

## Gökçeada, Saanen ve Kıl Keçisi Irklarının LALBA/*MvaI* Polimorfizmi Bakımından İncelenmesi

Yasemin Öner\*, Şule Şahin, Cengiz Elmacı

Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü, 16059 Görükle, Bursa

\*e-posta: [yaseminoner@yahoo.com](mailto:yaseminoner@yahoo.com); Tel: +90 (224) 294 1561; Faks: +90 (224) 442 8152

### Özet

Ruminant sütlerinde bulunan temel iki serum proteininden biri olan alfa laktoalbumin, biyolojik ve besinsel önemine rağmen hakkında az araştırma yapılmış bir süt proteindir. Bu çalışmada, Gökçeada, Saanen ve Kıl Keçisi ırkının laktoalbumin geni 3. ekzonundaki polimorfizm PCR-RFLP yöntemiyle incelenmiş ve gen ve genotip frekansları hesaplanmıştır. Çalışmada, LALBA lokusunda ait iki allel (A1 ve A2) ve iki genotip (A1A1 ve A1A2) belirlenmiştir. İncelenen tüm keçi ırklarında A1 alleli ve A1A1 genotipi predominant olduğu ve incelenen populasyonların Hardy-Weinberg dengesinde olduğu bulunmuştur.

**Anahtar kelimeler:** Alfa laktoalbumin, keçi, polimorfizm

### Investigation of Gökçeada, Saanen and Hair Goat Breeds for LALBA/*MvaI* Polymorphism

#### Abstract

The alpha lactalbumin, which is the one of the major whey protein of ruminant milk, is the less investigated milk protein in spite of its biological and nutritional significance. In this study polymorphism in the third exon of alpha lactalbumin gene in Gökçeada, Hair and Saanen goat breeds was investigated by PCR-RFLP method and gene and genotype frequencies were calculated. In the study two alleles (A1 and A2) and two genotypes (A1A1 and A1A2) were detected. In all goat breeds investigated A1 allele and A1A1 genotype were found to be predominant and the populations investigated were found in Hardy-Weinberg equilibrium.

**Key words:** Alpha lactalbumin, goat, polymorphism

#### Giriş

Alfa laktoalbumin (LALBA veya  $\alpha$ -la), UDP-galaktosyltransferaz enzimiyle etkileşime girerek meme dokusunda laktoz sentezi için önemli bir  $Ca^{+2}$  metalloproteindir (Ebner ve Brodbeck, 1968; Kuhn, 1983).

Keçi genomunda alfa laktoalbumini kodlayan gen beşinci kromozoma yerleşmiştir (Hayes ve ark., 1993) ve transkripsiyon birimi uzunlukları 75 nükleotidden 329 nükleotide kadar değişen dört adet ekzondan oluşmaktadır (Vilotte ve ark., 1991). Bu genin 123 amino asit uzunluğundaki dizilimi, ruminant sütlerinin iki temel serum proteininden birisini oluşturmaktadır (Jenness, 1982; Vilotte ve ark., 1991). LALBA geninin yapısı sıçan (Qasba ve Safaya, 1984), insan (Hall ve ark., 1987), sığır (Vilotte ve ark., 1987), keçi (Vilotte ve ark., 1991) ve Gine domuzunda (Laird ve ark., 1988) araştırılmış ve gen organizasyonlarının tavuk yumurtasının beyazını ve insandaki lizozimi kodlayan genlerle benzer olduğu ve bu genlerin ortak bir atadan geliyor olabileceği ileri sürülmüştür (Jung ve ark., 1980; Peters ve ark., 1989).

