



T.C.

KIRŞEHİR AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ZOOOTEKNİ ANABİLİM DALI



**SAKIZ IRKI KOYUNLARDA FSHR, LH β VE
GPR54 GEN MUTASYONLARININ PCR-RFLP
YÖNTEMİ İLE ARAŞTIRILMASI**

MELİKE KAVUZKOZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**KIRŞEHİR
2025**



T.C.

KIRŞEHİR AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI



**SAKIZ IRKI KOYUNLARDA FSHR, LHB VE
GPR54 GEN MUTASYONLARININ PCR-RFLP
YÖNTEMİ İLE ARAŞTIRILMASI**

MELİKE KAVUZKOZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Koray KIRIKÇI

KIRŞEHİR

2025

KIRŞEHİR AHİ EVRAN ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS TEZ ÇALIŞMASI
ETİK BEYANI

Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesini okuduğumu ve anladığımı ve Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde ve ortaya çıkan sonuçlarda herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Tez olarak sunduğum bu çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda bu konuda hakkımda yapılacak tüm yasal işlemleri ve aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

03/07/2025

Melike KAVUZKOZ

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Sayfa No

İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	I
TEŞEKKÜR	II
ÖZET	III
ABSTRACT.....	IV
TABLolar DİZİNİ.....	V
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VI
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	VII
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	5
2.1. Genel Bilgiler.....	5
2.1.1. Folikül uyarıcı hormon (FSH).....	5
2.1.2. FSH reseptörü (FSHR).....	6
2.1.3. FSH reseptör sinyal iletim yolu.....	8
2.1.4. Lüteinize edici hormon (LH).....	9
2.1.5. Lüteinize edici hormon beta alt birimi (LH β)	10
2.1.6. G-protein bağlı reseptör 54 (GPR54).....	11
2.1.7. FSHR genine yönelik yapılan çalışmalar	12
2.1.8. LH β genine yönelik yapılan çalışmalar	14
2.1.9. GPR54 genine yönelik yapılan çalışmalar	16
3. MATERYAL VE METOT	19
3.1. Materyal.....	19
3.2. Metot	19
3.2.1. DNA izolasyonu	19
3.2.2. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)	20
3.2.3. Restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi (RFLP)	22
3.2.4. Agaroz jel elektroforezi ve bantların gözlenmesi.....	23
3.2.5. İstatistiksel analizler	23
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	25
4.1. DNA İzolasyonu ve PCR.....	25
4.2. PCR-RFLP Analizi.....	26
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	29
KAYNAKLAR.....	31
ÖZGEÇMİŞ.....	43

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisansa başlamamda ve yüksek lisans ders sürecinde kendisini tanıdığım günden bu yana gösterdiği sakin ve sabırlı hali ile her zaman bana örnek olmasının yanı sıra bir bilim insanının nasıl çalışması gerektiğini kendisinden öğrendiğim değerli danışmanım Doç. Dr. Koray KIRIKÇI' ya büyük bir içtenlikle teşekkür ederim. Tezimi değerlendiren ve katkı sağlayan değerli jüri üyelerim Prof. Dr. Mehmet Akif ÇAM ve Doç. Dr. Ertuğrul KUL'a teşekkürlerimi içtenlikle sunarım.

Tez çalışmam sırasında "ZRT.A4.23.007" numaralı proje ile çalışmamı destekleyen Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederim.

Tezimi, ailem başta olmak üzere desteklerini esirgemeyen arkadaşlarım Habibe KAYA, Funda ÖZKARA, Fatma Gül KAMÇILAR, Berkant AVCI ve Salih ASLANTÜRK'e ithaf ederim.

Temmuz, 2025

Melike KAVUZKOZ

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SAKIZ IRKI KOYUNLARDA FSHR, LH β VE GPR54 GEN MUTASYONLARININ PCR-RFLP YÖNTEMİ İLE ARAŞTIRILMASI

Melike KAVUZKOZ

KIRŞEHİR AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
ZOOTEKİNİ ANABİLİM DALI

Danışman: Doç. Dr. Koray KIRIKÇI
Yıl: 2025, Sayfa: 43
Jüri: Doç. Dr. Koray KIRIKÇI
Prof. Dr. Mehmet Akif ÇAM
Doç. Dr. Ertuğrul KUL

Bu çalışmada, koyunlarda çoklu doğuma etki eden majör genlerden ziyade etkisinin olabileceği söz konusu olan ve majör genlere bakılarak daha az çalışma yapılan FSHR, LH β ve GPR54 gen mutasyonlarının Sakız ırkı koyunlarda polimeraz zincir reaksiyonu-restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi (PCR-RFLP) yöntemi ile belirlenmesi amaçlanmıştır. Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölüm Laboratuvarında yürütülen araştırmada, Sakız ırkına ait toplam 60 adet kan örneği çalışma materyali olarak kullanılmıştır. İncelenen gen bölgeleri PCR yöntemiyle çoğaltılmış ve tüm örnekler genotiplendirme amacıyla sırasıyla FSHR için *XmnI*, LH β için *BsrBI* ve GPR54 için *TaqI* restriksiyon enzimleri ile kesim işlemine tabi tutulmuştur. Analizler sonucunda sadece LH β geninde g.727C>T mutasyonu tespit edilmiştir. LH β geni bakımından Sakız ırkına ait koyunlarda C ve T olmak üzere iki allel, CC ve CT olmak üzere ise iki genotip tespit edilmiştir. Allel ve genotip frekans değerleri sırasıyla, C ve T allelleri için 0.81 ve 0.19, CC ve CT genotipleri için ise 0.62 ile 0.38 olarak hesaplanmıştır. Ki-kare analiz sonucuna göre ise Sakız ırkı koyun popülasyonunun LH β geni bakımından Hardy-Weinberg dengesinde olduğu görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Sakız, Çoklu doğum, FSHR, GPR54, LH β , Mutasyon

ABSTRACT

MASTER'S THESIS

INVESTIGATION OF FSHR, LH β AND GPR54 GENE MUTATIONS IN CHIOS BREED SHEEP BY PCR-RFLP METHOD

Melike KAVUZKOZ

KIRŞEHİR AHI EVRAN UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF ANIMAL SCIENCE

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Koray KIRIKÇI
Year: 2025, **Pages:** 43
Juries: Assoc. Prof. Dr. Koray KIRIKÇI
Prof. Dr. Mehmet Akif ÇAM
Assoc. Prof. Dr. Ertuğrul KUL

In this study, it was aimed to determine the FSHR, LH β and GPR54 gene mutations, which are less studied than the major genes and may have an effect on sheep litter size, by using the polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) method in Chios sheep. In the study conducted at the Animal Science Laboratory of the Faculty of Agriculture, Kırşehir Ahi Evran University, a total of 60 blood samples from Chios sheep were used as research material. The target gene regions were amplified via PCR, and the PCR products were digested using specific restriction enzymes for genotyping: *XmnI* for FSHR, *BsrBI* for LH β , and *TaqI* for GPR54. As a result of the analyses, the g.727C>T mutation was detected only in the LH β gene. In terms of the LH β gene, two alleles (C and T) and two genotypes (CC and CT) were identified in the Chios sheep. The allele frequencies were calculated as 0.81 for C and 0.19 for T, while the genotype frequencies were 0.62 for CC and 0.38 for CT. According to the chi-square test, the Chios sheep population was found to be in Hardy-Weinberg equilibrium with respect to the LH β gene.

Key Words: Chios, Litter size, FSHR, GPR54, LH β , Mutation

TABLolar DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 3.1. Genlere ait primer dizileri, bağlanma sıcaklıkları ve kesim enzimleri	20
Tablo 3.2. FSHR geni için kullanılan PCR bileşenleri	20
Tablo 3.3. FSHR geni için uygulanan PCR reaksiyon koşulları	20
Tablo 3.4. LH β geni için kullanılan PCR bileşenleri.....	21
Tablo 3.5. LH β geni için uygulanan PCR reaksiyon koşulları.....	21
Tablo 3.6. GPR54 geni için kullanılan PCR bileşenleri	22
Tablo 3.7. GPR54 geni için uygulanan PCR reaksiyon koşulları	22
Tablo 3.8. RFLP analizi için kullanılan reaksiyon bileşenleri ve miktarları	22

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 2.1. Folikül uyarıcı hormon.....	9
Şekil 2.2. JAK-STAT aktivasyon yolağı.....	6
Şekil 4.1. PCR sonrası FSHR genine ait jel görüntüsü	25
Şekil 4.2. PCR sonrası GPR54 ve LH β genlerine ait jel görüntüsü.....	26
Şekil 4.3. PCR-RFLP sonrası jel görüntüsü	26

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler	Açıklama
α	: (Alfa) düzgünleştirme sabiti
β	: (Beta) çarpma sabiti
°C	: Santigrat derece
ml	: Mililitre
μ l	: Mikrolitre
%	: Yüzde

Kısaltmalar	Açıklama
ORF	: Açık Okuma Çerçevesi
Bç	: Baz Çifti
BMP15	: Bon Morphogenetic Protein 15
BMPR1B	: Bon Morphogenetic Protein Receptor 1B
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
ECD	: Extraselüler Alan
FSH	: Folikül Uyarıcı Hormon
FSHR	: Folikül Uyarıcı Hormon Reseptörü
GnRH	: Gonadotropin Salgılatıcı Hormon
GPCR	: G Protein Bağlı Reseptör
GPR54	: G Protein Bağlı Reseptör 54
GDF9	: Growth Differentiation Factor 9
hCG	: İnsan Koriyonik Gonadotropin
HEK293	: İnsan Embriyonik Böbrek 293 Hücreleri
ICD	: İntraselüler Alan
IHH	: İdiopatik Hipogonadotropik Hipogonadizm
IVF	: İn Vitro Fertilizasyon
JAK	: Janus Kinaz
KAEÜ	: Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi
KISS1R	: KISS1 Reseptörü
STH	: Küçük Kuyruklu Han
LH	: Lüteinize Edici Hormon
LHCGR	: LH-Koriyonik Gonadotropik Hormon Reseptörü
NCBI	: National Center for Biotechnology Information/ Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RFLP	: Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi
SNP	: Single Nucleotide Polymorphism/Tek Nükleotid Polimorfizmi
STAT	: Sinyal Transdüser ve Transkripsiyon Aktivatör Proteinleri
SSCP	: Tek Sarmallı Konformasyon Polimorfizmi
TSH	: Tiroid Uyarıcı Hormon
TSHR	: Tiroid Uyarıcı Hormon Reseptörü

TGF- β	:	Transforming Growth Factor- β
TMD	:	Transmembran Alan
TÜİK	:	Türkiye İstatistik Kurumu
UV	:	Ultraviyole
WB	:	Wash Buffer/Yıkama Tamponu
WT	:	Wild Type/Yabanıl Tip

1. GİRİŞ

Koyun yetiştiriciliği, tarımsal amaçlı kullanılmayan mera ve otlak alanları en iyi şekilde değerlendiren ve bunu et ve süt gibi protein değeri yüksek çeşitli hayvansal ürünlere dönüştürerek insan beslenmesine katkıda bulunan önemli bir hayvancılık faaliyetidir (Kaymakçı ve Sönmez, 1996). Türkiye’de 2024 yılında yaklaşık 44 milyon baş koyun bulunmaktadır (TÜİK, 2024). Diğer ülkelerde olduğu gibi koyun yetiştiriciliği Türkiye için de ekonomik açıdan önemli bir faaliyettir (Özmen, 2010). Türkiye’de koyunculuktan elde edilen 906 945 ton süt, 509 539 ton et ve 84 276 ton yapağı ile ülke ekonomisine önemli katkılar sağlanmaktadır (TÜİK, 2024).

Türkiye, Dünya ve Avrupa ülkeleri arasında sahip olduğu hayvan sayısı bakımından önemli bir yerde olsa da ekstansif yetiştiricilikte hayvan başına düşen verimler bakımından bu avantaj tam anlamıyla değerlendirilebilmiş değildir. Türkiye’de mevcut koyun popülasyonunun önemli bir kısmını kültür ırklarına nazaran verim düzeyleri daha düşük olarak nitelendirilen yerli ırklar oluşmaktadır (Özmen, 2010). 2050 yılında dünya nüfusunun 9 milyara çıkması beklenirken, gıda üretiminin ise 8 milyar kişinin ihtiyacını karşılayacak düzeyde olacağı tahmin edilmektedir (Bonny ve ark., 2017). Bununla birlikte, insan nüfusunun artışı, göç, mera alanların azalması, küresel iklim değişiklikleri gibi unsurların genel olarak hayvancılık faaliyetlerini olumsuz yönde etkileyeceği ve bunun sonucunda ise insan nüfusunun ihtiyaç duyduğu gıdayı karşılamada birim hayvan başına verim artışının zorunlu olacağı öngörülmektedir. Bu nedenle, birim hayvandan verim artışını sağlayacak moleküler ıslah yöntemlerine olan ilginin gelecekte daha da artması beklenmektedir.

Koyun yetiştiriciliğinin karlılığını ve sürdürülebilirliğini etkileyen en önemli unsurların başında koyun başına doğacak kuzu sayısı gelmektedir. Koyunlarda çoklu doğum, çok sayıda gen tarafından kontrol edilen ve düşük kalıtım derecesine (0,06 ile 0,18) sahip bir özellik olması sebebiyle geleneksel ıslah yöntemleri ile bu özelliğin iyileştirilmesinde elde edilecek başarı sınırlı kalmaktadır (Savas ve ark., 2000; Janssens ve ark., 2004). İkiz doğumlar lehine yapılacak seleksiyon ile kuzu doğum sayısındaki artış oranının %1-2 arasında olabileceği bildirilmiştir (Safari ve ark., 2015). Bu nedenle kuzu veriminin genetik ıslahında kullanılacak genetik varyasyonların belirlenmesi ve üreme özellikleri ile olan ilişkilerinin ortaya konması önem arz etmektedir (Amini ve ark., 2018).

Son yıllarda moleküler biyoloji alanındaki gelişmeler çiftlik hayvanlarında yapılacak ıslah çalışmalarında yeni fikirlerin ortaya çıkmasına ışık tutmuştur. Özellikle DNA polimorfizmlerin tespit edilmesinde önem taşıyan DNA markörleri aynı zamanda bireysel tanımlama, genetik hastalıkların tespiti ve ebeveyn tayininde uygun bir çalışma alanı sağlamıştır (Özmen, 2010).

