5' upstream region of the prolactin receptor gene is associated with fiber traits in Liaoning cashmere goats. **Genetics and Molecular Research**, 10 (4): 2511-2516.
- Zhou, F., Yang, Q., Lei, C., Chen, H. and Lan, X., 2016. Relationship between genetic variants of POU1F1, PROP1, IGFBP3 genes and milk performance in Guanzhong dairy goats. **Small Ruminant Research**, 140: 40-45.
- Zhu, Z., He, L. and Chen, T.T., 1992. Primary-structural and evolutionary analyses of the growth-hormone gene from grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*). **European Journal of Biochemistry**, 207: 643-648.
- Zhu, H., Zhang, Y., Bai, Y., Yang, H., Yan, H., Liu, J., Shi, L., Song, X., Li, L., Dong, S., Pan, C., Lan, X. and Qu, L., 2019. Relationship between SNPs of POU1F1 gene litter size and growth traits in Shaanbei White Cashmere goats. **Animals**, 9 (114): 1-14.
- Zidi, A., Serradilla, J.M., Jordana, J., Carrizosa, J., Urrutia, B., Polvillo, O., Gonzales-Redondo, P., Gallardo, D., Amills, M. and Fernandez-Cabanas, V.M., 2010. Pleiotropik effects of goat prolactin receptor genotype on milk fatty acid composition. **Domestic Animal Endocrinology**, 39: 85-89.

EKLER

Ek-1. DNA İzolasyonunda Kullanılan Çözeltiler

100 ml 1M Tris-HCl Çözeltisi (pH: 8.0):

12.114 g Tris tartılıp saf su ile 80 ml'ye tamamlanır. Çözelti pH'ı HCl ile 8.0 olacak şekilde ayarlanıp saf su ile 100 ml'ye tamamlanır.

100 ml 100mM EDTA Çözeltisi (pH: 8.0):

2.923 g EDTA tartılıp saf su ile 80 ml'ye tamamlanır. Çözelti pH'ı NaOH ile 8.0 olacak şekilde ayarlanıp saf su ile 100 ml'ye tamamlanır.

500 ml T10E10 Çözeltisi (pH: 8.0):

5 ml 1M Tris-HCl (pH: 8.0)

50 ml 100mM EDTA (pH: 8.0)

Çözelti saf su ile 400 ml'ye tamamlanır. Çözelti pH'ı NaOH veya HCl ile 8.0 olacak şekilde ayarlanıp saf su ile 500 ml'ye tamamlanır.

500 ml T10E1 Çözeltisi:

5 ml 1M Tris-HCl (pH: 8.0)

5 ml 100mM EDTA (pH: 8.0)

Çözelti saf su ile 400 ml'ye tamamlanır. Çözelti pH'ı NaOH veya HCl ile 8.0 olacak şekilde ayarlanıp saf su ile 500 ml'ye tamamlanır.

500 ml Digestion Çözeltisi (400mM NaCl, 10 mM Tris-HCl, 2mM EDTA; pH: 8.2):

11.69 g NaCl

10 ml 100 mM EDTA (pH: 8.0)

5 ml 1M Tris-HCl (pH: 8.0)

Çözelti saf su ile 400 ml'ye tamamlanır. Çözelti pH'ı NaOH veya HCl ile 8.2 olacak şekilde ayarlanıp saf su ile 500 ml'ye tamamlanır.

10 ml Proteinaz K Çözeltisi (2 mg/ml Proteinaz K, %1 SDS, 20mM EDTA):

1 ml Proteinaz K

0.1 g SDS

2 ml 100mM EDTA

Çözeltiyi hazırlamak için öncelikle EDTA içinde SDS çözündürülür. Elde edilen karışıma Proteinaz K eklenir ve çözelti saf su ile 10 ml'ye tamamlanır.

25 ml %10 SDS Çözeltisi:

2.5 g SDS, saf su ile 25 ml'ye tamamlanarak çözündürülür.