Biyolojik ve besleme açısından taşıdığı öneme rağmen

LALBA, ruminant süt proteinleri içerisinde hakkında az sayıda araştırma bulunan süt proteindir. LALBA geni polimorfizminin en çok incelendiğini ruminant türü sığırdır ve bu lokusta sığır türü için önceleri protein düzeyinde üç allel bildirilmiş (Blumberg ve ark., 1958; Bell ve ark., 1981) ve daha sonra intron bölgelerinde de polimorfizmler olduğu saptanmıştır (Bleck ve Bermel, 1993; Voelker ve ark., 1997). LALBA genine ait dört ekzonun ve komşu bölgelerinin ilk kez incelendiği çalışmada, 1. intronun 13. nükleotidinde bir T→C transisyonu, 3. ekzonun 5. nükleotidinde bir C→T transisyonu ve 4. ekzonun 187. nükleotidinde bir C→G transversiyonu belirlendiği bildirilmiştir (Cosenza ve ark., 2003). Aynı çalışmada 3. ekzonun 5. nükleotidindeki mutasyonun, amino asit dizisinde herhangi bir değişime yol açmadığı, ayrıca gen bankasındaki referans dizi ile karşılaştırıldığında *MvaI* enzimi kesim bölgesinin ortadan kalkmasına yol açtığı bildirilmiştir. Lan ve ark. (2007)'nın, Moğol Kaşmir keçilerinde ve Çin yerli keçi ırkları üzerinde yaptıkları çalışmalarında, 3. ekzonun 7. nükleotidinde yeni bir C→T transisyonu bildirmişlerdir. İlgili çalışmada, 3. ekzonun 7. nükleotidindeki bu C→T transisyonunun L→P amino asit değişimine yol açmakta olduğunu ve *MspI* enzimi için kesim bölgesi oluşturduğunu

saptamışlardır. Lan ve ark., (2008)'nın, Moğol Kaşmir keçi ırkı üzerinde 3. ekzondaki bu mutasyonla kaşmir verimi arasındaki ilişkileri inceledikleri çalışmalarında, heterozigot TC genotipli bireylerin diğer iki genotipe sahip bireylere göre daha fazla kaşmir verimine sahip olduğunu bildirmişlerdir. Çin ırklarında yapılan başka bir çalışmada 1. ekzonda 875. nükleotide C→T transisyonu ve bunun vücut büyüklüğü ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (Ma ve ark.,2010). Jain ve ark., (2009)'nın LALBA geni ile ilgili olarak, Hindistan yerli keçi populasyonları üzerinde yaptıkları çalışmalarında, dört ekzondan, 1., 2., ve 3., ekzonları monomorfik olarak bildirilirken, 4. ekzonun kodlama yapmayan 190. ve 263. nükleotid bölgelerinde iki adet T→C transisyonu tespit edilmiş ve bunlardan 190. bölge için bir *MaeIII* kesim bölgesi oluştuğu saptanmıştır.

Keçi; farklı beslenme ve çevre koşullarına adaptasyon yeteneği ile hem hayvan yetiştiriciliğinde, hem de hayvan genetik kaynağı olarak özel bir önemi vardır. Türkiye'nin keçi varlığının % 96 gibi önemli bir kısmını Kıl Keçisi oluşturmaktadır ve tüm bölgelere yayılmıştır (Atay ve ark., 2011). Gökçeada'da serbest koşullarda yetiştirilmekte ve adadaki çevre şartlarına oldukça iyi adapte olmuş Gökçeada Keçisi (Atay ve ark., 2011)'nin Kıl Keçisinin bir varyetesi olduğu düşünülmektedir (Erdoğan, 2012). Melezlemelere karşı korunduğu ve süt veriminin Kıl Keçisine göre daha fazla olduğu bildirilmiştir (Daş ve ark., 2002; Tölü ve ark., 2010). İsviçre kökenli, yüksek süt verimli bir ırk olan Saanen Keçisi Türkiye'ye ilk olarak 1959 senesinde getirilmiş ve yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Ekonomik anlamda önemli olabilecek özellikler ile ilişkili olabilecek gen bölgeleri ile yapılan çalışmalar daha çok sığır ve koyunda yoğunlaşmış, sahip olduğu öneme rağmen keçi ırklarında konuyla ilgili yapılmış çalışma sayısı hem dünyada hem de Türkiye'de çok sınırlıdır. Pek çok ülkede keçi ırklarında süt protein genleri ile ilgili çalışmalar süt kompozisyonu ve üretim özelliklerine olan etkilerinden dolayı  $\alpha$ -S1 kazeinde yoğunlaşmış, bu gende oldukça fazla sayıda polimorfizm bildirilmiş ve Amerika ve Avrupa ülkelerinin bir kısmında bunların üretim özellikleri ile aralarındaki ilişkiler aydınlatılarak (Grosclaude ve ark., 1994; Trujillo ve ark., 1998; Bevilacqua ve ark. 2002; Sacchi ve ark. 2005; Martin ve ark.2002; Leroux ve ark. 2003; Ramunno ve ark.2005) bunlardan ıslah programlarında yararlanılmaya başlanmıştır (Manfredi ve ark., 2010; Sánchez ve ark., 2005; Serradilla, 2006; Dagnachew ve ark., 2011; Anonim, 2012). Yapılan literatür çalışması sonucunda Türkiye'de keçideki süt proteinlerinden  $\beta$ -laktoglobulindeki genetik