Çiftlik hayvanlarında ekonomik değer taşıyan özellikler ile ilişkilendirilen çok sayıda majör gen tanımlanmış olsa da her geçen gün yeni gen ve mutasyonlar rapor edilmeye devam etmektedir. Koyunlarda transforme edici büyüme faktörü beta (Transforming Growth Factor- β , TGF- β) ailesine ait çoklu doğum üzerinde etkili üç önemli majör gen bulunmaktadır. Bunlar; kemik morfogenetik protein reseptör-1B (BMPR-1B), kemik morfogenetik protein reseptör-15 (BMPR-15) ve büyüme farklılaşma faktörü-9 (GDF9) genleridir. Bu genler üzerinde oluşan mutasyonlar ırk düzeyinde etkisi değişmekle birlikte çiftlik hayvanlarında kısırılık veya doğumda elde edilecek kuzu sayısında artışa neden olabilmektedir (Galloway ve ark., 2002). Dünyada ilk kez Avustralya Merinos koyunlarında yüksek ovulasyon oranıyla sonuçlanan ve Boroola mutasyonu olarak adlandırılan mutasyonun keşfi, bu alandaki çalışmalara olan ilgiyi artırmıştır. Bu durum, benzer şekilde çoklu doğum özelliği gösteren Sakız ırkında da aynı mutasyonun bulunabileceği düşüncesini ortaya çıkarmıştır. Ancak yapılan çalışmalar Boroola mutasyonunun Sakız ırkında bulunmadığını ortaya koymuştur (Davis ve ark., 2006; Dinçel ve ark., 2015). Bu nedenle, farklı genlerin araştırılmasına yönelinmiştir.

Türkiye'deki yerli koyun ırklarının majör genler bakımından genetik yapısını ortaya koyan çalışmalar sınırlı olmakla birlikte, son yıllarda yapılan araştırmalarda bilinen majör genlerle (Çelikeloğlu ve ark., 2018; Kırıkçı ve ark., 2021; Kırıkçı, 2023a; Kırıkçı, 2023b; Aymaz ve ark., 2024) sınırlı kalınmadığı, aynı zamanda farklı genlerin de üreme özellikleri üzerindeki etkilerinin incelendiği görülmektedir.

Memelilerde üreme, fizyolojik ve genetik çok sayıda faktörün etkisi ile şekillenen oldukça karmaşık bir süreçtir (Dube ve ark., 1998). Geçmişten günümüze yapılan çalışmalar ile bu karmaşık yapı açıklanmaya çalışılmaktadır. TGF- β ailesi üyeleri dışında kalan bazı farklı genlerin de koyunlarda çoklu doğum üzerine etkili olduğu belirlenmiştir. Bu genler arasında özellikle folikül uyarıcı hormon reseptörü (FSHR), lüteinleştirici hormon- β (LH- β) ve G protein bağlı reseptör-54 (GPR54) genlerinin, özellikle Çin koyun ırklarında çoklu doğumu artırıcı etkileri olduğu bildirilmiştir (Tang ve ark., 2012; Wang ve ark., 2015; Wang ve ark., 2020).

Türkiye'nin prolific ırklarından biri olan Sakız koyunlarında daha çok ikiz ve üçüz doğum görülmekte olup doğum başına düşen kuzu sayısı ortalaması 1,46 ile 2,50 arasında değişim göstermektedir (Tekerli ve ark., 2002; Sezenler ve ark., 2007). Bu ırkta ikiz doğumların yanında uygun saha koşullarında dördüz, beşiz, altız ve üzeri doğum yapanlara da rastlanabilmektedir. Bu özelliğinden dolayı ülkemizde Sakız ırkı koyunlarından ıslah çalışmalarında yararlanılarak Sönmez ve Bafra gibi koyun ırkları elde edilmiştir (Kaymakçı ve Taşkın, 2008). Bu ırkta çoklu doğum ile ilişkili herhangi bir mutasyonun tanımlanması ve etkisinin ortaya konması gerek DNA düzeyinde yapılacak moleküler ıslah çalışmalarına katkı sağlaması bakımından gerekse bu konuda yapılacak araştırmalara yön vermesi bakımından önem teşkil etmektedir.

Mevcut tez çalışması, koyunlarda çoklu doğuma etki eden majör genlerden ziyade etkisinin olabileceği söz konusu olan ve majör genlere bakılarak daha az çalışma yapılan FSHR, LH β ve GPR54 gen mutasyonlarının Sakız ırkı koyunlarda belirlenmesi amacıyla yapılmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Genel Bilgiler

Koyun yetiştiriciliğinde verimliliğinin sürdürülebilirliği ve artırılması, döl veriminin iyileştirilmesine bağlıdır. Döl verimi, bakım, besleme ve sürü yönetimi gibi çevresel koşulların yanısıra hormonlar ve genetik faktörlerin birlikte etkili olduğu karmaşık fizyolojik bir süreçtir. Burada, üreme sürecinde başlıca rol oynayan FSH ve LH hormonları ile reseptör ve sinyal iletim mekanizmaları özetlenecek, ardından FSHR, LH β ve GPR54 genleri üzerine yapılan araştırmalara yer verilecektir.

2.1.1. Folikül uyarıcı hormon (FSH)

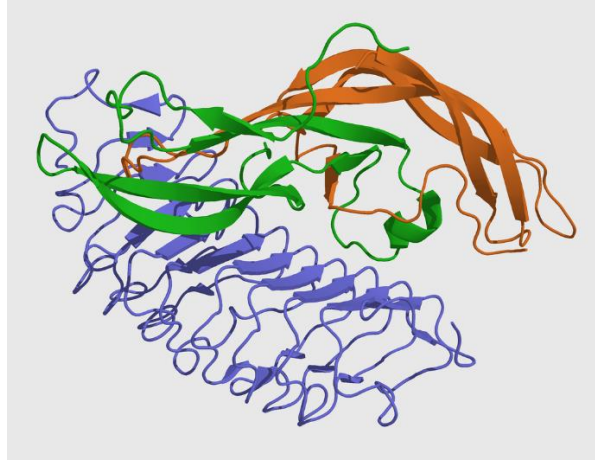
Folikül uyarıcı hormon (FSH), ön hipofiz gonadotropik hücreleri tarafından salgılanan bir gonadotropin hormonu olup, memelilerde üremenin merkezindedir ve sentezi gonadotropin salgılatıcı hormonun (GnRH) periyodik salınımları ile düzenlenir. Aktivin, biyosentezi ve salgılanmayı artırırken, inhibin FSH sentezini azaltır (Das ve Kumar, 2018; Wang ve ark., 2021).

2.1.1.1. FSH'nin moleküler biyolojisi ve fonksiyonu

FSH, hipotalamik GnRH tarafından pulsatif olarak düzenlendikten sonra, hipofiz bezindeki gonadotrop hücreleri tarafından salgılanır (Stamatiades ve ark., 2018). FSH, memelilerde gonadlarda bulunan hedef hücrelerin yüzeyinde etki eder ve hormon kaynaklı hücre çoğalması ve apoptoz ile ilişkili sinyalleri tetikler. FSH, memelilerin üreme ve gelişim süreçlerinde önemli bir glikoproteindir. Yumurtalıklarda FSH, folikül gelişimini, oosit seçimini ve cinsiyet hormonlarının üretimini düzenleyerek üreme sistemini döllenme, implantasyon ve gebelik için hazırlar (Messinis ve ark., 2014). Bu gonadotropin, erkeklerde testislerin gelişimini ve sperm üretimini destekler (Huhtaniemi, 2015).

FSH, diğer gonadotropinler ve tirotropin ile ortak olan bir α alt birimine ve G proteinine bağlı reseptörü (GPCR) olan FSHR'ye özgü olarak bağlanan bir β alt birimine sahiptir (Simoni ve ark., 1997). İn siliko ve kristalografik yapısal analizler, α alt birimi ile FSHR arasında da etkileşim olduğunu ve reseptör bağlanmasının yalnızca β alt birimine özgü olmadığını ortaya koymuştur (Jiang ve ark., 2014). Hormonun bağlanması, reseptörün konformasyonel değişikliklerine yol açar ve bu değişiklikler, plazma membranında doğrudan protein etkileşimleri yoluyla sinyalin iletilmesini sağlar. Bu, karmaşık bir sinyal ağı oluşturan bir dizi biyokimyasal reaksiyonla sonuçlanır (Gloaguen

ve ark., 2011; Jiang ve ark., 2012). Yapısal olarak, FSH, alfa ve beta alt birimleri içeren iki polipeptit biriminden oluşan 35.5 kDa'lık dimerik bir glikoproteindir (Şekil 1.1).



Şekil 2.1. Folikül uyarıcı hormon: α FSH (yeşil), β FSH (turuncu) reseptör (FSHR, mavi) ile gösterilmiştir (Anonim, 2025).

Lüteinize edici hormon (LH), folikül uyarıcı hormon (FSH), tiroid uyarıcı hormon (TSH) ve insan koryonik gonadotropininin (hCG) alfa alt birimleri aynıdır ve 96 amino asitten oluşur, beta alt birimleri ise farklıdır ve hormona özgüdür. Her iki alt birim de biyolojik aktivite için gereklidir. FSH'nin beta alt birimi, 111 amino asitten oluşur (FSH β), bu da onun spesifik biyolojik etkisini sağlar ve folikül uyarıcı hormon reseptörü ile etkileşimden sorumludur (Bhartiya ve Patel, 2021).

2.1.2.FSH reseptörü (FSHR)

2.1.2.1.FSH reseptör yapısı

Memelilerde gonadlarda bulunan FSHR, ilk olarak sıçan sertoli hücrelerinden izole edilip dizilimi yapılmıştır (Sprengel ve ark., 1990). FSHR'nin üreme fonksiyonları, ön hipofiz bezinden salgılanan FSH hormonuna yanıt olarak düzenlenmektedir. Dişilerde FSHR, gelişen foliküllerin granüloza hücrelerinde yer alır ve FSH'nin FSHR'ye bağlanması ile hücrelerin çoğalması ve steroid hormonlarının üretimi teşvik edilmiş olur. Çeşitli FSHR formları bulunmakta olup ilk keşfedilen FSHR formu, G proteinine bağlı olan ve FSHR-1 olarak adlandırılan formdur (Sullivan ve ark., 2013). FSHR geni insanlarda 54 kbp, ratlarda 84 kbp'lik bir bölgeyi kapsamakta olup 10 ekzon ve dokuz introndan oluşmaktadır (Nogueira ve ark., 2007; Sullivan ve ark., 2013; Zhou ve ark., 2013).

Çalışmalar çeşitli hayvan türlerinde ve insanlarda farklı FSHR splice varyantları bulunduğunu göstermektedir (Nogueira ve ark., 2007; Sullivan ve ak., 2013; Zhou ve ark., 2013). Tespit edilen çoğu alternatif transkriptlerin bir proteine çevrilememesinden dolayı FSHR transkript varyantlarının işlevi ve düzenleyici rolü üzerine sınırlı araştırmalar yapılmıştır. Ancak, koyunlarda FSHR geni ekzon 10 bölgesi için tanımlanan alternatif splice varyantlarının potansiyel işlevleri dikkat çekmektedir.

Koyunlarda FSH-büyüme faktörü benzeri reseptörün tüm boyutlardaki foliküllerde, özellikle erken östrus sırasında elde edilen orta boy foliküllerde WT varyantından daha yüksek oranda ifade edildiği tespit edilmiş ve ilgili reseptörün folikül gelişiminde rol oynayabileceği öne sürülmüştür (Sullivan ve ark., 2013). Bu ve diğer FSHR transkript varyantlarının FSH'nin pleiotropik etkilerinin aracılığındaki rolünü daha kesin bir şekilde tanımlamak için ek çalışmalara ihtiyaç olduğu bildirilmiştir (Ulloa-Aguirre ve Zariñán, 2016).

2.1.2.2. FSH reseptörünün bağlanması ve reseptör aktivasyonu

Dişi ve erkeklerde cinsiyet hüclerinin oluşumunda FSH ile FSH reseptörü (FSHR) arasındaki etkileşim önemli rol oynamaktadır. G proteinine bağlı reseptör (GPCR) süper ailesinin bir üyesi olan FSHR, rodopsin resöpterlerle akraba olan d alt ailesine mensuptur (Fredriksson ve ark., 2003). FSHR, diğer glikoprotein hormon reseptörleri olan luteinize edici hormon/koryonik gonadotropin reseptörü (LHCGR) ve tiroid uyarıcı hormon reseptörü (TSHR) ile yapısal benzerlik göstermektedir. FSHR, ligand tanıma ve bağlanma görevini üstlenen büyük bir ekstrasellüler amino (NH₂) terminal alan (ECD) içermektedir.

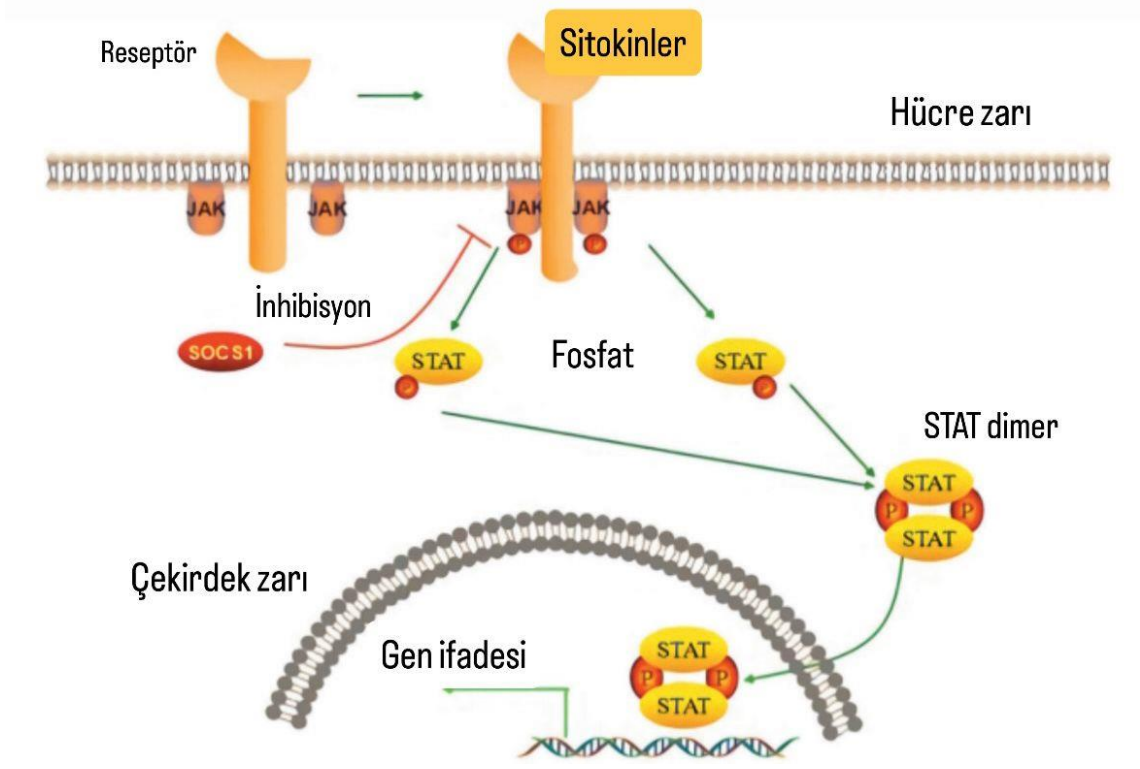
ECD, reseptörün aktivasyonu ve sinyal iletim işlevlerinde görev alan, yedi adet α -heliksin birbirine içsel ve dışsal döngülerle bağlandığı transmembran domain (TMD) ile, "menteşe bölgesi" olarak adlandırılan yapısal bir bağlantı aracılığıyla ilişkili durumdadır. FSH molekülü, öncelikle ECD'ye bağlanarak reseptörü aktive eder. Bunun yanı sıra, TMD'nin ekstrasellüler uzantıları olan birinci ve üçüncü döngü bölgeleri, potansiyel ikincil bağlanma bölgeleri olarak görev yapar (Jiang ve ark., 2014). Ligand bağlandığında, transmembran alfa helikslerde konformasyonel değişiklikler meydana gelir ve bu değişiklikler hücre içi uzantılar boyunca iletilir. Böylece, reseptöre bağlı G proteinleri ile diğer sinyal iletim proteinlerinin etkileşimi başlatılır. Bu etkileşimler, hücre içinde çeşitli sinyal yollarının aktivasyonunu tetikler ve biyolojik yanıtların oluşmasına neden olur (Ulloa-Aguirre ve ark., 2018).