100 ml 6M NaCl Çözeltisi:

35.064 g NaCl tartılıp 100 ml'ye tamamlanarak saf suda çözündürülür.

Ek-2. DNA İzolasyonu İçin Kullanılan Protokol

- ✓ Buzdolabı veya derin dondurucuda bulunan kan örnekleri oda sıcaklığına (25°C) gelinceye kadar bekletilmiştir.
- ✓ Kan örneklerinden 2.5 ml 15 ml'lik falcon tüplere alınıp üzerine 5 ml T10E10 çözeltisi ilave edilerek kapakları kapatıldıktan sonra 20-25 saniye vortekslenmiş ve ardından tüpler 20 dakika süreyle +4°C'de 1500g'de santrifüjlenmiştir.
- ✓ Santrifüj sonrası tüpün tabanında 1-2 ml sıvı kalacak şekilde üstteki sıvının tamamı atılmış, oluşan pelet üzerine 5 ml T10E1 çözeltisinden eklenmiştir. Tüpün dibindeki bütün pelletin vorteks ile iyice parçalanması sağlanmıştır. Sonrasında tüpler 20 dakika süreyle +4 °C 1500g'de santrifüjlenmiştir (Bu işlem toplamda 2 kez tekrarlanmıştır).
- ✓ Santrifüjleme sonrasında tüpün dibinde 1-2 ml sıvı kalacak şekilde üstteki sıvının tamamı atılmış, tüpe 1.5 ml digestion çözeltisi eklenmiş ve vortex yapılmıştır.
- ✓ Daha sonra tüpe 250 µl Proteinaz K solüsyonu ve 100µl %10'luk SDS solüsyonu eklenip hafif şekilde pipetaj yapıldıktan sonra tüpler yaklaşık 12 saat süreyle 65 °C'ye ayarlanan su banyosunda inkübe edilmiştir.
- ✓ Su banyosundan alındıktan sonra proteinleri çöktürmek için her bir tüpe 6 M NaCl solüsyonu 0,5 ml eklenmiş ve 15-20 saniye vortekslenmiştir. Daha sonra tüpler 20 dakika süreyle +4 °C 1500 g'de santrifüj edilmiştir.
- ✓ Santrifüj bittikten sonra üstteki berrak sıvı 15 ml'lik temiz falcon tüplere alınmıştır. İçerisinde DNA bulunan üzerine sıvı hacminin 2 katı hacimde %100'lük soğuk etanol (-86 °C) eklenmiş ve tüpler hafifçe alt üst edilerek DNA'nın yeterince gözle görülür hale gelmesi sağlanmıştır.
- ✓ Gözle görünen DNA'lar eppendorf tüplere alınmış ve kapakları açık bir şekilde beklenerek tüpte kalan etanolün uçması sağlanmıştır.
- ✓ Etanolü uçan tüplere 1 ml T10E1 çözeltisi eklenip DNA'nın çözünmesi sağlanmış ve oldukça yoğun olan DNA'nın tam olarak çözünmesini sağlayabilmek için tüpler 37 °C sıcaklıkta yaklaşık 48 saat süreyle çalkalayıcı üzerinde tutulmuştur.

Ek-3. Elektroforez Aşamasında Kullanılan Çözeltiler

DNA Ladder

2µl DNA Ladder

2µl 6 X Loading Dye

8µl Deiyonize su

TBE 10X Çözeltisi (pH: 8.3)

54 gr Tris-Base

27.5 Borik Asit

20 ml 0.5 M EDTA (pH: 8.0)

Çözelti hazırlandıktan sonra 400 ml'ye tamamlanarak pH'ı 8.3'e ayarlanıp ardından çözelti 500 ml'ye tamamlanır.

