

Genetik Karakterizasyonda Mitokondriyal DNA Kullanımı

Memiş ÖZDEMİR Ünsal DOĞRU

Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü, Erzurum (ozdemirm@atauni.edu.tr)

Geliş Tarihi : 22.09.2006

ÖZET: Artan dünya nüfusuna bağlı olarak nicelik ve nitelik bakımından besin maddelerine olan talebin giderek artması, yeterli ve dengeli beslenmenin sağlanmasında çiftlik hayvanlarının önemini daha da artırmakta ve birden fazla verim yönünde geliştirilmelerini zorunlu kılmaktadır. Hayvanvancılıkta, ekonomik önemi olan karakterler üzerinde yapılan seleksiyon ile ırkın sahip olduğu genetik varyasyon daralmakta, bu durum ise popülasyonda genotipik ilerlemeyi zorlaştırmaktadır. Ayrıca, yerli ırkların yetiştirildiği bölgelerde üretimi artırmak amacıyla genetik olarak üstün hayvan ırklarının doğrudan yada dolaylı olarak devreye sokulması, potansiyel önemi olan yerli gen kaynaklarının kaybolma riskini artırmaktadır. Gen kaynaklarının ileride kullanım durumları için korunmaları gerektiğinden, özgün genetik yapılarının belirlenmesi önem arz etmektedir. Son zamanlarda genetik varyasyonun belirlenmesi, filogenetik analiz, seleksiyon ve gıdaların orjinlerinin tespiti gibi çeşitli alanlarda kendine özgü bir çok özelliğe sahip ve moleküler düzeyde tanımlamaya imkan sağlayan mitokondriyal DNA (mtDNA) gibi kalıtım faktörlerinden geniş biçimde faydalanılmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Mitokondriyal DNA, Filogeni, Genetik çeşitlilik, Çiftlik hayvanları.

Using of Mitochondrial DNA for Genetic Characterization

ABSTRACT: Demand for quality and quantity of food substances increases consistently depending on the increasing world population, which has made domestic farm animals more important than they have ever been before to provide efficient and balanced nutrition and forced mankind to develop them in more than one production way. In animal breeding, a genetic variation is confined by the selection of economically important traits, thus it may cause a difficulty for making a genetic improvement in population. In addition, the direct or indirect utilisation of genetically superior animal breeds in the regions where native breeds are reared are the risks for losing the native genetic resources which own potential importance. Determination of specific genetic compositions is very important, since animal genetic resources should be kept for future use. Recently, heritability factors such as mitochondrial DNA (mtDNA) has been utilized widely for a determining the genetic variation, the phylogenetic analysis, selection, and a determination of the food origin due to its various advantage as a molecular tool.

Keywords: Mitochondrial DNA, Phylogeny, Genetic diversity, Livestocks.

GİRİŞ

Artan dünya nüfusuna karşın nicelik ve nitelik açısından azalan tarım alanlarına ilave olarak ortaya çıkan sosyal ve ekonomik gelişmeler dengeli ve yeterli beslenmede hayvansal ürünlere olan talebi giderek artırmaktadır. Bu talebin karşılanmasında, hayvan başına elde edilen verimin artırılması büyük önem taşımaktadır. Verim artışının sağlanmasında çevre şartlarının iyileştirilmesi ve klasik ıslah metodları ile doyuma ulaşıldığında, genotipin iyileştirilmesi hususunda daha sonraki generasyonlarda kalıtsal moleküler markerlara artan düzeylerde yer verilmektedir. Ayrıca bir çok moleküler yöntemle elde edilebilen bu markerlar hayvan yetiştiriciliğinde sadece ıslah amaçlı değil son zamanlarda popülasyon genetiği çalışmalarında ve gıda sanayinde de kullanım alanları ile yoğun ilgi çekmektedir.

Popülasyonlardaki genetik varyasyon, bireylerde DNA düzeyinde moleküler genetik yöntemler kullanılarak ortaya konabilmektedir. Tek yumurta ikizleri dışında eşeyli çoğalan canlılarda her birey, moleküler yöntemlerle belirlenebilen kendine özgü bir genotipik kompozisyona sahiptirler. Son yıllarda hızla gelişen bu yöntemler, her birey için parmak izine benzetilebilecek farklı bir genetik profil ortaya koymaya imkan sağlamaktadır. Bireyler arasındaki

genetik varyasyonun, nükleotid bazındaki değişimi belirleyebilecek kapasitedeki hassas yöntemlerle kolay bir şekilde ölçülebilmesi, araştırmacıları DNA markerları ile çalışmaya teşvik etmektedir. Genetik marker olarak protein veya DNA kullanılırken, araştırmacılar temel prensipleri ortak olan çok sayıda yöntemi çalıştıkları materyale göre kolayca modifiye edebilmektedirler. DNA düzeyinde polimorfizm belirleme yönteminde aranacak özellikler arasında; genetik polimorfizmi belirleme derecesi, analitik ve istatistikî olarak değerlendirilebilmesi, sonuçların tekrarlanabilirliği ve kısa sürede elde edilebilmesi, ayırım gücünün yüksekliği, ekonomik olması ve kolay uygulanabilmesi şeklinde sıralanabilir.

Mitokondri

Kalıtımın kaynağı olarak çekirdek ve stoplazmik yapıdan söz edilmektedir. Stoplazmik kalıtım ünitesi bitkilerde kloroplastken, hayvan ve insanlarda mitokondridir. Mitokondri genel olarak tüm ökaryotlarda bulunan ve hücresel reaksiyonlar için gerekli enerjinin sağlandığı hücrenin en önemli organellerindedir. Mitokondri, çift zarla çevrilidir ve büyüklüğü 0.5-1 µm olup her bir hücredeki sayıları 500-1000 arasında değişmesine karşın bu sayının yumurta hücrelerinde embriyogenesis

öncesinde replikasyon olmaması ve daha fazla enerjiye ihtiyaç duyulması gibi sebeplerle 10000'lere ulaştığı bildirilmektedir (Cummins 1998; Rokas vd. 2003). Mitokondri üre siklusu, glukoneogenez, β -oksidasyon, krebs siklusu ve en önemlisi de oksidatif fosforilasyonda görevli yüzlerce proteini barındırıp hücrenin enerji santrali görevini üstlenerek toplam enerjinin %90'dan fazlasını üretmektedir. Mitokondride ayrıca laktasyonun kısmi bir evresini oluşturan birkaç metabolik reaksiyonun da gerçekleştiği bölgelerinin olduğu bildirilmektedir (Freeman 1995; Boettcher vd. 1996).