2.1.3.FSH reseptör sinyal iletim yolu

Hücrelerde sinyal iletim mekanizmalarının işleyişi benzerlik gösterse de bu yollar karmaşık yapılar ve çok sayıda dallanma içermektedir. Hücre içi sinyal iletim yollarından biri olan JAK-STAT (Janus Kinaz – Transkripsiyonun Sinyal Aktarıcısı ve Aktivatörü) yolu, hücre içindeki proteinler arasında gerçekleşen bir etkileşim zinciridir ve başta bağışıklık yanıtı, hücre bölünmesi, programlı hücre ölümü (apoptoz) ve tümör oluşumu gibi birçok biyolojik süreçte önemli rol oynamaktadır (Demir, 2024). JAK-STAT sinyal iletim yolu, hücre dışındaki kimyasal sinyallerden hücre çekirdeğine bilgi ileterek, genlerin transkripsiyon süreci aracılığıyla aktif hale gelmesine neden olur.

JAK-STAT sinyal iletim yolu, Janus kinazlar (JAK'lar), sinyal transdüser ve transkripsiyon aktivatörleri (STAT'lar) ile bu bileşenleri aktive eden sitokin reseptörleri olmak üzere üç temel bileşenden oluşmaktadır (Aaronson ve Horvath, 2002). JAK/STAT sinyal iletim yolunun embriyonik hücrelerin çoğalması, farklılaşması ve primordiyal follüküllerin oluşumunda önemli rol oynadığı ortaya konmuştur (Gentili ve ark., 2006; Huang ve ark., 2018). Ayrıca, embriyonik gelişim ve hücre çoğalması ile ilişki BMPR1B, BMP2 ve TF4 gibi genlerin JAK/STAT sinyal yolları bakımından oldukça zengin oldukları gösterilmiştir (Cui ve ark., 2024).

JAK/STAT sinyal iletim yolu, çeşitli sitokinler, hormonlar ve büyüme faktörleri tarafından aktive edilebilmektedir (Xu ve ark., 2017). FSH, FSHR'ye bağlandığında reseptörün yapısında bir değişiklik meydana gelir ve bu değişiklik JAK-STAT yolunu aktive etmektedir. FSHR'nin aktivasyonu JAK kinazların (özellikle JAK2) aktivasyonuna yol açar ve aktif JAK kinazlar da STAT proteinlerini fosforile eder. Fosforile olan STAT proteinleri ise, dimerler oluşturarak hücre çekirdeğine girer ve burada belirli genlerinin ifadesini başlatır (Şekil 1.2).



Şekil 2.2. JAK-STAT aktivasyon yolağı (Xu ve ark., 2017)

JAK-STAT sinyal iletim yolu ve FSHR arasındaki ilişki, özellikle üreme sistemi ve hücre büyümesi ile ilgili süreçlerde kritik bir rol oynamaktadır. Özellikle, FSH'nın yumurtalık foliküllerinin büyümesi ve olgunlaşması üzerindeki etkileri, JAK-STAT yolu aracılığıyla gerçekleşmektedir.

2.1.4.Lüteinize edici hormon (LH)

LH diğer bir adıyla Lutropin, adenohipofizin bazofilik granüler hücreleri tarafından salgılanan ve glikoprotein yapısında olan bir hormondur (Gharib ve ark., 1990). Bu gonadotropin hem erkeklerde hem de dişilerde hipotalamik-hipofiz kompleksinden gonadlara entegre merkezi bilgiyi ileterek omurgalıların üreme fonksiyonunda önemli bir rol oynar (Evans ve Long, 1922). Dişilerde, LH artışı ile birlikte ovulasyon tetiklenirken korpus luteumun gelişimi uyarılmaktadır. Erkeklerde ise LH androjen üretimini ve spermatogenezi uyarılmaktadır (Ando ve ark., 2021).

2.1.4.1. LH'nin moleküler biyolojisi ve fonksiyonu

LH'nin biyolojik etkisini gösterme şekli hedef hücrenin zarları üzerinde bulunan özel reseptörleri aracılığı ile olmaktadır. Bu hormonun salınım sıklığı ve dalga boyu

arttığında oosit matürasyonu ve ovülasyon uyarılırken tersi etki olduğunda yani salınım sıklığı ve dalga boyu düştüğünde ise lüteal yapının devamlılığı sağlanmaktadır (Çolak ve ark., 2015). LH salınımı ise estradiol ve testosteron gibi gonadal steroidler tarafından düzenlenmektedir (Ando ve Urano, 2005).

LH, her biri tek bir gen tarafından kodlanan ortak bir α alt birimi ($LH\alpha$) ve hormona özgünlük kazandıran β alt biriminden ($LH\beta$) oluşan bir heterodimerdir (Li ve Ford, 1998). Moleküler ağırlığı yaklaşık 29.000 Dalton olan LH molekülü, yapısında %16 oranında karbonhidrat içermektedir. İki alt birimden oluşan bu molekülde, alfa alt birim 92, beta alt birim ise 115 amino asit içermektedir (Ruckebusch ve ark., 1991). Alfa alt birimi, LH, FSH ve TSH olmak üzere üç hipofiz hormonunda ortaktır, ancak beta alt birimi farklılık göstermektedir. Bu nedenle, LH'nin biyolojik aktivitesi ve reseptör etkileşimi büyük ölçüde beta alt birimi tarafından belirlenir. Glikoprotein yapısında olan bu hormon, glikozilasyon düzeylerindeki farklılıklar (Baenziger ve ark., 1992) nedeniyle, bazı durumlarda protein yapılarıyla karakterize edilen (Ward ve ark., 1989; Hartree ve Shownkeen, 1991) çeşitli heterojen izoformlar şeklinde bulunabilmektedir. LH'nin bu heterojen izoformları hem biyolojik hem de immünolojik aktiviteleri açısından, hayvanın fizyolojik durumuna bağlı olarak önemli ölçüde farklılık gösterebilmektedir. Sonuç olarak, LH'nin yapısı ve işlevi, üreme süreçlerinin düzenlenmesinde kritik öneme sahiptir.

Çiftlik hayvanlarında LH hormonunun üreme sisteminin düzenlenmesinde önemli rolü bulunmaktadır. Bu hormon dişilerde foliküler gelişimi destekler, östrojen salgısını artırarak ovulasyonu tetikler ve korpus luteumun oluşumunu sağlayarak progesteron üretimini teşvik eder (Bai ve ark., 2016). Erkeklerde ise LH, testislerdeki Leydig hücrelerini uyararak testosteron üretimini artırır (Pierce ve Parsons, 1981; Querat, 2021).

2.1.5. Lüteinize edici hormon beta alt birimi ($LH\beta$)

Çiftlik hayvanlarında, kızgınlığın oluşumu ve foliküler gelişim gibi üreme süreçlerinde önemli rolleri bulunan LH hormonu, farklı kromozomlarda yer alan genler tarafından kodlanan α ve β olmak üzere iki alt birimden oluşmaktadır (Bonneau ve ark., 1994). $LH\beta$ molekülünün yapı, fonksiyon ve etki mekanizmalarıyla ilgili memelilerde yapılan çeşitli araştırmalar sonucunda Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi (NCBI)'nde araştırmacıların erişebileceği DNA dizileri elde edilmiştir (Basavarajappa ve ark., 2008). LH molekülü glikoprotein hormonlarında olduğu gibi tüm memelilerde ortak olan bir alfa alt birimine sahiptir ve hormona asıl biyolojik özgüllük kazandıran kısmı ise beta alt

birimidir. Bu nedenle araştırmalar daha çok β alt biriminde yapılmıştır (Pierce ve Parsons, 1981).

Koyunlarda 14. kromozom üzerinde bulunan LH β geni, iki intron ve üç ekzondan oluşmaktadır (Archibald ve ark., 2010). LH β -alt birimi hormonun heterodimer yapısının oluşumu ve biyolojik aktivitesi açısından kritik rol oynayan, üç disülfid köprüsüyle stabilize edilen bir sistin düğüm (cystine knot) motifi içerir. Bu motif, LH'nin α -alt birimiyle doğru şekilde eşleşmesini ve fonksiyonel bir hormon kompleksinin oluşmasını sağlamaktadır (Lapthorn ve ark., 1994). LH β alt biriminin amino asit dizisi koyunlarda ilk kez 1972 yılında, insanlarda ise 1984 yılında belirlenmiştir (Liu ve ark., 1972; Talmadge ve ark., 1984). İnsanlarda 19. kromozomun kısa kolunda (19q13.3) yer alan ve üç ekzondan oluşan LH β geni ise yaklaşık 523 baz içermektedir. Genlerin bu yapısal özellikleri, hormonların fonksiyonlarını yerine getirmesi, reseptör hormon etkileşimleri ve hedef hücrelerde biyolojik yanıtların sağlanması açısından temel öneme sahiptir.

2.1.6. G-protein bağlı reseptör 54 (GPR54)

GnRH salgılayan nöronların aktivitesinin düzenlenmesindeki rolü ile üreme ile ilişkisi bulunan kisspeptin reseptörü (KISS1R) veya diğer adıyla bilinen GPR54 ilk olarak 1999 yılında rat beyninden klonlanmıştır (Lee ve ark., 1999). GPR54 geni tarafından kodlanan G-protein bağlı reseptör, hipotalamustaki kisspeptin adlı nöropeptitle etkileşime girerek hipotalamus-hipofiz-gonad (HPG) eksenini aktive etmesiyle LH ve FSH hormonlarının salgılanmasını uyarak üreme ile ilişkili kimi temel fizyolojik olayların başlatılmasında rol oynamaktadır (Kotani ve ark., 2001; Muir ve ark., 2001; Ohtaki ve ark., 2001; Oakley ve ark., 2009). alışmalar, GPR54 geninin ağırlık olarak hipotalamusta ifade edildiğini ortaya koymuştur (Muir ve ark., 2001; Irwig ve ark., 2005; Pompolo ve ark., 2006). Koyunlarda bildirilen kimi GPR54 gen varyantlarının kodlanan proteinde yapısal değişimlere yol açarak üreme üzerinde etkilerinin olduğunu göstermektedir (Majd ve ark., 2019).

İnsan GPR54 geni, 19. kromozomun kısa kolunda (19p13.3) yer almakta olup, beş ekzondan ve dört introndan oluşmaktadır. Genin açık okuma çerçevesi yaklaşık 1197 baz çifti uzunluğundadır ve 398 amino asitten oluşan bir proteini kodlar. Bu protein, yedi transmembran bölgesi ile birlikte, hücre zarında yer alan tipik bir G-protein bağlı reseptör yapısına sahiptir ve üç potansiyel N-bağlantılı glikozilasyon bölgesi içerir (Muir ve ark., 2001; Acierno ve ark., 2003). Araştırmalar, GPR54 transkriptlerinin, balık (Parhar ve ark., 2004), sıçan (Irwig ve ark., 2005), fare (Han ve ark., 2005) ve maymun (Shibata ve

ark., 2007) hipotalamusunda GnRH nöronları ile birlikte lokalize olduğunu göstermektedir. Bu ise genin üremenin düzenlenmesindeki rolünü ortaya koymaktadır.

GPR54 geninde oluşan kimi mutasyonların insanlarda ergenliğe ulaşım yaşının gecikmesine neden olduğu yapılan çeşitli çalışmalar ile gösterilmiştir (Semple ve ark., 2005; Cerrato ve ark., 2006; Pallais ve ark., 2006; Tenenbaum-Rakover ve ark., 2007). GPR54 geninden yoksun bırakılmış fare modellerinde, ergenliğe geçişin gerçekleşmediği, bireylerin kısır, olgunlaşmamış gonadlara sahip ve ikincil cinsel karakterlerinden yoksun olduğu rapor edilmiştir. Ayrıca, GPR54 geninden yoksun bırakılan farelerde steroid hormonları ve gonadotropin düzeylerinin belirgin şekilde düşük olduğu gözlemlenmiştir (Funes ve ark., 2003; Colledge, 2004; Kaiser ve Kuohung, 2005). Buna karşılık, GPR54 geninin aşırı aktivasyonuna neden olan mutasyonların, insanlarda erken puberte gelişimi ile bağlantılı olduğu gösterilmiştir (Luan ve ark., 2007; Teles ve ark., 2008). Tüm bu bulgular, KISS-1/GPR54 sinyal yolunun, memelilerde ergenlik başlangıcının temel düzenleyicisi ve tetikleyicisi olduğunu ve cinsel olgunlaşmanın nöroendokrin kontrolünde merkezi bir rol oynadığını ortaya koymaktadır. Ayrıca, kisspeptin gen ekspresyonunun, özellikle mevsimsel üreme stratejileri gösteren türlerde, fotoperiyodik değişikliklerle düzenlendiği bildirilmiştir (Greives ve ark., 2007).

2.1.7. FSHR genine yönelik yapılan çalışmalar

Guo ve ark. (2013) farklı primer setleri kullanarak yaptığı çalışmada, FSHR geni 5' düzenleyici bölgesinde polimeraz zincir reaksiyonu–tek sarmallı konformasyon polimorfizmi (PCR-SSCP) yöntemi ile (3 keçi ırkında (Jining Grey, Boer ve İç Moğolistan Kaşmir) polimorfizm tespit etmişlerdir. Araştırmada Primer P1 ile ilgili olarak, Boer keçilerinde 2 genotip (AA ve BB) tespit edilirken, Jining Grey ve İç Moğolistan Kaşmir keçilerinde yalnızca AA genotipi tanımlanmıştır. Dizileme, BB genotipinde, AA genotipine kıyasla, amplifiye edilen bölgenin 26. pozisyonunda bir T→A dönüşümü ve 61. pozisyonunda bir A→C dönüşümü olduğunu ortaya çıkarmıştır. Primer P2 ile ilgili olarak, yukarıda belirtilen 3 keçi ırkında 3 genotip (CC, CD ve DD) tanımlanmıştır. DNA dizileme analizi sonucunda, DD genotipinde, CC genotipine kıyasla, amplifiye edilen bölgenin 70. pozisyonunda bir T→A dönüşümü ve 130. pozisyonunda bir G→C dönüşümü olduğu ortaya konmuştur. Araştırmacılar, Jining Grey keçilerinde, CC genotipli olanların, CD ve DD genotipine sahip olanlardan 0.46 (P <0.05) ve 1.03 (P <0.05) oranında daha fazla oğlak dünyaya getirdiğini, CD genotipli keçilerin ise DD genotipine sahip olanlardan 0.57 (P <0.05) oranında daha fazla yavru dünyaya

getirdiğini bildirmişlerdir. Bu sonuçlar, FSHR geninin C allelinin keçilerde döl verimini artırmak için potansiyel bir markör olduğunu göstermektedir.