Ek-4 Keçi (*Capra Hircus*) POU1F1 Geni Nükleotid Dizisi

Definition : *Capra hircus* POU1F1 (POU1F1) gene, exon 6 and partial cds.

Accession : MH892432

Version : MH892432.1

Ref. Authors : Isik,, R. and Bilgen, G. 2018. Direct Submission.

Sequence : 450 bp

```
1 ccatcatctc ctttcttctt tcttgccaac tccccacctc ccagtattgc tgctaaagac
61 gccctggaga gacactttgg agaacagaat aagccttcct cgcaggagat cctgaggatg
121 gctgaagaac taaacctgga gaaagaagtg gtgagggttt ggttttgtaa ccgaagacag
181 agagaaaaac gggtgaaaac aagcctgaat cagagcttat ttcctatctc taaggagcat
241 cttgaatgca gataggtctc ccattgtgta atagcgagtt tttctgcttt tctttccctt
301 ctcttctcca gccaaagtag aaatcagtta tttggtttagc ttccaaacgt cacatcagta
361 atgtttgcag aagtgtttct cttctacttt aaaaacaaat acaatttaaa ttatgttgat
421 gaattattct cagaaggcac attgtacatt
```

Ek-5 Keçi (*Capra Hircus*) PRLR Geni Nükleotid Dizisi

Definition : *Capra hircus* prolactin receptor (PRLR) gene, 3' UTR.
Accession : KJ572972
Version : KJ572972.1
Ref. Authors : An, X., Hou, J. and Cao, B. 2014. Mutation in PRLR 3'UTR regulated by bta-miR-302a is associated with litter size in goats (unpublished).
Sequence : 443 bp

```
1 agtgagagtt atggaaggat ggggtgaatt gtgattttcc ttcaggtaac attacagagt
61 acgtggaatg cactctacca gagagggtc aagaacagga ttagaatgac actaccaaac
121 tcccagttca ctcttcattc tctattttca accagttgcc tctttttcca acagctgatt
181 ccagaacaaa tcattccatc ttgtgtgatt tgtagattta cttttttgct attagttatc
241 agattatatg ttcaatgata taaaagcaca ttgcctagta ttcttgagag acagtgccaa
301 taggtatatt ctctggaaaa ggccttcatt gtttcatatg tgacagaggg gtataagtca
361 gtcaaaattg ttaccatga gaagatggta gataggagag aaatgccatg aaaaccactc
421 ttgaagacca gttgcttaac ctt
```

Ek-6 Keçi (Capra Hircus) β-LG Geni Nükleotid Dizisi

Definition : C.hircus gene encoding beta-lactoglobulin.

Accession : Z33881

Version : Z33881.1

Ref. Authors : Folch, J.M., Coll., A. and Sanchez, A. 1994. Complete sequence of the caprine beta-lactoglobulin gene. Journal of Dairy Science, 77(12): 3493-3497.