varyasyonun hem protein (Özgül ve Asal, 2002; Türkyılmaz, 2003) hem de DNA düzeyinde incelendiği (Elmaci ve ark., 2009) çalışmaları bulunduğu gözlenirken, kazeinlerdeki ve sütün diğer serum proteini olan laktoalbumindeki genetik varyasyonun araştırıldığı herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada, Türkiye'de yetiştirilen üç önemli keçi ırkı olan Gökçeada, Saanen ve Kıl keçi ırkı populasyonlarına ait örneklerde LALBA geninin üçüncü ekzonundaki *MvaI* kesim bölgesi farklılıklarının PCR-RFLP yöntemiyle incelenmesi ve ilgili populasyonlarda allel ve genotipik varyasyonların ortaya konması amaçlanmıştır.

## Materyal ve Yöntem

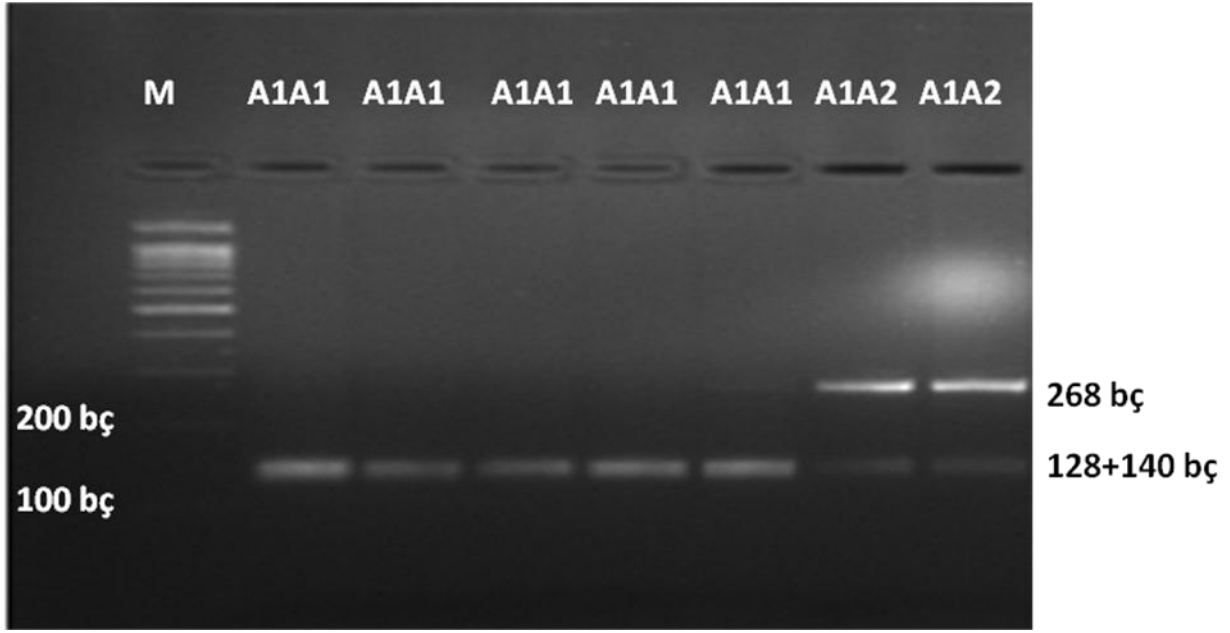
Bursa'da yetiştirilen Kıl keçisi (n=27) ve Saanen keçisi (n=13) ile Gökçeada'da yetiştirilen Gökçeada keçisinin (n=18) boyun toplardamarından K3EDTA içeren 5 ml'lik vakumlu tüplere alınan kan örnekleri soğuk zincir altında laboratuara getirilmiş ve kanlardan genomik DNA'ları ticari kit (Fermentas, K0512) kullanılarak izole edilmiştir. Elde edilen genomik DNA'larda LALBA lokusunun 3. ekzonuna ait 268 bp'lik bölge, Cosenza ve ark., (2003)'nin bildirdiği metoda bazı modifikasyonlar uygulanarak oluşturulan PCR metoduna göre çoğaltılmış, elde edilen PCR ürünleri *MvaI* kesim enzimi ile 37 °C'de 4 saat kesilmiştir. Daha sonra elde edilen kesim ürünleri %3'lük agaroz jelde UV altında ve ethidium bromid varlığında gözlenmiştir.