Pan ve ark. (2014) koyunlarda gen ifade düzeyleri ile ilgili yaptıkları araştırmada FSHR'nin diğer dokulara (kalp, karaciğer, dalak, akciğer, böbrek, iştakembe, duodenum, kas, yağ, hipotalamus ve hipofiz) kıyasla gonadlarda (testis ve yumurtalık) anlamlı derecede daha yüksek düzeyde ifade edildiğini göstermişlerdir ($P<0.05$). Ayrıca, araştırmacılar FSHR geni üzerindeki bir mutasyonun döl verimi üzerinde önemli derecede etkisi olduğunu ortaya koymuştur. Çalışmada, CC genotipli koyunların TC ve TT genotipli olanlara göre sırasıyla 0.42 ($P<0.01$) ve 0.53 ($P<0.01$) oranında daha fazla kuzunun doğduğu rapor edilmiştir. Sonuçlar, koyunlarda FSHR'nin döl verimi ile ilişkisini ve FSHR'nin endüstriyel koyun yetiştiriciliğinde üreme özelliklerini iyileştirmek için aday bir gen olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

Nazifi ve ark. (2015) Baluchi, İran kara ve Arman koyun ırklarında FSHR ve FSH β genlerindeki polimorfizmi ve bunların döl verimi ve vücut ağırlığı özelliği ile ilişkisini araştırmışlardır. Çalışmada FSHR/*MSCI* polimorfizmi için incelenen ırklarda AA, AB ve BB olmak üzere üç genotip gözlemlenmiştir. İncelenen tüm ırklarda B alleli ve AA genotipi en yüksek frekans değerlerinde bulunmuştur. Araştırmacılar FSHR ve FSH β genlerinin döl verimi üzerindeki etkisinin yalnızca Baluchi koyun ırkında anlamlı düzeyde yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Mutant alellerin, yabanıl tip olanlara göre döl verimi ortalamasını önemli ölçüde arttırabileceği belirtilmiştir. FSHR lokusundaki polimorfizm ile vücut ağırlığı özelliği arasındaki ilişkiler incelendiğinde yalnızca Arman koyun ırkında bazı yaşlarda genotipler arasında anlamlı fark görülmüştür. Çalışmada genel olarak yabanıl AA genotipine sahip koyunların vücut ağırlığı bakımından daha iyi performans gösterdiği tespit edilmiştir.

Abdel-Rahman ve ark. (2019) Mısır Ossimi koyun ırkında FSHR gen ekzon 10 bölgesi polimorfizmleri ile çoklu doğum arasındaki ilişkiyi PCR-SSCP yöntemi ile araştırmışlardır. Çalışmada sırasıyla 0.64 ve 0.36 frekans değerleriyle AA ve AB olmak üzere iki genotip tespit edilmiştir. Tespit edilen A ve B allellerin frekans değerleri ise sırasıyla 0.82 ve 0.18 olarak bulunmuştur. Araştırmacılar FSHR geni için istatistiksel olarak önemli olmasa da AB genotipli koyunların (1.4 ± 0.36) AA genotipli olanlardan (0.74 ± 0.67) ortalama daha fazla kuzu dünyaya getirdiğini tespit etmişlerdir. Çalışma sonucunda FSHR geninin Ossimi koyunlarında döl veriminin arttırılması için markör destekli seleksiyon (MAS) çalışmalarında kullanılabileceği belirtilmiştir.

He ve ark. (2021) dört farklı koyun ırkında (Hu, Wadi, Tan ve Küçük kuyruklu Han) FSHR gen polimorfizmi ile gen ifade düzeylerini araştırmışlardır. Araştırmacılar Hu ve Tan koyun ırklarında kızgınlık döngüsü ovaryumlarda gen ifade düzeyleri bakımından farklılık olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmada FSHR geni üzerinde, incelenen tüm koyun ırklarında üç farklı tekli nükleotit polimorfizm (T1235C, AG2357-2358CT ve A149G) rapor edilmiştir. Değişen frekanslarda olmak üzere T1235C polimorfizmi için Hu (TT:0.72 ve CC:0.28), Küçük Kuyruklu Han (TT:0.78 ve CC:0.22), Wadi (TT:0.71 ve CC:0.53) ve Tan (TT:0.47 ve CC:0.53) koyunlarında iki genotip rapor edilmiştir. Araştırmacılar, Küçük Kuyruklu Han koyunlarında FSHR geni g.1235 T>C polimorfizmi için TT genotipli koyunların (2.37 ± 0.10) CC genotipli olanlardan (1.95 ± 0.18) ortalama daha fazla kuzu dünyaya getirdiklerini ve ilgili genin ıslah programlarında genetik markör olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Tao ve ark. (2024) FSHR geni üzerinde tespit ettikleri polimorfizmin (g.80789180) Dualang ve Suffolk koyun ırklarında çoklu doğumu arttırdığını tespit etmişlerdir. İlgili gen bakımından her iki koyun ırkında üç farklı genotip (TT, TG ve GG) tespit edilmiş olup, her iki ırkta da en yüksek frekans değerine sahip genotip TT olmuştur (Suffolk ırkında; 0.566, Duolang ırkında; 0.566). FSHR geni bakımından GG genotipli Dualang koyunlarında çoklu doğum ortalaması 1.750 ± 0.439 iken TT genotipli olanlarda bu değer 1.463 ± 0.500 bulunmuştur. Benzer şekilde Suffolk koyun ırkında da GG (1.667 ± 0.500) genotipli koyunlar TT (1.176 ± 0.383) olanlardan ortalama daha fazla kuzu dünyaya getirmişlerdir.

Yang ve ark. (2025) GnRHR, BMP6 ve FSHR genlerini dört farklı keçi ırkında (Chongqing black, Chuanzhong black, Leizhou, ve Nubian) çoklu doğum üzerine etkilerini araştırmışlardır. Çalışmada FSHR geni üzerinde iki tekli nükleotit polimorfizm (g.-112C> T ile g.3236C>A) tespit edilmiştir. Araştırma sonuçları Nubian keçisi dışında (g.-112C>T ve g.3236C>A) polimorfizmlerin çoklu doğum ile önemli ilişkilerinin olduğunu göstermiştir.

2.1.8. LHβ genine yönelik yapılan çalışmalar

Li ve ark. (2011) Boer keçilerinde PRLR ve LHβ gen polimorfizmlerin çoklu doğum üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda her iki gen üzerinde tespit edilen polimorfizmlerin farklı düzeylerde çoklu doğum ile ilişkilerinin olduğu rapor edilmiştir.

Bai ve ark. (2016) Çin koyun ırklarında LH β geni üzerinde üç tekli nükleotit polimorfizm (C551T, G391A ve G394A) tespit etmişlerdir. Her üç polimorfizm araştırılan tüm koyun ırklarında (Büyük kuyruklu Lanzhou koyunu, büyük ve küçük kuyruklu Han koyunları, Moğol koyunu, ve Yuxi yağlı kuyruklu koyunu) tespit edilmiştir. C551T C/T polimorfizmi için tespit edilen allel frekansları, Lanzhou büyük kuyruklu koyun, küçük kuyruklu han koyun, Moğol koyunu, büyük kuyruklu han koyun ve Yuxi yağlı kuyruklu koyunlarda sırasıyla; 0.927/0.073, 0.811/0.189, 0.868/0.132, 0.840/0.160, 0.594/0.406 ve 1.00/0.00 olarak hesaplanmıştır. Benzer şekilde, G391A G/A polimorfizmi için 0.711/0.289, 0.705/0.295, 0.780/0.220, 1.00/0.00, 1.00/00 ve 1.00/0.00, G394A G/A polimorfizmi için ise sırasıyla 0.656/0.344, 0.668/0.332, 0.698/0.302, 1.00/0.00, 1.00/0.00 ve 1.00/0.00 olarak hesaplanmıştır. Araştırmacılar, LH β geni üzerinde tespit edilen mutasyonların koyunlarda üreme performansı üzerindeki etkilerini inceleyen daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulduğu belirtmişlerdir.

Cun ve ark. (2019) koyunlarda FSH β ve LH β genlerinin hipotalamik-pitüiter-over eksenindeki (HPOA) gen ifade kalıplarını ve yüksek döl verim mekanizmasını açıklamayı amaçlamışlardır. Araştırmacılar FSH β ve LH β genlerin beyin, beyincik, hipotalamus, ovaryum, uterus, ovidukt ve hipofiz dokularında ifade edildiğini göstermişlerdir. Çalışmada, FSH β geninin özellikle hipotalamus ve overde; LH β geninin ise hipofiz bezinde yüksek düzeyde ifade edildiği bildirilmiştir. Yapılan çalışmada çoklu doğum yapan koyunların hipotalamus, ovaryum ve uterus gibi çeşitli dokularında FSH β ve LH β gen ifade düzeylerinin tekli doğum yapan koyunlardan önemli derecede yüksek olduğu bildirilmiştir. Sonuçlar, FSH β ve LH β genlerinin koyunlarda doğurganlığın düzenlenmesinde rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

Wang ve ark. (2020) yaptıkları çalışmada, koyun LH β geninin cDNA dizisini klonlayıp analiz etmişlerdir ve LH β 'nin ekspresyon paternlerini belirlemişlerdir. Küçük Kuyruklu Han koyunlarında LH β genindeki SNP'nin döl verimi üzerindeki etkisi incelenmiştir. İlişkilendirme analizi sonuçları, koyun LH β geninin g.727C>T polimorfizminin döl verimi ile anlamlı şekilde ilişkili olduğunu göstermiştir (p<0.05). Ayrıca, TT genotipini taşıyan koyunların döl verimleri, CC ve TC genotiplerini taşıyan koyunların döl verimine kıyasla artmıştır (doğum başına sırasıyla 0,39 ve 0,42). Bu bulgular, koyunlarda döl veriminin ıslahında LH β geni g.727C>T polimorfizmin moleküler belirteç olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

Plakkot ve Kanakkaparambil (2021), Attappady Black ve Malabari keçi ırklarında FSH β ve LH β genlerinin ekzon bölgelerinde SNP'lerin varlığını araştırmışlardır.

Attappady Black keçisinin LH β geninde, ekzon pozisyonu 455'te arginin (R) yerine glutamin amino asitinin değişimi ile sonuçlanan bir SNP tespit edilmiştir. Tekli ve çoklu doğum yapan onar adet Attappady Black keçi örneğinin bireysel dizilimi yapıldığında, tekli doğum yapan üç hayvan ve çoklu doğum yapan beş hayvan, LH β transkriptinde pozisyon 455'te G \rightarrow A değişikliği göstermiştir. Her iki ırktan altı hayvandan hipofiz örnekleri toplanmış ve her iki genin ifadeleri qRT-PCR tekniği kullanılarak ölçülmüştür. Irklar arasında hipofiz FSH β ifadesinde önemli bir fark bulunmamıştır. Ancak, LH β ifadesinde iki ırk arasında anlamlı bir fark (P<0.01) bildirilmiş ve Attappady Black ırkında gen ifade düzeyi 2.61 kat artmıştır. Araştırmacılar, keçi ırklarında doğurganlığı kontrol eden genetik ağda LH'ın ana rol oynayabileceğini ancak bu konuda daha kapsamlı çalışmalara gereksinim olduğunu belirtmişlerdir.

2.1.9. GPR54 genine yönelik yapılan çalışmalar

Feng ve ark. (2009) dört farklı keçi ırkında KISS-1 ve GPR54 gen mutasyonlarını PCR-SSP yöntemi ile araştırmışlardır. Çalışmada sadece GPR54 geninde mutasyon tanımlanmıştır. Araştırmacılar Jining Grey keçilerinde GPR54 geni için tespit ettikleri B ve D allellerinin doğumda oğlak sayısını arttırdığını bildirmişlerdir.

Tang ve ark. (2012) tarafından Küçük Kuyruklu Han ve Corriedale koyun ırklarında GPR54 geninin 5' düzenleyici bölgesi üzerinde tekli nükleotit polimorfizmi (A125G) ile bir indel (insertion-deletion) mutasyonu tespit etmişlerdir. Araştırmacılar yapmış oldukları ön çalışma ile tespit ettikleri indel mutasyonunun üreme üzerinde önemli rolünün olabileceğini öngörmüşlerdir.

Maitra ve ark. (2014) 9 farklı Hint keçi ırkında GPR54 geninin ekzon 1, 2 ve 3 ile intronik bölgelerini 5 primer çifti ile amplifiye etmişlerdir. Çalışmada her biri ekzon 1 (C1122T) ve intron 1 (T1830C) üzerinde olmak üzere 2 yeni SNP tespit edilmiştir. Tüm varyasyonlar ve SNP'ler anlamlı bulunmuştur. Sonuçlar, bu mutasyonların erken ve geç gelişen keçi ırkları ile düşük ve yüksek doğurganlık gösteren keçi ırklarında mevcut olduğunu göstermiştir. Sonuçlar, keçi GPR54 geninin genetik varyasyonu hakkında sınırlı bilgiyi genişletmekte olup, keçi verimliliğini artırmak için moleküler ıslah çalışmalarına katkıda bulunabilir.

Aljubouri ve ark. (2025) Karakul ve İvesi koyun ırklarında KISS1 gen polimorfizminin büyüme özellikleri üzerindeki etkilerini araştırdıkları çalışmada 72 G>C polimorfizmi tespit edilmiştir. Araştırmacılar, ilgili polimorfizm bakımından GG

genotipli kuzuların 3 aylık yaş için ölçülen büyüme özellikleri bakımından diğere kuzular ile mukayese edildiğinde daha üstün olduklarını rapor etmişlerdir.

Majd ve ark. (2019) saf ve melez İran koyun ırkları üzerinde yapmış oldukları araştırma sonucunda GPR54 geni için tanımlanan bazı tekli nükleotit polimorfizmlerin Mehraban koyun ırkında çoklu doğum ile ilişkisi olduğunu ortaya koymuştur.