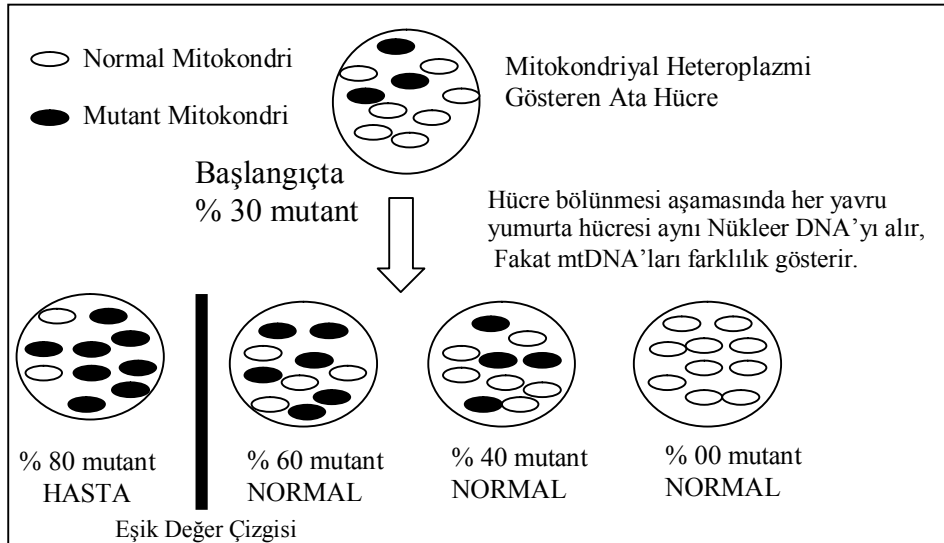
mtDNA ve Özellikleri

Mitokondri içerisinde kendine has özelliklere sahip ve bir çok fonksiyonun yürütülmesinde rol oynayan DNA molekülü mevcuttur. ADP (Adenozindifosfat)'den ATP (Adenozin trifosfat) üretmek için gerekli olan 13 elektron taşıma zinciri proteini, 2 adet rRNA ve 22 adet tRNA geni dahil toplam 37 geni kodlayarak kalıtılan ve dairesel bir yapı sergileyen mtDNA, sığırdan 16338 bç (baz çifti) (Anderson vd. 1982), koyunda 16616 bç (Hiendleder vd. 1998) ve domuzda 16679 bç (Ursing ve Arnason 1998) olarak bildirilmiştir.

Mutasyon hızı oldukça yüksektir. mtDNA'nın yüksek memelilerde nükleer DNA'dan daha hızlı değişime uğradığı bir çok araştırmacı (Upholt ve Dawid 1977; Brown vd. 1979) tarafından bildirilmiştir. Ayrıca, Avise (1991), mtDNA'nın D-loop bölgesinin mutasyon hızının diğer kısımlarına göre %2-4 kat, nükleer DNA'ya göre ise en az 10 kat daha hızlı olduğunu bildirmektedir. mtDNA'nın etkili bir tamir mekanizmasından yoksun olması (Bogehagen 1999), histon gibi koruyucu proteinlerin görülmemesi, iç mitokondriyal membranda meydana

gelen oksidatif fosforilasyon ile açığa çıkan oldukça yüksek mutajenik etkiye sahip oksijen radikalleriyle fiziksel ilişki içerisinde bulunması (Richter 1988), ayrıca mevcut mutant mitokondrinin etkisi ile mtDNA mutasyon hızının artması (Lightowers vd. 1997) gibi faktörler, mtDNA'da meydana gelen polimorfizmin nükleer DNA'dan daha yüksek oranda görülmesinin muhtemel sebeplerini oluşturmaktadır. Bunlara ilave olarak, dişi üreme hücrelerinde bölünme sayısının düşük olması ve olgun yumurta hücresinde mtDNA kopya sayısının yüksek olmasına rağmen, mtDNA dizisinde generasyonlar arasında yüksek farklılıklar görülebilmektedir (Poulton vd. 1998). Bu sayılan özelliklerin genetik homozigotlaşmayı önlemede ve herhangi bir türün yok olma sınırı olarak kabul edilen darboğaz (Bottleneck) durumlarını aşmada büyük katkılar sağladığı ifade edilebilir.

mtDNA sayısı oldukça fazladır ve bağımsız olarak kalıtım sergilemektedirler. Her bir hücre yüzlerce mitokondriye ve her bir mitokondri de 2-10 adet kopya mtDNA molekülüne sahiptir. Hücre bölünmesinde mitokondriyer ve genomları yavru hücrelere replikatif segregasyon ile rastgele dağılmaktadır. Nükleer DNA'dan bağımsız olarak replikasyon yapan mtDNA, bu otonom özelliği nedeniyle hücre bölünmesi sırasında heteroplazmik bir segregasyon gösterebilir. Bir hücredeki tüm mtDNA'ların aynı olması hali homoplazmi, mutant ve normal mtDNA'ların bir arada bulunması hali ise heteroplazmi olarak adlandırılmaktadır. Mutant mtDNA'nın oranı doku içerisinde belli bir seviyenin (eşik değer/threshold effect) üzerine çıkıncaya kadar fenotip normaldir (Şekil 1). Bu eşik değer mutasyondan mutasyona farklılık göstermekle birlikte bir kez aşıldığında, mutasyondaki küçük artış



Şekil 1. Mitokondriyal Heteroplazmi ile Normal ve Mutant Mitokondrinin Gelecek Nesile Aktarılması.

oranlarına karşılık fenotipte giderek artan seviyede daha büyük değişiklikler oluşturabilmektedir (Saara 1999). Üstelik her doku normal fonksiyonları için oksidatif fosforilasyona aynı derecede bağımlılık göstermemektedirler. Çok yüksek enerji gereksinimi olan ve çok düşük yenilenebilirlik kapasitesine sahip beyin, kalp ve iskelet kası gibi organların patojenik mtDNA mutasyonlarına çok daha duyarlı oldukları bildirilmektedir (Wallace 1994,1995).