Allel frekanslarının hesaplanması ve populasyonların Hardy-Weinberg dengesinde olup olmadıklarının kontrolünde POPGENE programı kullanılmıştır.

## Sonuçlar ve Tartışma

Keçi LALBA lokusunun 3. ekzonuna ait 268 bp'lik bölgenin ve *MvaI* kesim enzimi ile kesilmesi sonucunda, incelenen tüm keçi ırklarında A1 ve A2 olarak iki allel ve A1A1 (128+140 bp) ve A1A2 (128+140, 268 bp) olarak iki genotip belirlenirken, A2A2 genotipi gözlenmemiştir (Çizelge 1).

Çalışmada, Gökçeada, Saanen ve Kıl keçisi ırklarında predominant olarak tespit edilen A1 allellinin frekansı sırasıyla 0.926, 0.972 ve 0.962 olarak bulunmuştur (Çizelge 1). A1A2 genotipine sahip birey sayısı Gökçeada ve Saanen populasyonlarında bir adetken, Kıl keçisi populasyonunda 4 adet olarak belirlenmiştir. Her üç populasyonun da Hardy-Weinberg dengesinde (P>0.05) olduğu belirlenmiştir (Çizelge 1). Elde edilen sonuçlar diğer ülkelerdeki keçi ırkları ile yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlarla da uyumludur;



Şekil 1. LALBA geninin 3. ekzonuna ait 268 bç'lik bölgenin ve *MvaI* kesim enzimi ile kesilmesi sonucunda gözlenen genotiplerin agaroz jellerde gözlenmesi (128 ve 140 bç uzunluğundaki parçalar agaroz jelde tam ayrılmadığından birlikte değerlendirilmiştir.)

Çizelge 1. LALBA lokusundaki allel ve genotip frekansları ve allellere ait parça büyüklükleri

İrk	n	Genotip			Allel Frekansları		$\chi^2$
		A1A1 (128+140bç)	A1A2 (128+140, 268bç)	A2A2 (268 bç)	A1	A2	
		Genotip Frekansları (%)					
Kıl Keçi	27	85.19	14.81	-	0.926	0.074	0.173 <sup>Ö.D.</sup>
G. Ada	18	94.4	5.6	-	0.972	0.028	0.015 <sup>Ö.D.</sup>
Saanen	13	92.3	7.7	-	0.962	0.038	0.021 <sup>Ö.D.</sup>

Ö.D.: P>0.05 düzeyinde önemli değil

İtalya'daki keçi ırklarında yapılan çalışmada A1 alleli ve A1A1 genotipi predominant olarak belirlenmiştir (Cozenza ve ark., 2003). Hindistan yerli keçi ırklarında gerçekleştirilen çalışmada ise A1 alleli monomorf bulunurken, 3. ekzonda başka bir mutasyona rastlanmamıştır (Jain ve ark., 2009).