Chu ve ark. (2019) koyunlarda KiSS-1 ve GPR54 gen mutasyonlarını PCR-SSCP yöntemi ile araştırmışlardır. Yapılan çalışmada çoklu doğum özelliği gösteren (Küçük Kuyruklu Han ve Hu koyunları) ve göstermeyen koyun ırklarında (Dorset, Texel ve Corriedale koyunları) KiSS-1 geni ekzon 1 ve GPR54 geni ekzon 1, ekzon 2 ve ekzon 5 bölgelerinde tekli nükleotid polimorfizmlerin tespit edilmesi amacıyla dört çift primer kullanılmıştır. KiSS-1 geni ekzon 1 bölgesinde tespit edilen polimorfizm bakımından yüksek doğurganlık gösteren Küçük Kuyruklu Han koyunlarında üç (AA, AB ve BB) ve Hu koyunlarında ise (AA ve CC) iki farklı genotip tespit edilmiştir. GPR54 geni ekzon 2 bölgesi bakımında ise sadece Hu koyunların polimorfik yapı gösterdikleri bildirilmiştir. Araştırmacılar, BB veya AB genotipine sahip Küçük Kuyruklu Han koyunlarının, AA genotipine sahip olanlardan daha fazla kuzu dünyaya getirdiklerini bildirmişlerdir.

Wu ve ark. (2019) domuzlar üzerinde yapmış oldukları çalışmalarında GPR54 geni T6789C mutasyonunun ilk iki yaş ve sonraki yıllarda doğan yavru sayısını ve doğum ağırlığını etkilediğini bildirmişlerdir.

Dinçel ve ark. (2024)'nın Saanen keçileri üzerinde yapmış oldukları çalışmada KISS1 geni g.2124 T>A polimorfizmi için değişen frekanslarda üç farklı genotip (AA: %10,35 AT: %34,48 ve TT: %55,17) rapor edilmiştir. Araştırmacılar g.2124 T>A polimorfizmin incelenen fertilitate özellikleri üzerinde etkisinin olmadığını bildirmişlerdir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Araştırmanın materyalini Çanakkale ilinde yetiştirilen Sakız ırkına ait toplam 60 baş koyundan alınan kan örnekleri oluşturmuştur (Etik kurul; Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı, No: 68429034/1). Her bir koyundan 10 ml'lik EDTA'lı tüpler içerisine alınan kan örnekleri soğuk zincirde Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Biyoteknoloji Laboratuvarına ulaştırılarak DNA izolasyonuna kadar -20 °C de muhafaza edilmiştir.

3.2. Metot

3.2.1. DNA izolasyonu

Araştırmada kan örneklerinden DNA izolasyonu Thermo Scientific GeneJET Whole Blood Genomic DNA Purification Mini Kit kullanılarak yapılmıştır. DNA izolasyonu kitin içeriğinde yer alan ve aşağıda da belirtilen protokole uygun bir şekilde yapılmıştır.

- 200 µL tam kana 20 µL Proteinase K ve 400 µL Lizis solüsyonları eklenip karıştırılmıştır.
- Numune 56 °C'de 10 dakika inkübe edilmiştir. Bu sırada ara ara hücreler tamamen lizise uğrayana kadar vortekslenmiştir.
- 200 µL etanol (96–100%) eklenip pipetleme ile karıştırılmıştır.
- Hazırlanan karışım spin kolona aktarılmış ve 6,000 × g (~8,000 rpm) hızında 1 dakika santrifüj edilmiştir.
- Flow-through (geçiş sıvısı) içeren toplama tüpü atılarak Spin kolon yeni bir 2 mL'lik toplama tüpüne yerleştirilmiştir.
- 500 µL Wash Buffer (Yıkama Tamponu) WB I (önceden etanol eklenmiş) eklenmiştir. 8,000 × g (~10,000 rpm) hızında 1 dakika santrifüjlenmiştir. Flow-through sıvısı atılıp, spin kolon aynı toplama tüpüne geri yerleştirilmiştir.
- 500 µL Wash Buffer (Yıkama Tamponu) WB II (önceden etanol eklenmiş) spin kolona eklenmiştir. Maksimum hızda ($\geq 20,000 \times g$, $\geq 14,000$ rpm) 3 dakika santrifüjlenmiştir.
- Toplama tüpü boşaltılıp, saflaştırma kolonu tekrar aynı tüpe yerleştirilmiş ve maksimum hızda ($\geq 20,000 \times g$, $\geq 14,000$ rpm) 1 dakika daha santrifüjlenmiştir.

- Flow-through (geçiş sıvısı) içeren toplama tüpü atılıp, kolon steril bir 1.5 mL mikro santrifüj tüpüne aktarılmıştır.
- 200 µL Elüsyon Tamponu, genomik DNA'nın elde edilmesi için kolon membranının tam ortasına eklenmiştir.
- Oda sıcaklığında 2 dakika inkübe edilip, ardından $8,000 \times g$ (~10,000 rpm) hızında 1 dakika santrifüjlenmiştir.
- Saflaştırma kolonu atılıp, elde edilen saf DNA -20 °C'de saklanmıştır.

3.2.2. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)

Araştırmaya elde edilen DNA örneklerinde çalışılacak genlerin PCR ile çoğaltılmasıyla devam edilmiştir. Çalışmada kullanılan FSHR, GPR54 ve LHβ genlerinin primer dizileri, bağlanma sıcaklıkları ile RFLP analizi için kullanıl kesim enzimlerinin listesi Tablo 3.1'de verilmiştir.

Tablo 3.1. Genlere ait primer dizileri, bağlanma sıcaklıkları ve kesim enzimleri

Gen	Primer Dizisi (5'-3')	Bağlanma Sıcaklığı	Restriksiyon Enzimi	Kaynak
FSHR	F: GCTATTGTCTGGAAGTGACCGATAA R: AGAGTACAGCACCCAAGAACGAATG	58 °C	<i>XmnI</i>	He ve ark. (2022)
LHβ	F: TGCTCCAGGTAAGTCTGTAGGG R: AGCGTCTGCTGGCTTTGG	67.5 °C	<i>BsrBI</i>	Wang ve ark. (2020)
GPR54	F: ACCTGGCATCCGCGCAGTT R: CTCAGAGGGGCCCGTCTTGAT	58 °C	<i>TaqI</i>	Tang ve ark. (2012)

3.2.2.1. FSHR geninin PCR metodu ile çoğaltılması

FSHR geninin PCR ile çoğaltılmasında kullanılan kimyasal bileşenler ve reaksiyon koşulları sırasıyla Tablo 3.2 ve Tablo 3.3'te verilmiştir.

Tablo 3.2. FSHR geni için kullanılan PCR bileşenleri

PCR Bileşenleri	PCR bileşimine eklenen miktar (µl)	Stok Konsantrasyon
Master Mix	7 µl	12mM MgCl ₂
Primer Forward	1 µl	10 pmol/ µl
Primer Reverse	1 µl	10 pmol/ µl
Distile Su	6 µl	
DNA	2 µl	
Toplam	17 µl	

Tablo 3.3. FSHR geni için uygulanan PCR reaksiyon koşulları

Aşamalar	Sıcaklık (°C)	Zaman	Döngü Sayısı
İlk Denatürasyon	95 °C	1 dk	1
Denatürasyon	95 °C	1 dk	
Bağlanma	58 °C	1 dk	35
Uzama	72 °C	1 dk	
Son Uzama	72 °C	7 dk	1

3.2.2.2. LHβ geninin PCR metodu ile çoğaltılması

LHβ geninin PCR ile çoğaltılmasında kullanılan kimyasal bileşenler ve reaksiyon koşulları sırasıyla Tablo 3.4 ve Tablo 3.5'te verilmiştir.

Tablo 3.4. LHβ geni için kullanılan PCR bileşenleri

PCR Bileşenleri	PCR bileşimine eklenen miktar (µl)	Stok Konsantrasyon
Master Mix	7 µl	12mM MgCl ₂
Primer Forward	1 µl	10 pmol/ µl
Primer Reverse	1 µl	10 pmol/ µl
Distile Su	6 µl	
DNA	2 µl	
Toplam	17 µl	

Tablo 3.5. LHβ geni için uygulanan PCR reaksiyon koşulları

Aşamalar	Sıcaklık (°C)	Zaman	Döngü Sayısı
İlk Denatürasyon	95 °C	1 dk	1
Denatürasyon	95 °C	1 dk	
Bağlanma	62 °C	1 dk	35
Uzama	72 °C	1 dk	
Son Uzama	72 °C	7 dk	1

3.2.2.3. GPR54 geninin PCR metodu ile çoğaltılması

GPR54 geninin çoğaltılması için hazırlanan PCR bileşenleri Tablo 3.6 ve PCR reaksiyon koşulları Tablo 3.7'de verilmiştir.

Tablo 3.6. GPR54 geni için kullanılan PCR bileşenleri

PCR Bileşenleri	PCR bileşimine eklenen	Stok
	miktar (µl)	Konsantrasyon
Master Mix	7 µl	12mM MgCl ₂
Primer Forward	1 µl	10 pmol/ µl
Primer Reverse	1 µl	10 pmol/ µl
Distile Su	5 µl	
DNA	3 µl	
Toplam	17 µl	

Tablo 3.7. GPR54 geni için uygulanan PCR reaksiyon koşulları

Aşamalar	Sıcaklık (°C)	Zaman	Döngü Sayısı
İlk Denatürasyon	95 °C	1 dk	1
Denatürasyon	95 °C	1 dk	
Bağlanma	55 °C	1 dk	35
Uzama	72 °C	1 dk	
Son Uzama	72 °C	7 dk	1

3.2.3. Restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi (RFLP)

FSHR, LHβ ve GPR54 gen mutasyonlarının belirlenmesinde ilgili genlere ait PCR ürünleri sırasıyla *XmnI*, *BsrBI* ve *TaqI* kesim enzimleri kullanılarak RFLP işlemine tabi tutulmuştur. Her üç gen için takip edilen RFLP protokolü benzer olup kullanılan reaksiyon bileşenleri ve miktarları Tablo 8’de verilmiştir.

Tablo 3.8. RFLP analizi için kullanılan reaksiyon bileşenleri ve miktarları

PCR-RFLP yönteminde kullanılan bileşenler;	Miktar
PCR ürünü	10 µL
10X Buffer Tango	2 µL
Enzim (PdmI)	1 µL
Distile Su	18 µL

RFLP analizi için her tüpe 10’ar µL PCR ürünü 21 µL reaksiyon bileşeni eklenerek örnekler önce 16 saat boyunca 37.5 °C’de, daha sonra 20 dakika boyunca 65 °C’de inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra örnekler %2’lik agaroz jel hazırlanarak elektroforez tankında yürütülüp UV cihazından görüntülemeleri sağlanmıştır. Elektroforez işlemi sonunda bantların büyüklükleri 100 bp DNA ladder kullanılarak

belirlenmiştir. Bireylerin sahip oldukları genotipik yapılar elde edilen bantların sayısı ve büyüklüklerine göre belirlenmiştir.

3.2.4. Agaroz jel elektroforezi ve bantların gözlenmesi

Elde edilen PCR ve RFLP sonuçlarının kontrolünde Agaroz jel elektroforez yöntemi kullanılmıştır. Çalışma sırasında elektroforez çözeltisi için hazır TAE tamponu kullanılmıştır. Agaroz jel 1µl jel yükleme boyası kullanılarak %2 yoğunlukta hazırlanmıştır. %2'lik yoğunlukta hazırlanan agaroz jel, hava kabarcığı oluşumunu engelleyecek şekilde yavaşça tarafları yerleştirilmiş jel teknesine dökülmüş ve oda sıcaklığında donması için beklenmiştir. Bu işlemden sonra, PCR ve RFLP ürünleri, kuyucuklara dikkatlice yüklenmiş ve bir kuyucuğa bantların yaklaşık büyüklüklerinin tahmin edilmesi amacıyla 100 bp'lik DNA ladder eklenmiştir. Çalışılan genler bakımından genotiplemenin yapılabilmesi için RFLP ürünleri 110 V elektrik akımı uygulanarak 30 dakika süreyle elektroforez işlemine tabi tutulmuştur. Elektroforez işlemi sonrasında ise jel teknesi tanktan alınıp UV transilluminator cihazında ultraviyole ışık altında görüntülenmiştir.

3.2.5. İstatistiksel analizler

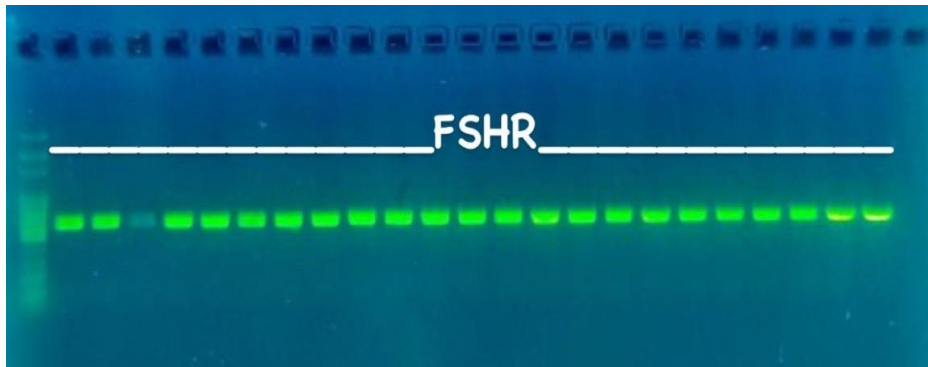
Çalışmada allel ve genotip frekanslar ile gözlemlenen ve beklenen heterozigosite değerleri ve çalışılan popülasyonun Hardy-Weinberg dengesinde olup olmadığının test edilmesinde PopGene 3.2 programı kullanılmıştır (Yeh ve ark., 2000).

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

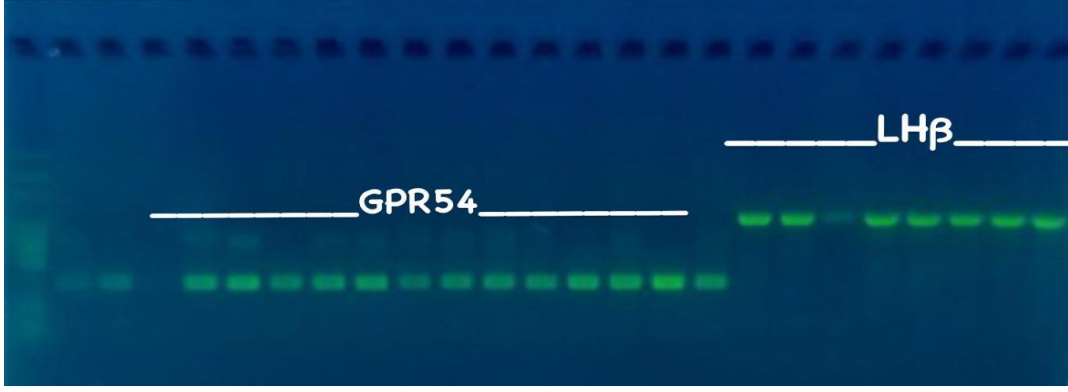
Son yıllarda, dünyada yapılan genom boyu ilişkilendirme analizleri sonucunda çoklu doğumu etkileyen farklı gen bölgeleri ve mutasyon türleri tanımlanmakta ve bunun sonucunda ise yeni araştırma imkanları doğmaktadır. Örneğin, Çin prolifik koyun ırklarında yapılan çalışmalarda, FSHR, LH β ve GPR54 gen mutasyonlarının çoklu doğum üzerinde etkileri olduğu ortaya konmuştur (Tang ve ark., 2012; Chu ve ark., 2019; Cun ve ark., 2019; He ve ark., 2021). Bu çalışmada, Türkiye yerli koyun ırklarında daha çok incelenen majör genlerin (Ağyar ve Kırıkçı, 2022; Gürsel ve ark., 2011; Karlı ve ark., 2012; Kırıkçı ve Çam, 2020; Kırıkçı, 2023a; Kırıkçı, 2023b) yerine FSHR, LH β ve GPR54 genlerinin araştırılmış olması, tez çalışmasına bilimsel açıdan özgünlük kazandırmaktadır. Türkiye yerli koyun ırkları üzerine adı geçen genler üzerinde herhangi bir çalışmaya rastlanılmamasından dolayı ise tartışma kısmında farklı tür ve genler üzerinde yapılan çalışmalara da yer verilmiştir.