Sequence : 8088 bp

```
1 ccagctgccc caggccagag gtgctttatt tccgtctctc tctctggatg gtattctctg
61 gaagctgaag attcctggaa gttatgaata cttcgccctg aagggcattg tttatggtca
121 cggttcacag gaacttggga gacctgcag ctcagacgtc ccgaggttgg tggcaccagc
181 atttcctaag ctgcgtgggg aacggggcgc ttgtttctcc ctggctgacc tccctcogcc
241 ctgcatcacc cagttctgag agcagagcgg tgctgggggg cacagcctct cgcattctgac
301 gccggtgtcc aaaccacccg tgctggtgtt cgggggggcta cctatgggga agggctcctc
361 actgcagggt gccctccgtc ccctctgaga tcagaagtc cagtcgggac atcgaaacagg
421 ccaagctccc tccagaggct ccaggagggg atccttgccc ccgcgccgcg cctccagctc
481 ctggtgccgc acccttgagc ctgactttgt agacgcctca gtctagtctc tgccctccgtg
541 ttcacatgcc ttctcccat gtccctcca tgtcccgtt ttctctcaca aggacaccgg
601 acagtagatt agcccctgtt ccagcctcac ctgaacagct cacatctgta aagacctaga
661 ttccaaacaa gattccaacc tgaagttcct ggtggatgtg agttctgggg caacatcctt
721 caaccccatc acagcttgca gttcatcaca aaacatggaa cctgggggtt atcataaaac
781 ctaggttctt catgaaacac tgagcttcga ggcttggtgc aagaattaaa ggtgctaata
841 cagatcaagg caaggactga agctggccaa gcctactctt tccatcacag gaaagggggg
901 tctgggggcg gctgggggtc tgetcccgtg agtgagctct tttctgtctac agtcaccaac
961 agtctctccg ggaaggaaac cagaggccag agagcaagcc agagctagtt taggagacc
1021 ctgaacctcc aaccaagatg ctgaccaggc cagcgggccc cctggaaga ccctacagtt
1081 caggggggaa gaggggctga cccgccaggt cctgctatc aggagacatc cccgctatca
1141 ggagattccc ccacctgtct cccgttcgc taccacaata cgccacccc acccctgtga
1201 tgagtgttt agtcaactag aatgtcaact gaaggctttt gcacctctt tgccagaggc
1261 acaaggcacc cacagcccgc tgggtacca cgcctatgtg gattcagcca ggaggcctgt
1321 cctgcaccct cctgctcgg gcccttctg tactcagcaa cacaccagc accagcattc
1381 ccactgtctc tgaggtctgc aggcagctcg ctgtagcctg agcgtgtggt agggagtggt
1441 cctgggagac ttaaaatgtg ggaggtggga ggtgggaggt tgggctgtgt gggctgtccc
1501 atcccgtgtg cctgcatgga gcccagtgct tgctcagccg tgcccccgcc gcagggtcag
1561 gtcactttcc cgtcctgggg gttattatga ccgttgctat tttcattgcc attttgcta
1621 ccctaactgg gcagcaggtg cttgcagagc cctcgatacc gaccaggtcc cccctcggag
1681 ctccacctga acccctgtgc acccttgccc cagcctgcag aggatggggt cactgcagag
1741 atcccttcac ccaaggccac ggtcacatgg tttggaggag ctggtgcccc aggcagaggc
1801 caccctctag gacacacctg tccccagtg tggtctgtac ctgccttgt ctaagaggtc
1861 gaccccgga gtgttcctgg cactggcagc cagcctgacc cagagtcag acaccacct
1921 gtgccccac ttctggggtc taccaggaac cgtctaggcc cagaggggga cttcctgtct
1981 ggccccgat ggaagaaggc ctccatttgt cctcgtagag gaagccaccc cggggcccg
2041 ggatgagcca agtaggattc cggaacctc gtggctgggg gcccgcccg ggctggctgg
2101 ctggcacgcc tcctgtataa ggccccgagc ccgtgtctc agccctccac tcctgcaga
2161 gctcagaagc acgaccccag ctgcagccat gaagtgcctc ctgcttgccc tgggctggc
2221 cctcgcctgt ggcattccagg ccattcatct caccagacc atgaaaggcc tggacatcca
2281 gaaggttcga ggggtggccg gtgggtggta ggttgaggg cgggcaggg agctgggcct
2341 cagagaccaa gagaggctgt gacgtcgggt tcgcatcagt cagctagggc agcctgacaa
2401 atccccgct ggggcagctt ggaccaggcg ttactgcct tgcatctgt aggctggaag
2461 ccaagatcca ggtgtcggcc aggettgctt ctctcgggc cgtctccgc ggagagacgg
2521 cgtcttctc catgtctct gcgagccctg atttctctt cctgtgaggc cgccaggcct
2581 gctggaaca cgcctgcctg cacagcctca cagaccttt gtcattctt taaaggcct
2641 gtctccagag tcatgtgttg aagttctggg ggttagtggt acacagttca gccctaaaa
2701 gagtctctc gccctcaaa tttcccccac ctccagccat gtctcccaa gatccaaatg
2761 ttgccacgtg tgggggggct catctgggtc cctcttggg ctcaagtgta gtctggggag
2821 agcattcccc aggtgcaga gttgggggga gtatctcagg gctgccagg ccgggtggg
2881 acagagagcc cactgtgggg ctgggggccc cttccacccc ccgagtgca actcaaggtc
```