mtDNA maternal olarak kalıtım sergiler. Bir anne kendi sahip olduğu mtDNA'larını tüm yavrularına aktarırken, sadece dişi yavruları sonraki generasyona mtDNA'larını aktarmakta ve erkek yavrular aktaramamaktadır. Manfredi vd. (1997) yaptıkları çalışmalarında, sperm mitokondrilerinin fertilizasyon esnasında yumurtaya girebildiğini ancak fertilizasyondan sonra embriyogenesinin iki veya dört hücre aşamasında iken kaybolduğunu bildirmiştir. Bunun yanı sıra paternal mtDNA'ya in vitro fertilizasyonda da rastlanılmamıştır (Kaneda vd. 1995; Cummins, 1998; Danan vd. 1999). Buna karşılık Zhao vd. (2001a, 2004) koyun populasyonları üzerinde birçok koyunun mtDNA'sı üzerinde yaptıkları çalışmalarında mtDNA'nın paternal olarak da kalıtım sergilediğini bildirmiş ve bu konuda tartışmalara yol açmıştır.

Bir çok metabolik reaksiyonun gerçekleştiği yerdir. Oksidatif fosforilasyon, oksidatif yıkım ürünlerinden alınan elektronların moleküler oksijene aktarılırken açığa çıkan enerji ile ADP'den ATP sentezlenmesi olayıdır ve mitokondrinin iç membranında gerçekleşmektedir. Sitrik asit siklusu ve yağ asitlerinin oksidasyonu yine iç membranda ve matrikse yakın bir yerde gerçekleştiği bildirilmektedir (Solak vd 2000).

mtDNA, boyutu küçük ve elde edilmesi kolay olması nedeniyle bir çok moleküler yöntemin (DNA dizileme, PCR, RFLP, SSCP, SNP, v.s.) kullanımına elverişlidir. PCR-RFLP (Polimerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length polymorphism) ya da RFLP metodunun mtDNA'ya uygulanması ile hem türler ve populasyonlar arasında hem de içerisindeki ayrıntılı ilişkileri ortaya koymada yararlı metod olarak bildirilmektedir (Uphold ve David 1977; Hecht 1990). Ayrıca moleküler yöntemlerin mtDNA'ya uygulanması ile genetik mesafe, populasyondaki varyasyon, gen akışı, etkili populasyon büyüklüğü, bireyin biyografisi, ortak ebeveyn veya prenatal tanı, gen klonlanması, doku tiplmesi ve enfeksiyon ajanlarının tespiti gibi çalışmaların yapılabilirdiği belirtilmektedir (Meghen vd. 2002; Anonim 2005). mtDNA vasıtasıyla farklı populasyonların birbirleri ile ne derecede akraba olduklarının tespiti sayesinde ırklardaki genetik varyasyonun araştırılması, filogenetik ilişkinin tespiti, ve başarılı yetiştirme stratejilerinin geliştirilmesinde yetiştiricilere yardımcı olunduğu

bildirilmektedir (Zhang ve Shi 1992; Chen ve Leibenguth 1995).

mtDNA'nın Kullanım Alanları

Nükleer DNA'da mutasyonun mtDNA'ya göre daha yavaş seyretmesine karşılık, genlerin her iki ebeveyninden rastgele kalıtılması ve de crossing-over ile meydana gelecek yeni rekombinant bireylerin belirtilen mekanizmalardan hangisi ile ortaya çıktığı gerçeğini açıklamada yetersiz kalmaktadır. Buna karşılık mtDNA; mutasyon hızının nükleer DNA ile karşılaştırıldığında 5-10 kat daha yüksek olması nedeniyle aynı generasyon içerisindeki mutasyonları dahi gösterebilmesi, maternal olarak kalıtılarak klonal kalıtım özelliği taşıması, rekombinasyon göstermemesi, bir hücre içerisinde çok fazla sayıda kopyasının bulunması ve haploid özellik göstermesi (Cann vd. 1987; Rokas vd. 2003) gibi avantajlarıyla bireylerin filogenisindeki nasıl, nerede ve ne zaman gibi sorularına daha net cevap sunabilmekte ve alternatif marker olarak genetik çalışmalarda başarılı bir şekilde yer almaktadır.

Hayvan ırklarının filogenetik yapısının ortaya konmasında kullanılmaktadır. Bir ırka ait eldeki bir hayvanı tanımlamak için deri renginden testis büyüklüğüne kadar değişebilen çeşitli fenotipik karakterler kullanılırken bu amaçla kantitatif karakterlerden faydalanmak zor olmaktadır. İrk içi karşılaştırmalarda herhangi bir anlamlılık sağlamayacağından bu çeşit bilgiler ırkı tanımlamada da yetersiz kalmaktadır. Örneğin kan protein tipleri, karyotipleme ve immunolojik deneyler ile elde edilen fenotipik karakterlere ait verilerle yakın akrabalı sığır ırkları arasındaki farklılıkları çözmek mümkün olamamaktadır. Bu sorunun, genomu doğrudan incelemeye dayalı moleküler tekniklerin kullanılmasıyla çözülebildiği bildirilmektedir (Meghen vd. 2002). Ayrıca ırk içi ve ırklar arası varyasyonu değerlendirmek ve ırklar arası ilişkileri ortaya koymak bakımından seçilecek markerların polimorfik olması gerektiği ve ancak bu şekildeki gözlemler ile benzerliklerin ortaya konabileceği açıklanmaktadır (Meghen vd. 2002). mtDNA rekombinasyon geçirmediği için annesel de olsa ırkların birbirleri ile ve yabancı türlerle filogenetik ilişkilerini ortaya çıkarması ve böylece evcilleştirme merkezlerinin yerini göstermesi bakımından avantaj sağladığı belirtilmiştir (Troy vd. 2001; Hiendleder vd. 2002). Örneğin evcil sığırların iki farklı bölgede evcilleştirildiği ve bu sığır ırklarının Yakın Doğu'da hörgücsüz Taurin ırkı (*Bos taurus*) ile Hindistan'ın Indus vadisinde hörgüçlü Zebu ırkı (*Bos indicus*) olduğu hem mikrosatellitler hem de mtDNA verileri kullanılarak ispatlanmıştır (Loftus vd.1999; Troy vd. 2001; Bruford vd. 2003). Ayrıca o zamana kadar farklı bir evcilleştirme merkezinde evciltildiği kabul edilen Afrika Zebu'su sığırların annelerinin Taurin,