4.1. DNA İzolasyonu ve PCR

Çalışmada Sakız ırkına ait 60 adet kan örneğinden genomik DNA'nın elde edilmesinden sonra FSHR (1068 bç), LH β (1018 bç) ve GPR54 (349 bç) genleri üzerindeki hedef bölgeler PCR ile çoğaltılmıştır. Agaroz jel elektroforezi ve UV görüntüleme işlemleri sonrasında Şekil 4.1 ve Şekil 4.2'de görüldüğü üzere çalışılan hedef gen bölgeleri tüm örnekler için başarılı bir şekilde elde edilmiştir.



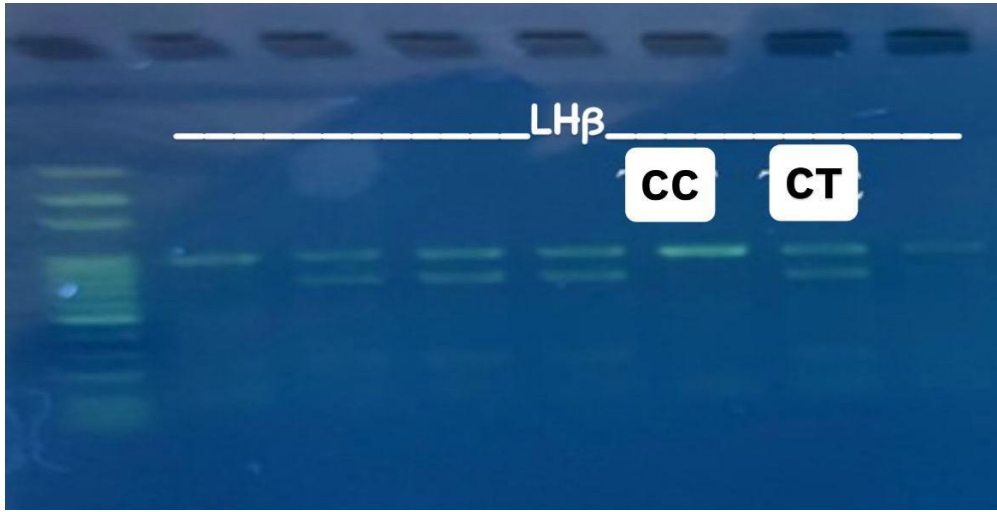
Şekil 4.1. PCR sonrası FSHR genine ait jel görüntüsü



Şekil 4.2. PCR sonrası GPR54 ve LH β genlerine ait jel görüntüsü

4.2. PCR-RFLP Analizi

PCR-RFLP işlemi sonrasında Sakız ırkında sadece LH β geni üzerinde g.727C>T mutasyonu tespit edilmiştir. FSHR ve GPR54 genlerinde ise polimorfik bir yapı gözlenmemiştir. Bu nedenle sadece LH β geni için PCR-RFLP sonuçları verilmiştir. Çalışmada LH β geni için iki allel (C ve T) ve iki genotip (CC ve CT) belirlenmiştir. Tespit edilen homozigot CC ve heterozigot CT genotiplerine ait jel görüntüsü Şekil 4.3'te verilmiştir.



Şekil 4.3. PCR-RFLP sonrası jel görüntüsü

Çalışma sonucunda, Sakız ırkında sadece LH β geni bakımından polimorfizmin bulunduğu, diğer iki genin ise monomorfik bir yapı gösterdiği tespit edilmiştir. Bu nedenle, Tablo 3.11'de de görüleceği üzere allel ve genotip frekansları sadece LH β geni için hesaplanmıştır.

Tablo 3.9. LH β geni allel ve genotip frekansları ile heterozigosite değerleri

Gen	Allel Frekansı		Genotip Frekansı		Ki-Kare (χ^2)	Ho	He
	C	T	CC	CT			
LH β	0.81	0.19	0.62	0.38	3.205971	0.383	0.313

LH β geni için Sakız ırkında CC ve CT olmak üzere iki genotip tespit edilmiş olup frekans değerleri sırasıyla %62 ve %38 olarak hesaplanmıştır. Popülasyonda en yaygın bulunan allel %81 frekans değeri ile C alleli olmuştur. T allel frekans değeri ise %19 olarak hesaplanmıştır. Benzer şekilde Çin Han koyununda ise C alleli en yüksek frekans değerinde bulunmuştur (Wang ve ark., 2020). Küçük Kuyruklu Han koyunu prolific bir ırk olup TT genotipli bu ırka ait koyunların daha fazla kuzu dünyaya getirdikleri bildirilmiştir. Mevcut çalışmada ise doğurganlık oranıyla öne çıkan Sakız ırkında CC genotipin frekans değeri oldukça yüksek bulunmuştur. Domuz ve keçi türünde yapılan kimi araştırmalarda da LH β geni bakımından polimorfik sonuçlar elde edildiği bildirilmiştir (Zhang ve ark., 2010; Zi ve ark., 2013). Prolifik ve prolific olmayan keçilerde LH β gen ifade düzeylerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada, gen ifade düzeyinin prolific ırklarda daha yüksek olduğu ortaya konmuştur (Zi ve ark., 2013). Mevcut çalışma, Sakız ırkının LH β geni için genetik varyasyona sahip olduğunu göstermiştir. Sakız ırkı koyunlar, çoklu doğum özelliği göstermesine karşın sayıca az ve koruma altında olan önemli bir gen kaynağıdır. Bu bağlamda, gelecekte yapılacak kapsamlı araştırmalar ile LH β geninin çoklu doğum üzerindeki etkisinin ortaya konması, Sakız ırkında moleküler teknikleri içeren yeni koruma stratejilerinin oluşturulmasına katkı sağlayabilecektir.

Sakız ırkında FSHR geni üzerinde herhangi bir mutasyon tespit edilmez iken Dualang ve Suffolk koyun ırklarında tespit edilen polimorfizmin (g.80789180) çoklu doğum üzerinde etkisi olduğu bildirilmiştir. Benzer şekilde kimi Çin koyun ırklarında (He ve ark., 2021; Tao ve ark., 2024) ve Jining Grey keçisinde (Guo ve ark., 2013) FSHR geni bakımından polimorfik yapı bildirilmiştir. Polimorfizmlerin tespit edilmesinin olası nedenleri arasında çalışılan ırk ve gen bölgelerinin farklılık göstermesi ile kullanılan moleküler yöntemler ile örnek büyüklükleri gösterilebilir. Diğer yandan FSHR geni ekzon 10 bölgesi bakımından Endonezya Siyah alaca sığırlarının polimorfik yapı gösterdikleri ve tespit edilen g.2037C>G polimorfizminin gebelik başına servis periyodu ile ilişkisi olduğu bildirilmiştir (Setyorini ve ark., 2023). Benzer polimorfik yapı bazı Sudan sığır ırklarında da bildirilmiştir (Prihandini ve ark., 2021).

Çalışmada monomorfik yapı gösteren bir diğer gen ise GPR54 dır. Çin Han koyununda GRP54 geni üzerinde sekiz farklı bölgenin araştırılması neticesinde polimorfik yapı elde edilmiştir (Tang ve ark., 2012). Hindistana özgü dokuz keçi ırkında GPR54 geni üzerinde incelenen beş farklı bölgenin ikisinde polimorfizm bildirilmiştir (Maitra ve ark., 2014). Domuzlarda yapılan bir çalışmada ise GPR54 geni üzerinde altı farklı ekzon bölgesinin araştırılması sonucunda üç tekli nükleotit polimorfizm (T3739C, C3878T ve T6789C) tanımlanmıştır (Wu ve ark., 2019). Sığırlar üzerinde yapılan bir başka çalışmada ise beş farklı tekli nükleotit polimorfizm tanımlanmış olup rs442633552G>A ve rs42022871C>T polimorfizmlerinin kuruda kalma süresiyle önemli ilişkisinin olduğu ve rs42022871C>T polimorfizmin ise süt verim özellikleri üzerinde önemli rol oynadığı ortaya konmuştur. Yukarıdaki değinilen çalışmalarda da görüldüğü üzere polimorfizmlerin tanımlanmasında çalışılan tür, ırk ve araştırılan gen bölgelerinin önemli rolü olduğu söylenebilir.

Çalışmada LH β geni için gözlenen (H_o) ve beklenen (H_e) heterozigosite değerleri sırasıyla 0,383 ile 0,313 olarak hesaplanmıştır. Ki-kare analizi sonucuna göre ise, araştırılan Sakız ırkı koyun popülasyonunun Hardy-Weinberg dengesinde olduğu sonucuna varılmıştır ($X^2= 3.205971$, $P>0.05$). Bunun olası sebepleri arasında ise işletmelerde çiftleştirmelerin kontrollü yapılması ve kullanılan koçların belirli aralıklar ile değiştirilmiş olması gösterilebilir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, ilk kez FSHR, LH β ve GPR54 genlerine ait mutasyonlar Sakız ırkında araştırılmış ve sadece LH β geninde g.727C>T mutasyonu tespit edilmiştir. Sakız koyun ırkında LH β geni için iki allel (C ve T) ve iki genotip (CC ve CT) tespit edilmiştir. Çalışmada C ve T allel frekansları sırasıyla 0,62 ve 0,38 olarak hesaplanmıştır. Araştırmada CT genotipli birey sayısının CC genotipli birey sayısından daha az olmasının sebebi T allel frekansının araştırılan popülasyonda az bulunmasıdır.

Ki-Kare analizi sonucunda Sakız ırkı koyun popülasyonunun Hardy-Weinberg dengesinde olduğu görülmüştür. Bunun başlıca olası nedenleri arasında, örneklemelerin yapıldığı işletmelerde çiftleştirmelerin kontrollü yapılması ve koçların dönüşümlü olarak kullanılması yer almaktadır. Araştırmada FSHR ve GPR54 genleri ise monomorfik bir yapı göstermiştir.

Sakız koyun ırkında LH β geninde mutasyon tespit edilmesi, gelecekte bu alanda yapılacak çalışmalara fikir vermesi açısından önemlidir. LH β geni üzerindeki tespit edilen varyasyon, Sakız ırkında LH β geni ile döl verim özellikleri arasındaki ilişkilerin araştırılması için gelecekte önemli bir fırsat oluşturacağı düşünülmektedir. Ancak, şu da bilinmelidir ki çoklu doğum özelliğinin sadece LH β mutasyonundan kaynaklandığını söylemek, ilgili özelliğin kantitatif doğasından dolayı oldukça zordur.

Sonuç olarak, Sakız ırkı koyunlarda çoklu doğum ile ilişkili majör veya diğer genler üzerinde herhangi bir mutasyonun tanımlanması ve bu ırkta etkisinin ortaya konması gerek DNA düzeyinde yapılacak moleküler ıslah çalışmalarına katkı sağlaması bakımından gerekse bu konuda yapılacak araştırmalara yön vermesi bakımından önem teşkil etmektedir. Ayrıca, Sakız ırkında kullanılacak bir mutasyonun tespiti, Sakız ırkının çoklu doğum özelliğinden daha etkin ve ekonomik şekilde yararlanılmasına katkı sağlayacaktır. Gelecekte, fenotipik verilerin olduğu çok sayıda örnek ve gen bölgesini içeren çalışmaların yapılması ile Sakız ırkında döl veriminin genetik mekanizması daha kapsamlı ortaya konabilecektir.

KAYNAKLAR

- Aaronson, D. S., & Horvath, C. M. (2002). A road map for those who don't know JAK-STAT. *Science*, 296(5573), 1653-1655.
- Abdel-Rahman, S., Mustafa, Y., Errasool, H. A., Heikal, H., & Elmaghraby, A. (2019). FSHR (exon 10) gene polymorphisms and its association with fertility trait in Egyptian Ossimi sheep. *Biotechnology in Animal Husbandry*, 35(2), 127-140.
- Acierno Jr, J. S., Shagoury, J. K., Bo-Abbas, Y., Crowley Jr, W. F., & Seminara, S. B. (2003). A locus for autosomal recessive idiopathic hypogonadotropic hypogonadism on chromosome 19p13.3. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 88(6), 2947-2950.
- Ağyar, O., & Kırıkçı, K. (2022). Investigation of FecXI mutation by PCR-RFLP method in Awassi sheep breed. *Bahri Dağdaş Hayvancılık Araştırma Dergisi*, 11(2), 88-93.
- Aljoubouri, T. R., & Al-Shuhaib, M. B. S. (2025). Association between KISS1 gene and growth traits in two Middle Eastern sheep breeds: the Iranian Karakul and the Iraqi Awassi. *Tropical Animal Health and Production*, 57(4), 1-11.
- Amini, H. R., Ajaki, A., Farahi, M., Heidari, M., Pirali, A., Forouzanfar, M., & Eghbalsaid, S. (2018). The novel T755C mutation in BMP15 is associated with the litter size of Iranian Afshari, Ghezel, and Shal breeds. *Archives Animal Breeding*, 61(1), 153-160.
- Ando, H., & Urano, A. (2005). Molecular regulation of gonadotropin secretion by gonadotropin releasing hormone in salmonid fishes. *Zoological Science*, 22(4), 379-389.
- Ando, H., Ukena, K., & Nagata, S. (Eds.). (2021). *Handbook of hormones: comparative endocrinology for basic and clinical research*. Academic Press.
- Anonim (2025). Folikül uyarıcı hormon. Erişim Linki: https://en.wikipedia.org/wiki/Follicle-stimulating_hormone, Erişim Tarihi: 3 Haziran 2025.
- Archibald, A.L., Cockett, N.E., Dalrymple, B.P., Faraut, T., Kijas, J.W., Maddox, J.F., McEwan, J.C., Hutton Oddy, V., Raadsma, H.W., Wade, C., Wang, J., Wang, W., Xun, X. (2010) The sheep genome reference sequence: a work in progress. *Animal Genetics* 41, 449–453.