2941 cctctccagg tggcggggac ttggtactcc ttggctatgg cggccagcga catctccctg
3001 ctggacgccc agagtgcgcc cctgagagtg tacgtggagg agctgaagcc cacccccag
3061 ggcaacctgg agatcctgct gcagaaatgg tgggcgtccc tccccaacac ggaaccccca
3121 ctccccaggg ctgtggaccc cccggggggt ggggtgcagg agggaccagg gccccagggc
3181 tggggaagag ggctcagagt ttactggtac ccggcgctcc acccaaggct gccccaccag
3241 ggcttttttt tttttttaac ttttattaat ttgatgcttc agaacatcat caaacaatg
3301 aacataaaac atcatttttg ttacttgga aggggagata aaatccactg aagtggaaat
3361 gcataggaaa gatacatagc acgaggcagg tattctgaat tcctgttag tctgaggatt
3421 acaagtgcac ttgagcaaca gagagacatt ttcattatct ctagtatgaa cacctcagta
3481 tctaaaaatga acaagatgtc ctggaaacga agcagtgtgg ggataggccc gtgtgaaggc
3541 tgctgggagg cagcagacct gggctctttg ggctcaggca gttccacta ccagccctgt
3601 ccaccctcag acgggggtca ggggtcagga gagagctggg tgggtgtggg gggcagagat
3661 ggggacctga accccagggc tgcccttttg ggggtgctgt gtgtgtgcaa ggctctccct
3721 gaccttttct ctctggcttc atttgacttc tcctggccca tccaccagc cccctgtggc
3781 ctgagaggtg acagtgagtg cagccgaggc tagttggcca gctggccct atgccacgc
3841 cacccccctc cagcccctcc tggggccagc ttctgtccct ggccctcagt tcatcctgat
3901 gaaaatggtc catgccagtg gctcagaaa cagctgtctt tcagggagaa cggcgagtgt
3961 gctcagaaga agattattgc agaaaaaac aagatccctg cgggtgtcaa gatcgatggt
4021 gagtgcgggg tccctggggg acacctaaca cccctgcccc cgggactgt gggcaggttc
4081 agggggctgg cgtcgggccc tgggatgcta aggggctggg ggtgatgaag aactgcctt
4141 gacacctgct tcaactgcct ccctgccacc tgctggggc cttggggccg gtggccatgg
4201 gcaggtcccg gctgggcggg gctaaccac cagggtgaca cccgagctct ctttgcggg
4261 gggcggtcgg tgctctgggc cctcaggctg agctcaggta ggtacctgtg cctcccagg
4321 ggtaaccgag agccgttgcc cactccaggg gcccagggtg cccacgacct cagcccgctc
4381 cagagctcct tcatctcctg gagacaaact ctgtccgccc tcgctcattc actgttcgt
4441 cctaaatccg agatgagaaa gcttcgaggg ggggttgggg ttcctcagg gctgcccttc
4501 cgccgggcag cctgggccac atctgccctt ggccccctca ggactcactc tgactggagg
4561 ccctgactg actgatgcca gggtgcccag cccagggtct ctggcgccat ccagctgcac
4621 tgggtttggg tgctgtcctt gccccaaagc ttcccggaca ccacagggca gccgggctg