babalarının ise Zebu sığırları olduğu mtDNA analiz sonuçları sayesinde ortaya konmuştur (MacHugh vd. 1997; Troy vd. 2001; Cunningham 2003). Bu araştırmalar dış görünümün ve tek yönlü yapılan analizlerin ırk gurupları içinde bir ırkın yerinin tanımlanmasında yanıltıcı sonuçlar verebileceğini açıkça göstermektedir. Koyun ve keçi'de yapılan genetik analizler de, arkeolojik verileri destekleyerek Anadolu'nun Doğu ve Güneydoğu'suna yakın merkezin büyük bir olasılıkla bu türler için evcilleştirmenin başladığı en eski merkez olduğunu göstermektedir (Loftus vd.1994; 1999; Luikart vd. 2001). Ayrıca Hiendleder vd. (1998), koyunlara ait mtDNA üzerinde yaptıkları çalışmalarında koyunların orjinleri ve filogenetik yapılarına ait bilgiler ortaya koymuşlar ve koyun ile sığırın evrimsel ayrılım zamanlarının yaklaşık 30 milyon yıl önce olduğunu tahmin etmişlerdir.

Hayvan ıslahında marker olarak kullanılmaktadır. mtDNA'nın sahip olduğu yukarıda sayılan avantajları yanında, mutasyon hızı dolayısıyla görülen varyasyonların yüksek düzeyde bulunması, polimorfik yapı gösteren markerlar ile verim özellikleri arasındaki varyasyonları ilişkilendirme çalışmaları konusunda araştırmacılara farklı bir bakış açısı kazandırmıştır. Bu sayede çok yönlü verim özelliği taşıyan ırkların korunması suretiyle, bu ırkların et, süt gibi verim özelliklerinin ıslahını sağlamak, hastalıklara dayanıklılıklarını artırmak ve yetiştiricilere daha fazla kar sağlamak amacıyla uygulanan stratejilerle genetik alanında sağlanan gelişmeler birlikte ele alındığında ırkın genetik kompozisyonunda istenilen formların oluşturulması ve ıslah çalışmaları hem daha kısa sürede hem de daha etkili olarak yapılabilmektedir. Islah çalışmalarında DNA seviyesinde yapılan çalışmalar ile dolaylı seleksiyondan yararlanmak için, ilgili gen içinde veya o gene çok yakın bir bölgede bulunan ve DNA segmentiyle bir sonraki generasyona aktarılan polimorfik bölgelerin tespiti amaçlanmaktadır. Tespit edilen bu polimorfik bölgeler marker olarak adlandırılmaktadır. Bu markerların tespiti ise moleküler yöntemler aracılığı ile yapılabilmekte ve tespit edilen markerların verim varyansı üzerine etkileri kolayca analizlerle ortaya konulabilmektedir. Nitekim Kantitatif Özellik Lokuslarının (QTL) haritalanmasında doğrudan ekonomik verimlerle ilgili gen üzerinde çalışmak yerine, dolaylı yünden ilişkili genetik markerları tanımlamak daha kolay ve etkili bir yol olarak bildirilmektedir (Ge vd. 2002).

mtDNA moleküllerinin toplam büyüklüğü, gen transkripsiyon ve translasyon ürünlerinin varlığı ve mitokondriyal oksidatif enerji transdüksiyonunun tamamı mtDNA'daki varyasyonlar tarafından etkilenebilmektedir (Brown vd. 1989). Resiprokal çaprazlarda, paternal ırktan gelen nükleer genin aynı oranına sahip olduklarından, resiprokallerin

performansları arasındaki farklılığın sitoplazmik kalıtım ile açıklanabildiği vurgulanmıştır (Bell vd. 1985).

mtDNA'nın D-loop bölgesi mevcut herhangi bir gen üretmediği için kodlanmamakta ve bu nedenle bu bölgede gerçekleşen dizi varyasyonunun metabolik zincir üniteleri olan özel aminoasit dizilerini değiştirmemesi gerektiği bildirilmektedir. Ayrıca çalışmada mtDNA'nın ağır ve hafif zincirlerinin replikasyon orijinlerine ilave olarak transkripsiyon için gerekli promoter bölgelerin de D-loop bölgesi içinde uzandığı ve bu sebeple mtDNA'daki herhangi bir dizi farklılığının replikasyon ve transkripsiyon üzerine etkisiyle kendisini göstereceği de bildirilmektedir (Schutz vd. 1994). Bazı özelliklerin fenotipe yansımaları doğrudan etkileyen genlerin kodlanma bölgesinde etkili olan böyle bir D-loop polimorfizmi marker olarak kullanılabilir.

Bir çok araştırmacı çiftlik hayvanlarında marker yardımcı seleksiyon (MAS) vasıtasıyla verim artışındaki genetik kazancın oranının yükseltilebileceğini bildirmektedirler; Kashi vd. (1990), marker yardımcı seleksiyon ile çiftlik hayvanlarında genetik kazancın oranının %15-30 kadar artırılabilirliğini bildirmektedirken, Edwards ve Page (1994), marker yardımcı seleksiyon ile beklenen toplam kazancın kullanılan modele bağlı olarak %44,7 den %99,5'e kadar değişebileceğini tahmin etmiştir.

mtDNA maternal olarak kalıtım sergiler ve maternal hatlar arasında süt ve döl verim üstünlüğü farklılıkları önemli olabilir. Nitekim yapılan çalışmalarda, süt ve sütün bileşenleri için hesaplanan fenotipik varyasyonda maternal hattın etkisinin farklı oranlarda olduğu bildirilmektedir (Bell vd. 1985; Huizinga vd. 1986; Schutz vd. 1992).