- Atay, S., Yurdagül, K. G., Bilginer, Ü., Karşlı, T., & Demir, E. (2023). InDel variations of PRL and GHR genes associated with litter size in Pirlak sheep breed. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 20(4), 890-897.
- Aymaz, R., Özdil, F., & Yaman, Y. (2024). Türkiye'nin bazı yerli koyun ırklarında doğurganlık ile ilgili gen Türkiye'nin bazı yerli koyun ırklarında doğurganlık ile ilgili gen bölgelerinin moleküler karakterizasyonu. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 48, 33-40.
- Baenziger, J. U., Kumar, S., Brodbeck, R. M., Smith, P. L., & Beranek, M. C. (1992). Circulatory half-life but not interaction with the lutropin/chorionic gonadotropin receptor is modulated by sulfation of bovine lutropin oligosaccharides. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 89(1), 334-338.
- Bai, J. Y., Jia, X. P., Yang, Y. B., Pang, Y. Z., & Qi, Y. X. (2016). Polymorphism analysis of LH [beta] gene in sheep. *Pakistan Journal of Zoology*, 48(4).
- Basavarajappa, M. S., De, S., Thakur, M., Datta, T. K., Dogra, G., Yadav, P., & Goswami, S. L. (2008). Characterization of the luteinizing hormone beta (LH- β) subunit gene in the Indian river buffalo (*Bubalus bubalis*). *General and Comparative Endocrinology*, 155(1), 63-69.
- Bhartiya, D., & Patel, H. (2021). An overview of FSH-FSHR biology and explaining the existing conundrums. *Journal of Ovarian Research*, 14, 1-14.
- Bonneau, M., Dufour, R., Chouvet, C., Roulet, C., Meadus, W., & Squires, E. J. (1994). The effects of immunization against luteinizing hormone-releasing hormone on performance, sexual development, and levels of boar taint-related compounds in intact male pigs. *Journal of Animal Science*, 72(1), 14-20.
- Bonny, S. P., Gardner, G. E., Pethick, D. W., & Hocquette, J. F. (2017). Artificial meat and the future of the meat industry. *Animal Production Science*, 57(11), 2216-2223.
- Cerrato, F., Shagoury, J., Kralickova, M., Dwyer, A., Falardeau, J., Ozata, M., Vliet, G.V., Bouloux, P., Hall, J.E., Hayes, F.J., Pitteloud, N., Martin, K.A., Welt, C., Seminara, S. B. (2006). Coding sequence analysis of GNRHR and GPR54 in patients with congenital and adult-onset forms of hypogonadotropic hypogonadism. *European Journal of Endocrinology*, 155(Supplement_1), S3-S10.
- Chu, M. X., Guo, X. H., Feng, C. J., Li, Y., Huang, D. W., Feng, T., Cao, G.L., Fang, L., Di, R., Tang, Q.Q., Ma, Y.H., & Li, K. (2012). Polymorphism of 5' regulatory region of ovine FSHR gene and its association with litter size in Small Tail Han sheep. *Molecular biology reports*, 39, 3721-3725.

- Colledge, W. H. (2004). GPR54 and puberty. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 15(9), 448-453.
- Cui, W., Wang, H., Li, J., Lv, D., Xu, J., Liu, M., & Yin, G. (2024). Sheep litter size heredity basis using genome-wide selective analysis. *Reproduction in Domestic Animals*, 59(7), e14689.
- Cun JingYu, C. J., Liu QiuYue, L. Q., Wang XiangYu, W. X., Di Ran, D. R., Hu WenPing, H. W., Zhang XiaoSheng, Z. X., ... & Chu MingXing, C. M. (2019). Expression of FSH β and LH β in the reproductive axis in Small Tail Han sheep. *Chinese Journal of Animal Science*, 55 (1), 37-41.
- Çelikeloğlu, K., Erdoğan, M., Hacan, Ö., Koçak, S., Bozkurt, Z., & Tekerli, M. (2018). Pırlak koyunlarında BMPR1B, BMP15 ve GDF9 genlerinde olası polimorfizmlerin araştırılması. *Kocatepe Veterinary Journal*, 11(4), 356-362.
- Çolak, A., Cengiz, M., & Polat, B. (2015). Lüteinleştirici hormon. *Turkiye Klinikleri Veterinary Sciences-Obstetrics and Gynecology-Special Topics*, 1(2), 19-25.
- Das, N., & Kumar, T. R. (2018). Molecular regulation of follicle-stimulating hormone synthesis, secretion and action. *Journal of Molecular Endocrinology*, 60(3), R131-R155.
- Davis, G. H., Balakrishnan, L., Ross, I. K., Wilson, T., Galloway, S. M., Lumsden, B. M., Hanrahan, J.P., Mullen, M., Mao, X.Z., Wang, G.L., Zhao, Z.S., Zeng, Y.Q., Robinson, J.J., Mavrogenis, A.P., Papachristoforou, C., Peter, C., Baumung, R., Cardyn, P., Boujenane, I., Cockett, N.E., & Notter, D. R. (2006). Investigation of the Booroola (FecB) and Inverdale (FecXI) mutations in 21 prolific breeds and strains of sheep sampled in 13 countries. *Animal Reproduction Science*, 92(1-2), 87-96.
- Demir, A.N. (2024). Janus kinazların yapısı ve fonksiyonları. *Turkiye Klinikleri Rheumatology-Special Topics*, 17(2), 7-10.
- Dinçel, D., Ardıçlı, S., Soyudal, B., Er, M., Alpay, F., Şamlı, H., & Balci, F. (2015). Analysis of FecB, BMP15 and CAST gene mutations in Sakiz sheep. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 21(4).
- Dinçel, D., Toker, M. B., & Doğan, İ. (2024). Detection of the effect of the KISS1 gene on reproductive parameters in Saanen goats. *Journal of Research in Veterinary Medicine*, 43(1), 69-75.

- Dube, J. L., Wang, P., Elvin, J., Lyons, K. M., Celeste, A. J., & Matzuk, M. M. (1998). The bone morphogenetic protein 15 gene is X-linked and expressed in oocytes. *Molecular Endocrinology*, *12*(12), 1809-1817.
- Evans, H. M., & Long, J. A. (1922). Characteristic effects upon growth, oestrus and ovulation induced by the intraperitoneal administration of fresh anterior hypophyseal substance. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *8*(3), 38-39.
- Feng, T., Zhao, Y. Z., Chu, M. X., Zhang, Y. J., Fang, L., Di, R., Cao, G.L., & Li, N. (2009). Association between sexual precocity and alleles of KISS-1 and GPR54 genes in goats. *Animal Biotechnology*, *20*(3), 172-176.
- Fredriksson, R., Lagerström, M. C., Lundin, L. G., & Schiöth, H. B. (2003). The G-protein-coupled receptors in the human genome form five main families. Phylogenetic analysis, paralogon groups, and fingerprints. *Molecular Pharmacology*, *63*(6), 1256-1272.
- Funes, S., Hedrick, J. A., Vassileva, G., Markowitz, L., Abbondanzo, S., Golovko, A., Yang, S., Monsma, F.J., & Gustafson, E. L. (2003). The KiSS-1 receptor GPR54 is essential for the development of the murine reproductive system. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *312*(4), 1357-1363.
- Galloway, S. M., Gregan, S. M., Wilson, T., McNatty, K. P., Juengel, J. L., Ritvos, O., & Davis, G. H. (2002). Bmp15 mutations and ovarian function. *Molecular and cellular endocrinology*, *191*(1), 15-18.
- Gentili, S., Waters, M. J., & McMillen, I. C. (2006). Differential regulation of suppressor of cytokine signaling-3 in the liver and adipose tissue of the sheep fetus in late gestation. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, *290*(4), R1044-R1051.
- Gharib, S. D., Wierman, M. E., Shupnik, M. A., & Chin, W. W. (1990). Molecular biology of the pituitary gonadotropins. *Endocrine Reviews*, *11*(1), 177-199.
- Gloaguen, P., Crépieux, P., Heitzler, D., Poupon, A., & Reiter, E. (2011). Mapping the follicle-stimulating hormone-induced signaling networks. *Frontiers in endocrinology*, *2*, 45.
- Greives, T. J., Mason, A. O., Scotti, M. A. L., Levine, J., Ketterson, E. D., Kriegsfeld, L. J., & Demas, G. E. (2007). Environmental control of kisspeptin: implications for seasonal reproduction. *Endocrinology*, *148*(3), 1158-1166.

- Guo, X., Li, Y., Chu, M., Feng, C., Di, R., Liu, Q., Feng, T., Cao, G., Huang, D., Fang, L., Tang, Q., Ma, Y., & Li, K. (2013). Polymorphism of 5' regulatory region of caprine FSHR gene and its association with litter size in Jining Grey goat. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 37(5), 497-503.
- Gürsel, E., Akis, I., Durak, H., Mengi, A., & Oztabak, K. (2011). Determination of BMP-15, BMP-1B and GDF-9 gene mutations of the indigenous sheep breeds in Turkey. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 17(5), 725-729.
- Han, S. K., Gottsch, M. L., Lee, K. J., Popa, S. M., Smith, J. T., Jakawich, S. K., Clifton, D.K., Steiner, R.A., & Herbison, A. E. (2005). Activation of gonadotropin-releasing hormone neurons by kisspeptin as a neuroendocrine switch for the onset of puberty. *Journal of Neuroscience*, 25(49), 11349-11356.
- Hartree, A. S., & Shownkeen, R. C. (1991). Studies of human pituitary LH containing internally cleaved β subunit. *Journal of Molecular Endocrinology*, 6(1), 101-109.
- He, X., La, Y., Wang, J., Di, R., Liu, Q., Wang, X., Di, R., Liu, Q., Wang, X., Hu, W., & Chu, M. (2021). Expression and polymorphism of FSHR gene in sheep with different fecundity. *Pakistan Journal of Zoology*, 54(2), 1-9.
- Huang, K., Wang, Y., Zhang, T., He, M., Sun, G., Wen, J., Yan, H., Cai, H., Yong, C., Xia, G., & Wang, C. (2018). JAK signaling regulates germline cyst breakdown and primordial follicle formation in mice. *Biology Open*, 7(1), bio029470.
- Huhtaniemi, I. (2015). A short evolutionary history of FSH-stimulated spermatogenesis. *Hormones*, 14(4), 468-478.
- Irwig, M. S., Fraley, G. S., Smith, J. T., Acohido, B. V., Popa, S. M., Cunningham, M. J., Gottsch, M.L., Clifton, D.K., & Steiner, R. A. (2005). Kisspeptin activation of gonadotropin releasing hormone neurons and regulation of KiSS-1 mRNA in the male rat. *Neuroendocrinology*, 80(4), 264-272.
- Janssens, S., Vandepitte, W., & Bodin, L. (2004). Genetic parameters for litter size in sheep: natural versus hormone-induced oestrus. *Genetics Selection Evolution*, 36(5), 543-562.
- Jiang, X., Dias, J. A., & He, X. (2014). Structural biology of glycoprotein hormones and their receptors: insights to signaling. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 382(1), 424-451.
- Jiang, X., Liu, H., Chen, X., Chen, P. H., Fischer, D., Sriraman, V., Yu, H.N., Arkinstall, S., & He, X. (2012). Structure of follicle-stimulating hormone in complex with the

- entire ectodomain of its receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(31), 12491-12496.
- Kaiser, U. B., & Kuohung, W. (2005). KiSS-1 and GPR54 as new players in gonadotropin regulation and puberty. *Endocrine*, 26, 277-284.
- Karlı, T., Şahin, E., Karlı, B. A., Alkan, S., & Balcıoğlu, M. S. (2012). An investigation of mutations (FecXG, FecXI, FecXH, FecXB) on BMP-15 gene in some local sheep breeds raised in Turkey. *Akdeniz University Journal of the Faculty of Agriculture*, 25(1), 29-33.
- Kaymakçı, M., & Sönmez, R. (1996). İleri koyun yetiştiriciliği. Ege Üniversitesi Basım Evi, Bornova-İzmir, 20-5.
- Kaymakçı, M., Taşkın, T. (2008). Türkiye koyuncululuğunda melezleme çalışmaları. *Hayvansal üretim*, 49 (2).
- Kırıkçı, K. (2023a). Investigation of BMP15 and GDF9 gene polymorphisms and their effects on litter size in Anatolian sheep breed Akkaraman. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 47(3), 248-254.
- Kırıkçı, K. (2023b). Investigation of SNPs in BMP15 and GDF9 genes in "Çepni" and "Of" sheep in the Black Sea region of Turkey. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 47(3), 293-300.
- Kırıkçı, K., & Cam, M. (2020). Türkiye yöresel yeni koyun tipi Of koyunlarında GDF9 (FecG1) gen polimorfizmin PCR-RFLP yöntemi ile araştırılması. *Manas Journal of Agriculture Veterinary and Life Sciences*, 10(2), 98-102.
- Kırıkçı, K., Cam, M., & Mercan, L. (2021). Investigation of the CAST gene polymorphism in Karayaka sheep. *Manas Journal of Agriculture Veterinary and Life Sciences*, 11(1), 89-93.
- Kotani, M., Detheux, M., Vandebogaerde, A., Communi, D., Vanderwinden, J. M., Le Poul, E., Brezillon, S., Tyldesley, R., Suarez-Huerta, N., Vandeput, F., Blanpain, C., Schiffmann, S.N., Vassart, G., & Parmentier, M. (2001). The metastasis suppressor gene KiSS-1 encodes kisspeptins, the natural ligands of the orphan G protein-coupled receptor GPR54. *Journal of Biological Chemistry*, 276(37), 34631-34636.
- Lapthorn, A.J., Harris, D.C., Littlejohn, A., Lustbader, J.W., Canfield, R.E., Machin, K. J., Morgan, F.J., & Isaacs, N.W. (1994). Crystal structure of human chorionic gonadotropin. *Nature*, 369(6480), 455-461.