Hayvansal üretim açısından son derece önemli bir yere sahip keçi yetiştiriciliğinde Türkiye'deki durum pek iç açıcı görülmemekte, Keçi yetiştiriciliği hem sayısal olarak hem de verim bakımından gerilemektedir. Ayrıca sistemli ıslah ve yetiştiricilik programlarından da yoksundur (Kaymakçı ve Aşkın, 1997). Bu nedenle Türkiye'de yetiştiriciliği yapılan keçi ırklarının çeşitli özellikler bakımından tanımlanması, genetik yapılarının ortaya konması ve gerçekçi ıslah ve yetiştiricilik programlarının oluşturulması gerekmektedir. Ekonomik

anlamda önemli olabilecek genlerdeki polimorfizmlerin seleksiyon programlarında kullanılabilmesi için öncelikle bu polimorfizmlerin populasyondaki frekanslarının incelenmesi gereklidir. Sonuç olarak, sunulan çalışmada Türkiye'de yetiştirilen bazı keçi ırklarına ait LALBA geni *MvaI* polimorfizmi hakkında önemli sayılabilecek sonuçları ortaya koymuştur. Ancak populasyonların LALBA geni varyasyonlarının ortaya konması, daha genel sonuçlara ulaşabilmek ve ıslah programlarında yararlanılması amacıyla farklı yöntemlerin kullanılması ve çalışmaların yapılması gerekmektedir.

### Kaynaklar

Anonim,2012.

[http://www.adga.org/index.php?option=com\\_content&view=article&id=243:alpha-s1-casein-](http://www.adga.org/index.php?option=com_content&view=article&id=243:alpha-s1-casein-)