Daha bir çok araştırmacı, çeşitli çiftlik hayvanlarına ait mtDNA'nın tamamını yada kısmi bir bölgesini yaptıkları çalışmalarında kullanmışlardır. Bu araştırmacıların bazıları sığır ırklarında (Mannen vd. 1998; Troy vd. 2001; Bruford vd. 2003; Mirol vd. 2003; Pfeiffer vd. 2005; Özdemir 2006), koyun ırklarında (Bruford vd. 2003; Tapio vd. 2006), keçi ırklarında (Bruford vd. 2003; Sultana vd. 2003), domuz ırklarında (Bruford vd. 2003; Clop vd. 2004) ve kanatlı hayvanlarda (Nishibori vd. 2001; Shen vd. 2002; Liu vd. 2006) filogenetik yapı hakkında bilgi verirlerken, bazı araştırmacılar sığır ırklarında (Steinborn vd.1998; Sutarno vd. 2002; Carvajal-Carmona vd. 2003) ve koyun ırklarında (Zhao vd. 2001b) sadece polimorfik yapı tespit etmişler ve bazıları da sığır ırklarında (Schutz vd. 1993; Schutz vd. 1994; Bishop vd. 1995; Boettcher vd. 1996; Sutarno vd. 2002; Mannen vd. 2003; Tsuji vd. 2004), koyun ırklarında (Maniatis ve Pollott., 2002; Van-Vleck vd. 2003; Hanford vd. 2003) ve kanatlı hayvanlarda (Park vd. 2006) tespit edilen polimorfik

yapıları çeşitli verim özellikleri ile ilişkilendirmek suretiyle seleksiyon amaçlı kullanımı için marker olma özelliklerini incelemişler ve bu konuda önemli bulgular tespit etmişlerdir.

Gıdaların orjininin tespitinde kullanılmaktadır. İnsan beslenmesinde kullanılan hayvansal orjinli gıdaların hangi türe ait olduğunu, özellikle karışım formunda bulunan gıdaların orjinlerini tespit etmek gerek tıbbi olarak gerekse hukuksal boyutu bakımından önemli olabilmektedir. Bu amaçla araştırmacılar mitokondriyal DNA'nın analizine başvurmakta özellikle üzerindeki bazı bölgelerden yararlanmak zorunda kalmaktadırlar. Nitekim sığır, koyun, keçi, domuz, geyik, tavuk, gaz, ördek, hindi, kedi, köpek, balık, at, eşek, tavşan gibi hayvanların etlerinin ve bazı hayvanlara ait sütlerin ayrımı 12S rRNA geni üzerinde (Sun ve Lin, 2003; Rodriguez vd. 2003; 2004; Lopez-Calleja vd. 2004; Gao vd. 2004; Fajardo vd. 2006), mtDNA sitokrom b geni üzerinde (Meyer vd. 1995; Montiel-Sosa vd. 2000; Herman vd. 2001; Rajapaksa vd. 2003; Peter vd. 2004) çalışılmış ve kullanılan yöntemlerden özellikle AS-PCR (Allele Spesifik PCR) metodu ile % 0.05'e kadar karışım konsantrasyonunda bile ayırımın duyarlı şekilde yapılabildiği bildirilmiştir.

mtDNA sağlıklı yaşam ile ilişkilidir. Enerji üretimindeki kritik önemliliğinden dolayı mitokondri bilim adamlarının büyük ilgisini çekerken, insanlarda mtDNA kalıtım varyantlarının sağlıklı yaşam ve ömür uzunluğuyla ilişkili olduğu bildirilmektedir (Benedictis vd. 1999). Nitekim günümüzde insanlar üzerinde yapılan çalışmalarda mtDNA ile PEO (Progressif Eksternal Oftalmopleji), Alzhemier, Parkinson, LHON (Leber's Herediter Optik Nöropati), NARP (Nöropati Ataksi Retinitis Pigmentoza), Wolfram sendromu, Leigh hastalığı (Subakut nekrotize ansefalomiyelit), Şeker hastalığı (Diabetes mellitus), katarakt ve işitme kaybı gibi hastalıklar arasında ilişkiler bildirilmektedir (Öztaş ve Yakan 2000).

SONUÇ

mtDNA'nın sahip olduğu bir çok avantajı nedeniyle bilim adamları tarafından çeşitli amaçlarla araştırma materyali olarak çalışmalarda kullanılmaya devam edeceği açıktır. Filogenetik çalışmalarda popülasyonlara ait en doğru filogeni haritaları mtDNA, Y-kromozomu (paternal kalıtım) ve otozomal varyasyonların (Mikrosatellitler, SNP vs.) birlikte incelenebildiği analizlerle elde edilebilmektedir. Çünkü hem nükleer DNA hem de maternal kalıtım sergileyen mtDNA kendilerine özgü bir takım avantajlara sahiptirler ve bilgileri beraber kullanıldığı takdirde en doğru sonucu sunacaklardır. Ayrıca bu durumda filogenetik haritanın yapılmasında kullanılan veri sayısının artması sonucun daha doğru olmasını da sağlayacaktır.

Çiftlik hayvanlarının çeşitli verim özelliklerini nitelik ve nicelik olarak daha yükseklerle çekebilmek için sitoplazmik varyasyona dayalı olarak yapılan ıslah çalışmalarının önemli sonuçlar ortaya koyduğu görülebilmektedir. Önemli sitoplazmik etkiler günümüzde yapılan hayvan yetiştiriciliğinde dikkate alınmasa da, gelecekte embriyo transferi, embriyo bölme, dış dölleme vs. gibi teknikler yaygınlık kazandığında ayrı bir yer teşkil edecektir. Son olarak gıdaların hangi türe ait olduğunu, özellikle karışım formunda bulunan gıdaların orjinlerini tespit etmeye olanak sağlaması gerek insan sağlığı olarak gerekse hukuksal boyutu bakımından mtDNA'nın önemine ayrı bir değer kazandırmaktadır.