- Lee, D. K., Nguyen, T., O'Neill, G. P., Cheng, R., Liu, Y., Howard, A. D., Nathalie, C., Tan, C.P., Tang-Nguyen, A.T., George, S.R., & O'Dowd, B. F. (1999). Discovery of a receptor related to the galanin receptors. *FEBS Letters*, *446*(1), 103-107.
- Li, G., An, X. P., Fu, M. Z., Hou, J. X., Sun, R. P., Zhu, G. Q., Wang, J.G., & Cao, B. Y. (2011). Polymorphism of PRLR and LH β genes by SSCP marker and their association with litter size in Boer goats. *Livestock Science*, *136*(2-3), 281-286.
- Li, M. D., & Ford, J. J. (1998). A comprehensive evolutionary analysis based on nucleotide and amino acid sequences of the alpha-and beta-subunits of glycoprotein hormone gene family. *Journal of Endocrinology*, *156*(3), 529-542.
- Liu, W. K., Nahm, H. S., Sweeney, C. M., Holcomb, G. N., & Ward, D. N. (1972). The primary structure of ovine luteinizing hormone: II. the amino acid sequence of the reduced, s-carboxymethylated α -subunit (LH- β). *Journal of Biological Chemistry*, *247*(13), 4365-4381.
- Luan, X., Yu, H., Wei, X., Zhou, Y., Wang, W., Li, P., Gan, X., Wei, D., & Xiao, J. (2007). GPR54 polymorphisms in Chinese girls with central precocious puberty. *Neuroendocrinology*, *86*(2), 77-83.
- Maitra, A., Sharma, R., Ahlawat, S., & Tantia, M. S. (2014). Novel genetic polymorphisms in caprine GPR54 gene associated with reproductive functions. *Indian Journal of Animal Science*, *84*(11), 1196-1201.
- Majd, S. A., Ahmadi, A., Talebi, R., Koochi, P. M., Fabre, S., & Qanbari, S. (2019). Polymorphism identification in ovine KISS1R/GPR54 gene among pure and crossbreeds of Iranian sheep. *Small Ruminant Research*, *173*, 23-29.
- Messinis, I. E., Messini, C. I., & Dafopoulos, K. (2014). Novel aspects of the endocrinology of the menstrual cycle. *Reproductive biomedicine online*, *28*(6), 714-722.
- Muir, A. I., Chamberlain, L., Elshourbagy, N. A., Michalovich, D., Moore, D. J., Calamari, A., Szekeres, P.G., Sarau, H.M., Chambers, J.K., Murdock, P., Steplewski, K., Shabon, U., Miller, J.E., Middleton, S.E., Darker, J.G., Larminie, C.G.C., Wilson, S., Bergsma, D.J., Emson, P., Faull, R., Philpott, K.L., & Harrison, D. C. (2001). AXOR12, a novel human G protein-coupled receptor, activated by the peptide KiSS-1. *Journal of Biological Chemistry*, *276*(31), 28969-28975.
- Nazifi, N., Rahimi-Mianji, G., & Ansari-Pirsaraii, Z. (2015). Polymorphism in FSH β and FSHR genes and their relationship with productive and reproductive performance

- in Iran Black, Arman and Baluchi sheep breeds. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 5(2).
- Nogueira, M. F. G., Buratini, J., Price, C. A., Castilho, A. C. S., Pinto, M. G. L., & Barros, C. M. (2007). Expression of LH receptor mRNA splice variants in bovine granulosa cells: changes with follicle size and regulation by FSH in vitro. *Molecular Reproduction and Development: Incorporating Gamete Research*, 74(6), 680-686.
- Oakley, A. E., Clifton, D. K., & Steiner, R. A. (2009). Kisspeptin signaling in the brain. *Endocrine Reviews*, 30(6), 713–743. <https://doi.org/10.1210/er.2009-0005>.
- Ohtaki, T., Shintani, Y., Honda, S., Matsumoto, H., Hori, A., Kanehashi, K., Terao, Y., Kumano, S., Takatsu, Y., Masuda, Y., Ishibashi, Y., Watanabe, T., Asada, M., Yamada, T., Suenaga, M., Kitada, C., Usuki, S., Kurokawa, T., Onda, H., Nishimura, O., & Fujino, M. (2001). Metastasis suppressor gene KiSS-1 encodes peptide ligand of a G-protein-coupled receptor. *Nature*, 411(6837), 613-617.
- Özmen, Ö. (2010). *Sakız, Akkaraman ve İvesi ırkı koyunlarda prolaktin reseptör (PRLR) geni polimorfizmi*. Doktora Tezi, Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Elâzığ, 131s.
- Pallais, J. C., Bo-Abbas, Y., Pitteloud, N., Crowley Jr, W. F., & Seminara, S. B. (2006). Neuroendocrine, gonadal, placental, and obstetric phenotypes in patients with IHH and mutations in the G-protein coupled receptor, GPR54. *Molecular and cellular endocrinology*, 254, 70-77.
- Pan, X., Liu, S., Li, F., Wang, W., Li, C., Ma, Y., & Li, T. (2014). Molecular characterization, expression profiles of the ovine FSHR gene and its association with litter size. *Molecular Biology Reports*, 41, 7749-7754.
- Parhar, I. S., Ogawa, S., & Sakuma, Y. (2004). Laser-captured single digoxigenin-labeled neurons of gonadotropin-releasing hormone types reveal a novel G protein-coupled receptor (Gpr54) during maturation in cichlid fish. *Endocrinology*, 145(8), 3613-3618.
- Pierce, J. G., & Parsons, T. F. (1981). Glycoprotein hormones: structure and function. *Annual Review of Biochemistry*, 50(1), 465-495.
- Plakkot, B., & Kanakkaparambil, R. (2021). Comparison of the single nucleotide polymorphisms and expression of FSH β and LH β genes between prolific and non-prolific goat breeds of Kerala. *Meta Gene*, 27, 100841.

- Pompolo, S., Pereira, A., Estrada, K. M., & Clarke, I. J. (2006). Colocalization of kisspeptin and gonadotropin-releasing hormone in the ovine brain. *Endocrinology*, *147*(2), 804-810.
- Prihandini, P. W., Primasari, A., Luthfi, M., Pamungkas, D., Sari, A. P. Z. N. L., Dina, T. B., & Maharani, D. (2021). Identification of restriction enzyme in the FSHR gene of Indonesian local cattle. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 888, No. 1, p. 012024). IOP Publishing.
- Querat, B. (2021). Unconventional actions of glycoprotein hormone subunits: A comprehensive review. *Frontiers in Endocrinology*, *12*, 731966.
- Richards, J. S., & Pangas, S. A. (2010). The ovary: basic biology and clinical implications. *The Journal of clinical investigation*, *120*(4), 963-972.
- Ruckebusch, Y., Phaneuf, L.P. and Dunlop, R. (1991). Physiology of small and large animals. Decker, 616, Philadelphia, PA.
- Safari, E., Fogarty, N. M., & Gilmour, A. R. (2005). A review of genetic parameter estimates for wool, growth, meat and reproduction traits in sheep. *Livestock production science*, *92*(3), 271-289.
- Savas, T., Röhe, R., & Kalm, E. (2000). Schätzung genetischer parameter für die fruchtbarkeitsleistung beim Schaf. *Züchtungskunde*, *72*, 217-229.
- Semple, R. K., Achermann, J. C., Ellery, J., Farooqi, I. S., Karet, F. E., Stanhope, R. G., Rahilly, S.O., & Aparicio, S. A. (2005). Two novel missense mutations in G protein-coupled receptor 54 in a patient with hypogonadotropic hypogonadism. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, *90*(3), 1849-1855.
- Setyorini, Y. W., Kurnianto, E., Sutopo, S., & Sutiyono, S. (2023). Identification polymorphism of LHR and FSHR genes in Indonesian Holstein dairy cattle associated with productive and reproductive traits. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, *24*(5).
- Sezenler, A., Ceyhan, A., Erdoğan, İ., & Sezenler, T. (2007). Gen kaynağı olarak korunan Kıvırcık, Gökçeada ve Sakız koyun ırklarının bazı verim özellikleri. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, *4*(2), 211-218.
- Shibata, M., Friedman, R. L., Ramaswamy, S., & Plant, T. M. (2007). Evidence that down regulation of hypothalamic KiSS-1 expression is involved in the negative feedback action of testosterone to regulate luteinising hormone secretion in the adult male rhesus monkey (*Macaca mulatta*). *Journal of Neuroendocrinology*, *19*(6), 432-438.

- Simoni, M., Gromoll, J., & Nieschlag, E. (1997). The follicle-stimulating hormone receptor: biochemistry, molecular biology, physiology, and pathophysiology. *Endocrine Reviews*, *18*(6), 739-773.
- Sprengel, R., Braun, T., Nikolics, K., Segaloff, D.L., & Seeburg, P.H. (1990). The testicular receptor for follicle-stimulating-hormone: Structure and functional expression of cloned cDNA. *Molecular endocrinology*, *4*(4), 525-530.
- Stamatiades, G.A., & Kaiser, U.B. (2018). Gonadotropin regulation by pulsatile GnRH: signaling and gene expression. *Molecular and cellular endocrinology*, *463*, 131–141.
- Sullivan, R. R., Faris, B. R., Eborn, D., Grieger, D. M., Cino-Ozuna, A. G., & Rozell, T. G. (2013). Follicular expression of follicle stimulating hormone receptor variants in the ewe. *Reproductive Biology and Endocrinology*, *11*, 1-8.
- Talmadge, K., Vamvakopoulos, N. C., & Fiddes, J. C. (1984). Evolution of the genes for the β subunits of human chorionic gonadotropin and luteinizing hormone. *Nature*, *307*(5946), 37-40.
- Tang, Q. Q., Chu, M. X., Cao, G. L., Fang, L., Di, R., Feng, T., Huang, D.W., & Li, N. (2012). Association between polymorphism of GPR54 gene and litter size in Small Tail Han sheep. *Livestock Science*, *143*(1), 97-103.
- Tao, M., Li, Z., Liu, M., Ma, H., & Liu, W. (2024). Association analysis of polymorphisms in SLK, ARHGEF9, WWC2, GAB3, and FSHR genes with reproductive traits in different sheep breeds. *Frontiers in Genetics*, *15*, 1371872.
- Tekerli, M., Gündoğan, M., Akıncı, Z., Akcan, A. (2002). Akkaraman, Dağlıç, Sakız ve İvesi koyunlarının Afyon koşullarındaki verim özelliklerinin belirlenmesi, *Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi*, *42*(2), 29-36.
- Teles, M. G., Suzy, D.C., Bianco, S. D., Brito, V. N., Trarbach, E. B., Kuohung, W., Xu, S., Seminara, S.B., Mendonca, B.B., Kaiser, U.B., & Latronico, A. C. (2008). A GPR54-activating mutation in a patient with central precocious puberty. *New England Journal of Medicine*, *358*(7), 709-715.
- Tenenbaum-Rakover, Y., Commenges-Ducos, M., Iovane, A., Aumas, C., Admoni, O., & de Roux, N. (2007). Neuroendocrine phenotype analysis in five patients with isolated hypogonadotropic hypogonadism due to a L102P inactivating mutation of GPR54. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, *92*(3), 1137-1144.
- TÜİK (2024). Türkiye İstatistik Kurulu. Erişim Linki: <https://www.tuik.gov.tr>, Erişim Tarihi: 5 Haziran 2025.,

- Ulloa-Aguirre, A., & Zariñán, T. (2016). The follitropin receptor: matching structure and function. *Molecular Pharmacology*, *90*(5), 596-608.
- Ulloa-Aguirre, A., Reiter, E., & Crépieux, P. (2018). FSH receptor signaling: complexity of interactions and signal diversity. *Endocrinology*, *159*(8), 3020-3035.
- Wang, H. Q., Zhang, W. D., Yuan, B., & Zhang, J. B. (2021). Advances in the regulation of mammalian follicle-stimulating hormone secretion. *Animals*, *11*(4), 1134.
- Wang, W., La, Y., Li, F., Liu, S., Pan, X., Li, C., & Zhang, X. (2020). Molecular characterization and expression profiles of the Ovine LH β gene and its association with litter size in chinese indigenous small-tailed Han sheep. *Animals*, *10*(3), 460. <https://doi.org/10.3390/ani10030460>.
- Wang, W., Liu, S., Li, F., Pan, X., Li, C., Zhang, X., Ma, Y., La, Y., Xi, R., & Li, T. (2015). Polymorphisms of the ovine BMPR-IB, BMP-15 and FSHR and their associations with litter size in two Chinese indigenous sheep breeds. *International Journal of Molecular Sciences*, *16*(5), 11385-11397.
- Ward, D. N., Bousfield, G. R., Gordon, W. L., & Sugino, H. (1989). Chemistry of the peptide components of glycoprotein hormones. *Microheterogeneity of Glycoprotein Hormones*, 1-21.
- Wu, F., Zhang, W., Song, Q. Q., Li, H. H., Xu, M. S., Liu, G. L., & Zhang, J. Z. (2019). Association analysis of polymorphisms of G protein-coupled receptor 54 gene exons with reproductive traits in Jiaxing Black sows. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, *32*(8), 1104.
- Xu, P., Peng, M., Zhou, D., Shao, X., Zhang, Q., Zhou, R., Xu, J., Ouyang, J., & Chen, B. (2017). The polymorphism of JAK2 rs56118985 may be a predictive marker of the treatment responses of acute myeloid leukemia patients. *Translational Cancer Research*, *6*(4), 779-787.
- Yang, X., Li, Y., Sun, B., Guo, Y., Deng, M., Liu, D., & Liu, G. (2025). Effect of GnRHR, BMP6 and FSHR gene pyramiding on litter traits of goats. *Animals*, *15*(10), 1358.
- Yeh, F. C., Yang, R. C., Boyle, T. J., Ye, Z., Xiyan, J. M., & Yang, R. (2000). POPGENE 32, Microsoft Windows based freeware for population genetic analysis. *Molecular biology and biotechnology centre, University of Alberta, Edmonton*.
- Yiğit, S., Kul, S., Aci, R., Keskin, A., Tuygun, T., & Duman, E. (2023). The effect of RORA (RAR-Related Orphan Receptor Alpha) receptors on litter size in Akkaraman sheep breed. *Molecular Biology Research Communications*, *12*(3), 109.

- Zhang, D. jie, & Liu, D. (2010). Polymorphism of the ESR α , PRLR, LH β and RYRI genes in the four pig populations. *Journal of Applied Animal Research*, 38(1), 73–76. <https://doi.org/10.1080/09712119.2010.9707158>.
- Zhou, J., Huang, Y., Li, L., Zhu, L., Zhang, D., Zhang, S., & Chen, Y. (2013). Identification of two novel, alternatively spliced mRNA transcripts of the human follicle-stimulating hormone receptor. *Molecular Reproduction and Development*, 80(11), 916-923.
- Zi, X. D., Huang, L., Wang, Y., & Lu, J. Y. (2013). Comparative messenger RNA expression of FSH β , LH β , FSHR, LHR, and ER β in high and low prolific goat breeds. *Animal Biotechnology*, 24(4),307-311.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER	
Adı Soyadı:	Melike KAVUZKOZ
Uyruğu:	T.C
Orcid Numarası:	0000-0003-2925-7929

EĞİTİM BİLGİLERİ	
Lisans	
Üniversite:	Kırşehir Ahi Evran
Fakülte:	Fen Edebiyat Fakültesi
Bölümü:	Moleküler Biyoloji ve Genetik
Mezuniyet Yılı:	2022
Yüksek Lisans	
Üniversite:	Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi
Enstitü:	Fen Bilimleri
Anabilim Dalı:	Zootečni
Mezuniyet Yılı:	2025

Bilimsel Yayınlar
Uluslararası Hakemli Dergilerde Yayınlanan Makaleler Kavuzkoz, M., & Kırıkçı, K. (2023). Investigation of callipyge gene polymorphism in Akkaraman sheep breed. <i>Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi</i> , 28(1), 215-219.