4681 cccactggcc tctgtcaggg tgagccccag ctgcccctgc tcagggtctg cccccacaa
4741 tgcccccatc ctcaggacgc accccccttc ccttgcctgg cagtgtccag cccacccga
4801 gatcaggggg aagcttcttg accactccgg tccctgggag agggggcctc agactgagt
4861 gtgagtgttc ccaagtccag gagatggtgg agggctccctg gcggtccag agttgacagt
4921 gagggttctc tgggccccgt gcgcttgcca gtggcagcag ggaagaggaa gcaccatttc
4981 ggggggtggg gatgccagag gcgctcccca ccccgctctc gccgggtggg gacccggggg
5041 gagccgcgct ggtcgtggag ggtgctgggg gctgaccagc aaccctctcc cccgcggtt
5101 gaactcactt tcctcccgtc ttgatcgctt ccagccttga acgagaacaa agtcttctgt
5161 ctggacaccg actacaaaaa gtacctgtc ttctgcatgg aaaacagtgc tgagcccag
5221 caaagcctgg cctgcccagt cctgggtggg tgccaaccct ggctgccag ggagaccagc
5281 tgtgtggtcc ttgctgcaac agggggtggg ggtgggagca gggagcttga tccccaggag
5341 gaggaggggt ggggggtccc cgagctccgc caggagacag cgggtccata ccgggagcca
5401 gtctgtgtgt ggcctgtggg tggctgggga tgggggcccag acacacaggc tgggagacgg
5461 gtgggctgca gaactgtgac tgggtgtgacc atcgcatgg ggccggcggt cactgaatct
5521 aacagccgtt gttaccgggg agtttcaatt atttcccaa ataagaactc aggtacaaag
5581 ccatctttaa actatcacgt cctgaaaaca aatggcaggt gacattttct gtccgttagc
5641 agtcccactg ggcgttttca gggcccctgt gccagggggg cgtgggcatc ggcagtgga
5701 ggctcccagc tttgtcagcc ggcccagggg gaggaaggga cccggacagc cagaggtggg
5761 gggcaggctt tccctctgtg acctgcagac cactgcact gccctgggag gaagggaagg
5821 gaactgggcc aaggggaaaag ggcaggtgct ctggagggca agggcagacc tgcagaccac
5881 cctggggagc agggactgac cccctgccct gctccacagt caggacccca aggtgggaca
5941 aggaggccct ggagaaattc gacaaagccc tcaaggccct gcccatgcac atccgctcg
6001 ccttcaaccc gaccagctg gaggtggag acccaggccc cggcccttcc ccagggcagg
6061 aggtacccg gcccaggacc tcctctccc atggtgacce ccagctcccc aggcctccc
6121 ggaggagggg gtggggtgca gcaccccggt gggggccct cccaccccc tgccaggccc
6181 ctcttctga ggtgtccagt cccatcctga ccccccata ctctccctcc cccgagggc
6241 agtgccacgt ctaggtgagc cctgcccgtt gcctctgtgg taagtgcctc gctctgccc
6301 acgtcctggg cacacacatg gggtaggggg tcttgggtgg cctgggacc ccacattagg