KAYNAKLAR

- Anderson, S., De Bruijn, M.H., Coulson, A.R., Eperon, I.C., Sanger, F., Young, I.G., 1982. Complete sequence of bovine mitochondrial DNA, conserved features of the mammalian mitochondrial genome. *J. Mol. Biol.* (156):683-717.
- Anonim, (2005). (Online) Erişim: http://www.medicine.ankara.edu.tr/internal_medical/pediatrics/mol-gen/index.php?PgId=73.
- Avise, J.C., 1991. Ten unorthodox perspectives on evolution prompted by comparative population genetic findings on mitochondrial DNA. *Annual Rev. Genetic.* (25):45-69.
- Bell, B.R., McDaniel, B.T., Robinson, O.V., 1985. Effects of cytoplasmic inheritance on production traits in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* (68):2038-2051.
- Benedictis, G.D., rose, G., Carrieri, G., De Luca, M., Falcone, E., Passarino, G., Bonafe, M., Monti, D., Baggio, G., Bertoloni, S., mari, D., Mattace, R., Franceschi, C., 1999. Mitochondrial DNA inherited variants are associated with successful aging and longevity in humans. *The FASEB Journal.* (13):1532-1536.
- Bishop, M.D., Hawkins, G.A., Keener, C.L., 1995. Use of DNA markers in animal selection. *Theriogenology.* (43):61.
- Boettcher, P.J., Stevering, D.W.B., Beitz, D.C., Freeman, A.E., McDaniel, B.T. 1996. Multiple herd evaluation of the effects of material lineage on yield traits of Holstein cattle. *J. Dairy Sci.* (79):655.
- Bogenhagen D. F., 1999. Repair of mtDNA in vertebrates. *Am.J.Hum.Genet.* 64: 1276-1281.
- Brown, W.M., George, M.JR, Wilson, A.C., 1979. Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci.USA* (76):1967-71.
- Brown, W.M., Koehler, C.M., Lindberg, G.L., Freeman, A.E., Mayfield, J.E., Myers, A.M., Scutz, M.M., Beitz, D.C., 1989. Molecular analysis of cytoplasmic genetic variation in Holstein cows. *J. Anim. Sci.* (67): 1926-32.
- Bruford, M. W., Bradley, D.G., Luikart, G. 2003. DNA Markers Reveal The Complexity of Livestock Domestication. *Nature Review Genetics* (4): 900-910.
- Cann, R. L., Stoneking, M., Wilson, A.C., 1987. Mitochondrial DNA and human evolution. *Nature.* (325):31-36.
- Carvajal-Carmona, L.G., Bermudez, N., Olivera-Angel, M., Estrada, L., Ossa, J., Bedoya, G., Ruiz-Linares, Andres., 2003. Abundant mtDNA diversity and ancestral admixture in colombian Criollo cattle (*Bos taurus*). *Genetics.* (165):1457-1463.
- Chen, H., Leibenguth, F., 1995. Restriction endonuclease analysis of mitochondrial DNA of three farm animal species: cattle, sheep and goat. *Comp. Biochem. Physiol.* Vol. 111B, (4): 643-649.