- [testing&catid=49:member-dna-service&Itemid=203](#)  
(5 Haziran 2012)
- Atay, O., Gökdal, Ö., Konyalı, A., Keskin, M. 2011. Türkiye'de yetiştirilen keçi genotipleri. Tarım Günlüğü (Agricultural Agenda) 1(3): 103-109.
- Bell, K., Hopper, K. E., Mckenzie, H.A. 1981. Bovine  $\alpha$ -lactalbumin C and  $\alpha$ S1,  $\beta$  and  $\kappa$ -casein of Bali (Banteng) cattle *Bos (Bibos) javanicus*. Aust. J. Biol. Sci. 34: 149-159.
- Bevilacqua, C., Ferranti, P., Garro, G., Veltri, C., Lagonigro, R., Leroux, C., Pietrola, E., Addeo, F., Pilla, F., Chianese, L., Martin, P. 2002. Interallelic recombination is probably responsible for the occurrence of a new  $\alpha$ s1-casein variant found in the goat Species. Eur. J. Biochem. 269: 1293-1303.
- Bleck, T. G. and R. D. Bermel. 1993. Correlation of the  $\alpha$ -lactalbumin (+15) polymorphism to milk production and milk composition of Holsteins. J. Dairy Sci. 76: 2292-2298.
- Blumberg, B.S., Tombs, M.P. 1958. Possible polymorphism of bovine  $\alpha$ -lactoalbumin. Nature 181: 683-684.
- Cosenza, G., Gallo, D., Illario, R., Di Gregorio, P., Senese, C., Ferrara, L., Ramunno, L. 2003. A *Mva*I PCR-RFLP detecting a silent allele at the goat  $\alpha$ -lactalbumin locus. J. Dairy Res. 70: 355-357.
- Dagnachew, B. S, Thaller, G., Lien, S, Ådnøy, T. 2011. Casein SNP in Norwegian goats: additive and dominance effects on milk composition and quality. Genet. Sel. Evol. 43(1): 31. [10.1186/1297-9686-43-31](https://doi.org/10.1186/1297-9686-43-31)
- Ebner, K., Brodbeck, U. 1968. Biological role of alpha-lactalbumin: a review. J. Dairy Sci. 51(3): 317-322.
- Elmaci, C., Öner, Y., Koyuncu, M. 2009. Allelic frequencies of a *Sac*II RFLP at exon 7 of the goat  $\beta$ -lactoglobulin gene in Turkish breeds. Asian Journal of Animal and Veterinary Advances 4(3): 130-133.
- Erdoğan, İ. 2012. Kişisel Görüşme. T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü Koyunculuk Araştırma İstasyonu Müdürlüğü. Bandırma, Türkiye. [ierdogan@kai.gov.tr](mailto:ierdogan@kai.gov.tr)
- Gökçe, O., Engindeniz, S. 1997. Keçi yetiştiriciliğinin ekonomisi. Ed: Kaymakçı, M., Aşkın, Y. Keçi Yetiştiriciliği. Baran Ofset, Ankara, s: 4-32.
- Grosclaude, F., Ricordeau, G., Martin, P., Remeuf, F., Vassal, L., Bouillon, J. 1994. Du gène au fromage: le polymorphisme de caséine  $\alpha$  s1 caprine, ses effets, son évolution. INRA Prod. Anim. 7(1): 3-19.
- Hall, L., Emery, D.C., Davies, M.S., Parker, D., Craig, R.K. 1987. Organization and sequence of the human alpha-lactalbumin gene. Biochem. J. 242: 735-742.
- Hayes H, Popescu P., Dutrilax B. 1993. Comparative gene mapping of lactoperoxidase, retinoblastoma, and alpha-lactalbumin genes in cattle, sheep and goat. Mamm. Genome. 4: 593-597.
- Jain A., Gour, D.S., Bisen, P.S., Prashant, P., Dubey, P., Sharma, D.K., Joshi, B.K., Kumar, D. 2009. Single nucleotide polymorphism (SNP) in alpha-lactalbumin gene of Indian Jamunapari breed of *Capra hircus*. Small Rum. Res. 82: 156-160.
- Jenness, R. 1982. Inter-species comparison of milk proteins. In: Fox, P.F. (Ed.), Developments in Dairy Chemistry Proteins, Vol. 1. Applied Science Publishers, New York, pp. 87-114.
- Jung, A., Sippel, A.E., Grez, M., Schtitz, G. 1980. Exons encode functional and structural units of chicken lysozyme. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 71: 5159-5763.
- Kuhn, N.J. 1983. Biochemistry of Lactation. Metham, T.B. (Ed.), Elsevier. New York. pp. 159-176.
- Laird, J.E., Jack, L., Hall, L., Boulton, A.P., Parker, D., Craig, R.K. 1988. Structure and expression of the guinea-pig alpha-lactalbumin gene. Biochem. J. 254: 85-94.
- Lan, X.Y., Pan, C.Y., Chen, H., Zhang, C.L., Zhang, A.L., Zhang, L., Li, J.Y., Lei, C.Z. 2007. An *Msp*I PCR-RFLP detecting a single nucleotide polymorphism alpha-lactalbumin gene in goat. Czech J. Anim. Sci. 52: 138-142.
- Lan, X.Y., Chen, H., Tian, Z.Q., Liu, S.Q., Zhang, Y.B., Wang, X., Fang, X.T. 2008. Correlations between SNP of *LALBA* gene and economic traits in Inner Mongolian white cashmere goat. Hereditas (Beijing) 30(2): 169-174.
- Leroux, C., Le Provost, F., Petit, E., Bernard, L., Chilliard, Y., Martin, P. 2003. Real-time RT-PCR and cDNA macroarray to study the impact of the genetic polymorphism at the  $\alpha$ s1-casein locus on the expression of genes in the goat mammary gland during lactation. Reprod. Nutr. Dev. 43: 459-469.
- Ma, R.N., Deng, C.J., Zhang, X.M., Yue, X.P., Lan, X.Y., Chen, H., Lei, C.Z. 2010. S-novel SNP of alpha-lactalbumin gene in chinese dairy goats. Mol. Biol. 44(4): 608-612.
- Manfredi, E., Serradilla, J.M., Leroux, C., Martin, P., Sánchez, A. 2000. Genetics for milk production. Seventh International Conference on Goats. INRA, Paris, France. p: 191-196.
- Martin, P., Szymanowska, M., Zwierchowski, L., Leroux, C. 2002. The impact of genetic polymorphisms on the protein composition of ruminant milks. Reprod. Nutr. Dev. 42: 433-459.
- Özdil, F., Asal, S. 2002. Polymorphism of  $\beta$ -Lactoglobulin. 3. Ulusal Zootečni Kongresi. 14-16 Eylül, Ankara.