6361 cctgggggtc cccctgtgag aatggctgga agctgggggt cttcctggcg atgcagagc
6421 cgactggccg cgtgcccact atttgggggt gacctgtgtc ctggcctcac tcacagctg
6481 acctcttcca gctccttccg ggcagagcta agggccaagg tggaggccta ggaagtgggt
6541 acctaaaggg gagggtaggg gggctcttct cccgaggagg ggctgtcctg aacccccagc
6601 cacggagagg ctggcaagga tctggcaggt gccccaggaa tcacaggggg ggcccatgtc
6661 ctttccaggg ccggggagcc ttggccctcc tggggacaga cgacgtcacc cccgcctccc
6721 ccatcagggg gaccaggagg gaccgggacc gcggtcacct ctctgggag ccaggccct
6781 ccaggccct cctgtggcct cctgtcggg gccgctcctc cttcagcaat aaaggcataa

```

6841 acctgtgctc tcccttctga gtctttcctg gacaacgggc aggggggtgga gaaggcccg
6901 cacaggggtg ggagtgggtc ggctcagagg atgacagcgg ggctggggatc cagggcgtct
6961 gcatcacagt cttgtgacat ctggggggccc acacacatca ctgtgggtct ttgaaacttt
7021 caggaaccag ggagggactc agcagagata tctgccagtt accttgaggt gttcagtc
7081 caccctaaact cgacaaaggc cagaaagtgg aaaatggctg tctcttagtc taataaatat
7141 tgatatgaaa actcaagttg ctcattggatc aaattatgcc cttttatgaa tccagccact
7201 actgtcggta tcaaacttca tgtaccctaa acgcactgat cttttctgtg ctaaaatgaa
7261 ataaagagat ttccccaaga tagaggagct gggcaaaaga ggtcacgggt ggaaggagac
7321 ttgttctgca cacacagcaa ggagatccaa ccagtccatc ctaaaggaga tcagtcctgg
7381 gtgttcattg gagggactga tgttgaagct gaaactccaa tgctttggcc acctgatgtg
7441 aagagctgcc tcatttgaaa agaccctgat gctgggaaag attgagggca ggaggagaag
7501 gggacgacag aggatgagat ggttgatgg catcactgac acaatggaca tgggtttggg
7561 tggactccgg gagttggtga tggacaggga ggctggcgt gctgcggttc atggggtcac
7621 aaagactgag cgactgaact gaactgaact gaatggaaaa gaggtataca gcaaagtggg
7681 gattttttaa atgataagaa taatttgac atagcatagt gtgtactcat atttatatgc
7741 gtacctgaat gctcagtcac tcagtcgtac ctgactctgt gacctatgga ccatagccct
7801 ccaggttcct tctgtcccca gaattctcca ggcaagaata ctggagtggg tagccatttc
7861 ctctccagc cgatcctccc gaccagggga ttgaaccggc atctcctgca ttggcagggtg
7921 gattctttac cactgtgcca ccagggaagc ctgtgttact gtctatgtcc cacttaatta
7981 ccaaagctgc tccaagaaaa agcccctatg cctctgagct tcccggcctg cagagttgtg
8041 ggggtagact gtgacctggg aacaccctcc cgcttcagga ctcccggg