- Clop, A., Amills, M., Noguera, J.L., Fernandez, A., Capote, J., Ramon, M.M., Kelly, L., Kijas, J.M.H., Andersson, L., Sanchez, A., 2004. Estimating the frequency of Asian cytochrome B haplotypes in standard European and local Spanish pig breeds. *Genetics Selection Evolution*, 36 (1): 97-104.
- Cummins, J., 1998. Mitochondrial DNA in mammalian reproduction. *Reviews of Reproduction*, (3):172-182.
- Cunningham, P., 2003. Gene based technologies for the livestock industries in the third millennium. International Symposium on Applications of Gene-based Technologies for Improving Animal Production and Health in Developing Countries, 6-10 October 2003, Vienna.
- Danan, C., Sternberg, D., Van-Steirteghem, A., Cazaneuve, C., Dugesnoy, P., Besmond, C., Gossens, M., Lissens, W., Amsellem, S., 1999. Evaluation of paternal mitochondrial inheritance in neonates born after intracytoplasmic sperm injection. *American J. Human Genet.* (65):463-473.
- Edwards, M.D., Page, N.J., 1994. Evaluation of marker-assisted selection through computer simulation. *Theor. Appl. Genet.* 88:376.
- Fajardo, V., Gonzalez, I., Lopez-Calleja, I., Martin, I., Hernandez, P.E., Garcia, T., Martin, R., 2006. PCR-RFLP authentication of meats from red deer (*Cervus elaphus*), fallow deer (*Dama dama*), roe deer (*Capreolus capreolus*), cattle (*Bos taurus*), sheep (*Ovis aries*), and goat (*Capra hircus*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(4):1144-1150.
- Freeman, A.E., 1995. Overview of Dairy Cattle Breeding. (Online) Erişim: www.extension.iastate.edu/pages/dairy/reports95/breeding/ds1-22.pdf (2003)
- Gao, H.W., Xu, B.L., Liang, C.Z., Zhang, Y.B., Zhu, L.H., 2004. Polymerase chain reaction method to detect canis materials by amplification of species-specific DNA fragment. *Journal of Aoac International*, 87 (5): 1195-1199.
- Ge, W., Davis, M.E., Hines, H.C., Irvin, K.M., 2002. Identification of genetic markers for growth and carcass traits in beef cattle. The Ohio State University Department of Anim. Sci. (Online) Erişim:http://ohioline.osu.edu/sc170/sc170_5.html. (2004).
- Hanford, K.J., Snowden, G.D., Van-Vleck, L.D., 2003. Models with nuclear, cytoplasmic, and for a production traits of Colombia sheep. *J. Anim. Sci.* (81):1926-1932.
- Hecht, W., 1990. Studies on mitochondrial DNA in farm animals. In *genome Analysis in Domestic Animals*, 259-268.
- Herman, L., 2001., Determination of the animal origin of raw food by species-specific PCR. *Journal of Dairy Research*, 68 (3): 429-436.
- Hiendleder, S., Lewalski, H., Wassmuth, R. and Janke, A., 1998. The complete mitochondrial DNA sequence of the domestic sheep (*Ovis aries*) and comparison with the other major ovine haplotype. *Journal of Molecular Evolution*. 47(4): 441-8.
- Hiendleder, S., Kaupe, B., Wassmuth, R., Janke, A., 2002. Molecular analysis of wild and domestic sheep are derived from two ancestral maternal sources: no evidence for contributions from urial and argali sheep. *Journal of Heredity*. 89: 113-120.
- Huizinga, H.A., Korver, S., McDaniel, B.T., Politiek, R., 1986. Maternal effects due to cytoplasmic inheritance in dairy cattle. Influence on milk production and reproductive traits. *Livest. Prod. Sci.*(15):11.
- Kaneda, H., Hayashi, J.I., Takahama, S., Taya, C., Lindahl, K.F., Yonekawa, H., 1995. Elimination of paternal mitochondrial DNA in intraspecific crosses during early mouse embryogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (92):4542-4546.
- Kashi, Y., Hallerman, E., Soller, M., 1990. Marker-assisted selection of candidate bulls for progeny testing program. *Anim. Prod.* (51):63.
- Lightowler, R.N., Chinnery, P.F., Turnbull, D.M., Howell, N., 1997. Mammalian mitochondrial genetics: heredity, heteroplasmy and disease. *TIG* (13): 450-455.
- Liu, Y.P., Wu, G.S., Yao, Y.G., Miao, Y.W., Luikart, G., Baig, M., Beja-Pereira, A., Ding, Z.L., Palanichamy, M.G., Zhang, Y.P., 2006. Multiple maternal origins of chickens: Out of the Asian jungles. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 38 (1): 12-19.
- Loftus, R. T., Ertugrul, O., Harba, A. H., El-Barody, M. A. A., Machugh, D. E., Park, S. D. E., Bradley, D. G., 1999. A microsatellite survey of cattle from a centre of origin: the Near East. *Molecular Ecology* (8): 2015-2022.
- Loftus, R.T., Machugh, D.E., Bradley, D.G., Sharp, P.M., Cunningham, P., 1994. Evidence for Two Independent Domestications of cattle. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (91):2557-2761.
- Lopez-Calleja, I., Gonzalez, I., Fajardo, V., Rodriguez, M.A., Hernandez, P.E., Garcia, T., Martin, R., 2004. Rapid detection of cows' milk in sheeps' and goats' milk by a species-specific polymerase chain reaction technique. *Journal of Dairy Sci.* 87 (9): 2839-2845.
- Luikart, G., Gielly, L., Excoffier, L., Vigne, J.D., Bouvet, J., Taberlet, P., 2001. Multiple maternal origins and weak phylogeographic structure in domestic goats. *PNAS Vol.* 98 (10): 5929. (Online) Erişim:www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.091591198 (2004)
- MacHugh, D.E., Shriver, M.D., Loftus, R.T., Cunningham, P., Bradley, D.G., 1997. Microsatellite DNA variation and the evolution, domestication and phylogeography of taurin and zebu cattle (*Bos taurus* and *Bos indicus*). *Genetics* (146): 1076-1086.
- Manfredi, G., Thyagarajan, D., Papadopoulou, L.C., Pallotti, F., Schon, E.A., 1997. The fate of human sperm-derived mtDNA in somatic cells. *Am. J. Hum. Genet.* (61):953-960.
- Maniatis, N., Pollott, G. E., 2002. Nuclear, cytoplasmic, and environmental effects on growth, fat, and muscle traits in Suffolk lambs from a sire referencing scheme. *J. Anim. Sci.* (80):57-67.
- Mannen, H., Morimoto, M., Oyama, K., Mukai, F., Tsuji, S., 2003. Identification of mitochondrial DNA substitutions related to meat quality in Japanese Black cattle. *J. Anim. Sci.* (81):68-73.
- Mannen, H., Tsuji, S., Loftus, R.T., Bradley, D.G., 1998. Mitochondrial DNA variation and evolution of Japanese Black cattle. *Genetics* (150):1169-1175.
- Meghen, C., Machugh, D.E., Bradley, D.G., 2002. Genetic characterization and West African cattle. (Online) Erişim:www.fao.org/docrep/t1300t/genetic%20characterization (2004).
- Meyer, R., Hoffelein, C., Candrian, U., 1995. Polymerase chain reaction restriction fragment length polymorphism analysis: A simple method for species identification in food. *Journal of Aoac International*, 78 (6): 1542-1551.
- Mirol, P.M., Giovambattista, G., Liron, J.P., Dulout, F.N., 2003. African and European mitochondrial haplotypes in South American Creole cattle. *Heredity* (91):248-254.
- Montiel-Sosa, J.F., Ruiz-Pesini, E., Montoya, J., Roncales, P., Lopez-Perez, M.J., Perez-Martos, A., 2000. Direct and highly species-specific detection of pork meat and fat in meat products by PCR amplification of mitochondrial DNA. *Journal of Agricultural And Food Chemistry*, 48 (7): 2829-2832.
- Nishibori, M., Hayashi, T., Tsudzuki, M., Yamamoto, Y., Yasue, H., 2001. Complete sequence of the Japanese quail (*Coturnix japonica*) mitochondrial genome and its genetic relationship with related species. *Anim. Genet.* 32 (6): 380-385.
- Özdemir M., 2006. Türkiye Yerli Sığır Irklarında Mitokondriyal DNA Polimorfik Yapılarının PCR-RFLP ve DNA Dizi Analizi Yöntemleri ile İncelenmesi Doktora Tezi. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Erzurum.
- Öztaş, S. ve Yakan, B., 2000. Mitokondriyal ve Mitokondriyal DNA Patolojileri. Atatürk Üniversitesi Kazım Karabekir Eğitim Fakültesi Ofset tesisleri, 1-75. Erzurum.