- Qasba, P.K., Safaya, S.K. 1984. Similarity of the nucleotide sequences of the rat  $\alpha$ -lactalbumin and chicken lysozyme genes. *Nature* 308: 377–380.
- Peters, C.W.B., Kruse, U., Pollwein, R., Grzeschik, K.H., Sippel, A.E. 1989. The human lysozyme gene: sequence organization and chromosomal location. *Eur. J. Biochem.* 182: 507–516.
- Ramunno, L., Cosenza, G., Rando, A., Pauciullo, A., Illario, R., Gallo, D., Di Berardino, D., Masina, P. 2005. Comparative analysis of gene sequence of goat CSN1S1 F and N alleles and characterization of CSN1S1 transcript variants in mammary gland. *Gene*. 345: 289-299.
- Sánchez, A., Ilahi, H., Manfredi, E., Serradilla, J.M. 2005. Potential benefit from using the  $\alpha$ (s1)-casein genotype information in a selection scheme for dairy goats. *Anim. Breed. Genet.* 122(1): 21-29.
- Serradilla, J.M. 2006. The Goat  $\alpha$ 1-casein Gene: A paradigm of the use of a major Gene to improve milk quality. *Options Mediteraneennes* 99-106.
- Tölu, C., Yurtman, Y. İ., Savaş, T. 2010. Gökçeada, Malta ve Türk Saanen keçi genotiplerinin süt verim özellikleri bakımından karşılaştırılması. *Hayvansal Üretim* 5(1): 8-15.
- Trujillo, A.J., Jordana, J., Guamis, B., Serradilla, J.M., Amills, M. 1998. El polimorfismo del gen de la caseína  $\alpha$ 1 caprina y su efecto sobre la producción, la composición y las propiedades tecnológicas de la leche y sobre la fabricación y la maduración del queso. *Food. Sci. Tech. Int.* 4: 217-235.
- Türkyılmaz, Ö. 2003. Yüksek verimli Saanen keçilerinde süt protein polimorfizmi. Doktora Tezi. Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Bursa.
- Vilotte, J.L., Soulier, S., Mercier, J.C., Gaye, P., Hue-Delahaie, D., Furet, J.P. 1987. Complete nucleotide sequence of bovine  $\alpha$  lactalbumin gene: comparison with its rat counterpart. *Biochimie.* 69: 609–620.
- Vilotte, J.L., Soulier, S., Printz, C., Mercier, J.C. 1991. Sequence of the goat  $\alpha$ -lactalbumin-encoding gene: comparison with the bovine gene and evidence of related sequences in the goat genome. *Gene* 98(2): 271–276.
- Voelker, G.R., Bleck, G.T., Wheeler, N.B. 1997. Single-base polymorphisms within the 5' flanking region of the bovine  $\alpha$ -lactoalbumin gene. *J. Dairy Science* 80(1): 194-197.