```



Ek-7 Keçi (Capra Hircus) GH Geni Nükleotid Dizisi

Definition : Capra hircus gene for growth hormone, complete cds.

Accession : D00476

Version : D00476.1

Ref. Authors : Kioka, N., Manabe, E., Abe, M., Hashi, H., Yato, M., Okuno, M., Yamano, Y., Sakai, H., Komano, T., Utsumi, K. and Iritani, A. 1989. Cloning and sequencing of goat growth hormone gene. Agricultural and Biological Chemistry, 53: 1583-1587.

Sequence : 2544 bp

```
1 gggattttct gacccaggga ttaaacctga gtctcctgca tttgcagctc gattctttat
61 ggctgagcca cctgggaagc ccattcgttt ctgctacctc ccccttaaaa agaaaaccta
121 tgggggtggc tctcaagctg agaccctgtg tgtacagccc tcaggctggg ggcagtggag
181 aggggatgat gatgagcctg ggggacatga cccagagaaa ggaacgggaa caggatgagt
241 gagaggaggt tctaaattat ccattagcac aggctgccag tggctccttg ataaatgtat
301 agagcacaca ggtgggggga aaggagaga gaagaagcca gggataaaaa agggcccagc
361 agagaccaat tccaggatcc caggaccagc ttcaccagac gactcagggg cctgctgaca
421 gctcaccaac tatgatggct gcaggtaaag tcacaaaaat cccctccatt agcgtgtcct
481 aaggggggtg tgcgggagaa ctgccgatgg atgtgtccac agctttgggt tttagggtct
541 ctgaatgcga acataggtat ctgcaccagc acatttgccc aagtttgaaa tgttctcagt
601 ccctggaggg aagggcaggc gggggctggc aggagatcag gcattccagt ctctggggcc
661 ctccgtcgcg gccctcctgg tctctcccta gggccccgga cgtccctgct cctggctttc
721 accctgtctt gcttgccttg gactcaggtg gtgggcgcct tccagcccat gtccttgttc
781 ggcctgtttg ccaacgctgt gctccgggct cagcacctgc atcaactggc tgctgacacc
841 ttcaaagagt ttgtaagctc cccagagatg tgtcctagag gtggggaggc aggaaggggg
901 gaatccgcac cccctccaca caatgggagg gaactgagga cctcagtggg attttatcca
961 agtaaggatg tggtcagggg agtagaaatg ggggtgtgtg ggggtgggag ggttccgaat
1021 aaggcagtga ggggaaccac acaccagctt agaccggggt ggggtgtgtc tccccccagg
1081 agcgcaccta catcccgagg ggacagagat actccatcca gaacaccagg gttgccttct
1141 gcttctcdga aaccatcccg gccccacggy gcaagaatga ggcccagcag aaatcagtga
1201 gtggccacct aggaccgagg agcaggggag ctccttcata ttaagtaggc tgcccagctc
1261 ctctgcaccg ggcttggggg ggcgttctcc ctgaggtggc agagggtgtt ggtatggcag
1321 ggagatgat ggttgggtgt ggtggcagga ggtcctcggg cagaggccga ccttgcaggg
1381 ctgccccgag cccggggcac ccaccaacca cccatctgcc agcaggactt ggagctgctt
1441 cgcattctac tgctccttat ccagtctgtg cttgggcccc tgcagttcct cagcagagtc
1501 ttaccaaca gcttgggtgt tggcacctcg gaccgtgtct atgagaagct gaaggacctg
1561 gaggaaggca tcctggcgct gatgcgggtg aggatggcgt tgttgggtcc cttccatgct
1621 gggggccatg cccaccctct cctggcttag ccaggagaa acacgtgggc tgggggagag
1681 agatccctgc tctctctctc tctttctagc agcccagttc tgaccaggga gaaacctctt
1741 cccgttttga aacctccttc ctgcgccttc tccaagccta taggggaggg tggaaaatgg
1801 agcgggcagg agggagccgc tcctgagggc cttcggcctc tctgtctctc cctcccttgg
1861 caggagctgg aagatgttac cccccgggct gggcagatcc tcaagcagac ctatgacaaa
1921 tttgacacaa acatgcggag tgacgacgcy ctgctgaaga actacggtct gctctcctgc
1981 ttccggaagg acctgcacaa gacggagacg tacctgaggg tcatgaagtg tcgccgcttc
2041 ggggaggcga gctgcgcgtt ctagtgtgca gccatctgtt gttacccttc cccgtgcctt
2101 cctagaccct ggaaggtgcc actccagtgc ccactgtcct ttcctaataa agcgaggaaa
2161 ttgcatcaca ttgtctgagt aggtgtcatt ctattctagg ggggtgggtc aggcaggata
2221 gcgagaggga ggattgggaa gacaatagca gggatgctgt gggctctatg ggtaccaggg
2281 tgctgaataa ttgaccgggt tcttctctgg ccagaaggaa gcaggacatc ccccttctct
2341 gtgacacacc cggctctcgc cctggtcctc tagttccagc cccactcata ggacactcat
2401 agctcaggag ggctctgcct tcagtcccac ccgctaaagt gcttggagcg gtttctcctt
2461 ccctcatcag cccaccaaac caaacctagc ctccaagagt gggagaagaa taaagcaaga
2521 caggctatga agtacagagg gaga
```