

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TÜRKİYE ve İRAN YERLİ KOYUN IRKLARINDA PRİON
GENİ ANALİZİ**

Fateme FROOTAN

FBE Biyoloji Anabilim Dalında

Hazırlanan

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Nehir ÖZDEMİR

İkinci Tez Danışmanı : Doç. Dr. Cemal ÜN

İSTANBUL 2009

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TÜRKİYE ve İRAN YERLİ KOYUN IRKLARINDA PRİON
GENİ ANALİZİ**

Fateme FROOTAN

FBE Biyoloji Anabilim Dalında

Hazırlanan

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Nehir ÖZDEMİR

İkinci Tez Danışmanı : Doç. Dr. Cemal ÜN

İSTANBUL 2009

İÇİNDEKİLER

SİMGE LİSTESİ	iv
KISALTMA LİSTESİ.....	v
ŞEKİL LİSTESİ.....	vi
ÇİZELGE LİSTESİ	vii
DENKLEMLER	viii
ÖNSÖZ	ix
ÖZET	x
ABSTRACT	xi
1. GİRİŞ	1
2. PRİON PROTEİNLERİ	3
3. PRİON HASTALIKLARI.....	5
4. SIĞIR SÜNGERİMSİ ENSEFALOPATİSİ (BSE).....	8
5. SCRAPİE	12
5.1 Nor98	13
5.2 Koyunlarda <i>PrP</i> Geni	14
5.3 Scrapie ve Nor98 Duyarlılık Alelleri.....	14
6. MATERYAL METOD.....	21
6.1 Hayvan Materyali	21
6.2 Kimyasallar	24
6.3 DNA İzolasyonu	25
6.4 PCR Aşaması.....	25
6.5 Dizin Analizi	27
6.6 Genotiplerin Analizi	27
6.7 İstatistiksel Analiz	27
7. SONUÇLAR.....	28
7.1 PCR Sonuçları	28
7.2 Alel Frekansları	28
7.3 Genotip Frekansları	29
7.4 Ek Polimorfizmler	30
7.5 Nor98 Genotip Frekansları ve Polimorfizmler.....	33
8. TARTIŞMA.....	35
8.1 Alel Frekansları	35

8.2 Genotip Frekansları	37
8.3 Ek Polimorfizmler	40
KAYNAKLAR	42
İNTERNET KAYNAKLARI	69
ÖZGEÇMİŞ.....	70

SİMGE LİSTESİ

g	Gram
kDA	Kilo dalton
L	Litre
μ	Mikro
μl	Mikrolitre
mg	Miligram
ml	Mililitre
μmol	Milimol
°C	Santigrat derece
U	Ünite
%	Yüzde oranı

KISALTMA LİSTESİ

BSE	Bovine Spongiform Encephalopathy (Sığır Süngerimsi Ensefalopati)
CJD	Creutzfeldt Jakob Disease (Creutzfeldt Jakob Hastalığı)
CNS	Central Nervous system (Merkezi Sinir Sistemi)
CWD	Chronic Waste Disease (Kronik Atık Hastalığı)
DNA	Deoksiribonükleik Asit
dNTP	Deoxyribonucleotide Triphosphate (Deoksiribonükleotid Trifosfat)
EDTA	Etilendiamin Tetra Asetik Asit
EUE	Exotic Ungulate Encephalopathy (Ekzotik Toynaklı Ensefalopatisi)
FFI	Fatal Familial Insomnia (Ölümcül Ailesel Uyku Hastalığı)
FSE	Feline Spongiform Encephalopathy
GPI	Glycosylphosphatidylinositol (Glikozil Fosfatidil İnositol)
GSS	Gerstmann Sträussler Scheinker syndrome (Gerstmann Sträussler Scheinker Sendromu)
ORF	Open Reading Frame (Açık Okuma Bölgesi)
PCR	Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
PRNP	Prion Protein Geni
PrP ^C	Cellular Prion Protein (Hücrel Prion Proteini)
PrP ^{Sc}	Scrapie Prion Protein (Hastalık Oluşturan Prion Proteini)
SNP	Single Nuclotide Polymorphism (Tek Nükleotid Polimorfizmi)
TME	Transmissible Mink Encephalopathy (Bulaşıcı Mink Ensefalopati)
TSE	Transmissible Spongiform Encephalopathy (Bulaşıcı Süngerimsi Ensefalopati)
UV	Ultraviolet (Ultraviyole)