- Park, H.B., Jacobsson, L., Wahlberg, P., Siegel, P.B., Andersson, L., 2006. QTL analysis of body composition and metabolic traits in an intercross between chicken lines divergently selected for growth. *Physiological Genomics*, 25 (2): 216-223.
- Peter, C., Brunen-Nieweler, C., Cammann, K., Borchers, T., 2004. Differentiation of animal species in food by oligonucleotide microarray hybridization. *European Food Research and Technology*, 219 (3): 286-293.
- Pfeiffer, I., Voelkel, I., Breing, B., 2005. Phylogenetics of the European Dahomey miniature cattle based on mitochondrial D-loop region DNA sequence. *International Society for Animal Genetics, Anim. Genet.* (36):179-181.
- Poulton, J., Macaulay V., Marchington D.R., 1998. Is the bottleneck cracked? *Am. J. Hum. Genet.* (62):752-757.
- Rajapaksha, W.S., Thilakaratne, I.P., Chandrasiri, A.N., Niroshan, T.D., 2003. Development of PCR assay for identification of buffalo meat Asian-Australasian J. Anim. Sci. 16(7): 1046-1048.
- Richter, C., 1988. Do mitochondrial DNA fragments promote cancer and aging? *FEBS lett* 241:1-5.
- Rodriguez, M.A., Garcia, T., Gonzalez, I., Asensio, L., Hernandez, P.E., Martin, R., 2004. PCR identification of beef, sheep, goat, and pork in raw and heat-treated meat mixtures. *Journal of Food Protection*, 67 (1): 172-177.
- Rodriguez, M.A., Garcia, T., Gonzalez, I., Asensio, L., Mayoral, B., Lopez-Calleja, I., Hernandez, P.E., Martin, R., 2003. Identification of goose, mule duck, chicken, turkey, and swine in foie gras by species-specific polymerase chain reaction. *Journal Of Agricultural and Food Chemistry*, 51 (6): 1524-1529.
- Rokas, A., Ladoukakis, E., Zouros, E., 2003. Animal mitochondrial recombination revisited. *TRENDS in Ecology and Evolution*, 18(8):411-417.
- Saara, F., 1999. Phylogenetic analysis of mitochondrial DNA: Detection of mutations in patients with occipital stroke. Oulu University Library, Finland.
- Schutz, M.M., Freeman, A.E., Beitz, D.C., Mayfield, J.E., 1992. The importance of maternal lineages on milk yield traits of dairy cattle. *J. Dairy Sci.* (75):1331-1341.
- Schutz, M.M., Freeman, A.E., Lindberg, G.L., Beitz, D.C., 1993. Effects of maternal lineages grouped by mitochondrial genotypes on milk yield and composition. *J. Dairy Sci.* (76): 621-9.
- Schutz, M.M., Freeman, A.E., Lindberg, G.L., Koehler, C.M., Beitz, D.C., 1994. The effect of mitochondrial DNA on milk production and health of dairy cattle. *Livest. Prod. Sci.* (37):283-95.
- Shen, X.J., Ito, S., Mizutani, M., Yamamoto, Y., 2002. Phylogenetic analysis in chicken breeds inferred from complete cytochrome b gene information. *Biochem.Genet.* 40 (3-4):129-141.
- Solak, M., Bağcı, H., Şengil, A.Z., Öztaş, S., 2000. Moleküler Genetik ve Rekombinant DNA Teknolojisi (Temel Bilgiler). Afyon Kocatepe Üniversitesi, Eğitim Sağlık ve Bilimsel Araştırmalar Vakfı, Yayın No:5, Afyon.
- Steinborn, R., Müller, M. and Brem, G., 1998. Genetic variation in functionally important domains of the bovine mtDNA control region. *Biochimica et Biophysica Acta.* (1397): 295-304.
- Sultana S., Manen, H., Tsuji, S., 2003. mitochondrial DNA diversity and Pakistani goats. *International Society for Animal Genetics, Anim. Genet.* (34): 417-421.
- Sun, Y.L., Lin, C.S., 2003. Establishment and application of a fluorescent polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) method for identifying porcine, caprine, and bovine meats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51 (7): 1771-1776.
- Sutarno, Cummins, J.M., Greeff, J., Lymbery, A.J., 2002. Mitochondrial DNA polymorphisms and fertility in beef cattle. *Theriogenology* (57):1603-10.
- Tapio, M., Marzanov, N., Ozerov, M., Cinkulov, M., Gonzarenko, G., Kiselyova, T., Murawski, M., Viinalass H., Kantanen, J., 2006. Sheep Mitochondrial DNA Variation in European, Caucasian, and Central Asian Areas, 23(9):1776-1783.
- Troy, C.S., MacHugh, D.E., Balley, J.F., Magee, D.A., Loftus, T.R., Cunningham, P., Chamberlain, A.T., Sykes, B.C., Bradley, D. G., 2001. Genetic evidence for Near-Eastern origins of European cattle. *Nature* (410): 1088-1091.
- Tsuji S., Mannen H. Mukai F. Shojo M. Oyama K. Kojima T. Kano C. Kinoshita Y., Yamaguchi E., 2004. Trace of native cattle in Japanese Holstein assessed by Mitochondrial DNA sequence polymorphism. *J.Dairy Sci.* (87):3071-3075.
- Uphold, W.B., Dawid, I.B., 1977. Mapping of mitochondrial DNA of individual sheep and goats: Rapid evolution in the D-loop region. *Cell*, (11):571-583.
- Ursing, B.M., Arnason, U., 1998. Analyses of mitochondrial genomes strongly support a hippopotamus-whale clade. *Proc. Royal Soc. London Series B-Biological Sci.* 265 (1412): 2251-2255.
- Van-Vleck, L.D., Snowden, G.D., Hanford, K.J., 2003. Models with cytoplasmic effects for birth, weaning, and fleece weights, and litter size at birth for a population of Targhee sheep. *J. Anim. Sci.* (81):61-67.
- Wallace, D.C., 1994. Mitochondrial DNA mutations in diseases of energy metabolism. *J. Bioenerg Biomembr* (26):241-250.
- Wallace, D.C., 1995. Mitochondrial DNA variations in human evolution and disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 91:8739-8746.
- Zhang, Y.P., Shi, L.M., 1992. Mitochondrial DNA polymorphisms in animals: a review. *Zoological Research* (13):3, 289-98.
- Zhao, X.B., Li, N., Guo, W., Hu, X., Liu, Z., Gong, G., Wang, A.H., Feng, J., Wu, C.X., 2004. Further evidence for paternal inheritance of mitochondrial DNA in the sheep (*Ovis aries*). *Heredity*, 93 (4): 399-403.
- Zhao, X.B., Chu, M.X., Li, N., Wu, C.X., 2001a. Paternal inheritance of mitochondrial DNA in the sheep (*Ovis aries*). *Science in China Series C-Life Sciences*, 44 (3): 321-326.
- Zhao, X.B., Feng, J.D., Li, N., Wang, A.H., Wu, C.X. 2001b. Genetic typing of mitochondrial DNA in sheep (*Ovis aries*). *Progress in Natural Sci.* 11 (12): 937-940.