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 2.1	<i>PrP</i> geninin kodladığı prion proteininin primer yapısı..... 3
Şekil 3.1	Creutzfeldt Jakob hastasının beynindeki patojenik boşluklar..... 5
Şekil 3.2	Farklı insan prion hastalıklarında etkilenen beyin kısımları..... 6
Şekil 3.3	İnsan PRNP geninde meydana gelen mutasyonlar ve polimorfizmler..... 7
Şekil 4.1	Sağlıklı bir insan beyni (sağ) ile vCJDli bir insan beyni (sol)..... 9
Şekil 5.1	Scrapie hastalığına yakalanmış bir yanabi koyun..... 13
Şekil 5.2	Koyun <i>PrP</i> geni..... 14
Şekil 5.3	Koyunlarda scrapie üzerinde etkili polimorfizmler..... 15
Şekil 6.1	İvesi ırkı..... 21
Şekil 6.2	Morkaraman ırkı..... 22
Şekil 6.3	İran koyun ırklarının yaşadığı alanlar..... 22
Şekil 6.4	Shal ırkı..... 23
Şekil 6.5	Zandi ırkı..... 23
Şekil 7.1	PCR işlemi sonucunda çoğaltılmış koyun <i>PrP</i> geninin jel elektroforezi... 28

ÇİZELGE LİSTESİ

	Sayfa
Çizelge 4.1 Ekim 2009'a kadar dünyada görülen vCJD vakaları.....	10
Çizelge 5.1 İngiltere'de <i>PrP</i> genotipine göre tasarlanan Ulusal Scrapie Planı (NSP)..	18
Çizelge 5.2 İran'da evcil hayvan polpulasyonu.....	19
Çizelge 5.3 Türkiye'de evcil hayvan populasyonu.....	20
Çizelge 6.1 Çalışmamızda kullanılan kimyasalların listesi.....	24
Çizelge 7.1 İran ve Türkiye yerli koyun ırklarının alel frekansları.....	29
Çizelge 7.2 İran ve Türkiye yerli koyun ırklarının genotip frekansları.....	30
Çizelge 7.3 Ek polimorfimzlerin genotiplere göre dağılımı.....	32
.....	33
Çizelge 8.1 Türkiye yerli koyun ırklarının <i>PrP</i> haplotip frekansları.....	36
Çizelge 8.2 İran ve Türkiye yerli koyun ırklarının genotiplerine göre risk grubu sınıflandırılması.....	37
Çizelge 8.3 İran ve Türkiye yerli koyun ırklarının genotip dağılımı.....	38
Çizelge 8.4 Türkiye yerli koyun ırklarında <i>PrP</i> genotipleri.....	39
Çizelge 8.5 İran ve Türkiye yerli koyun ırklarının genotip frekansının bazı Avrupa ırkları ile karşılaştırılması.....	40

DENKLEMLER

	Sayfa
6.1	27
6.2	27

ÖNSÖZ

Bu çalışma, 27-01-07-01 numaralı Yıldız Teknik Üniversitesi BAP projesi (Marmara Hayvancılık Araştırma Enstitüsünde Yetiştirilen Melez Koyun Irklarında *PrP* Geninin Analizi ve Scrapie Hastalığına Dayanıklılık Sağlayan ARR/ARR Alellerinin Belirlenmesi) tarafından desteklenmiştir.

Hayatım boyunca kalbimi huzurla doldurup yoluma ışık tutan, hiçbir zaman maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen aşkım babam Faramarz FROOTAN ve meleğim annem Mehri TOFANGSAZAN ve değerli aileme;

Tez çalışmamın her aşamasında yapmış oldukları değerlendirmeler ile beni yönlendiren ve yardım eden, birinci tez danışmanım Sayın Yrd. Doç. Dr. Nehir ÖZDEMİR ve ikinci tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Cemal ÜN'e;

Tez çalışmamın her anında beni destekleyip yardım eden İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. Kemal ÖZDEM ÖZTABAK'a;

Bütün meşgüliyetlerine rağmen bana zaman ayırıp, bana inanan ve İran yerli koyun ırklarına ait DNA'ları sağlayan Tahran Üniversitesi Veteriner Fakültesi İmmünoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. Gholamreza NİKBAKHT'a;

Tez jürimde bulunma nezaketini gösteren değerli hocalarım Sayın Prof. Ahmet MENGİ, Sayın Doç. Dr. Dilek Turgut BALIK ve Sayın Yrd. Doç. Dr. Şenay Vural KORKUT'a;

Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü başkanı Sayın Prof. Dr. Nezhun GÖREN'e bir annenin çocuğuna gösterdiği gibi ilgi ve sevgi ile yaklaştığından dolayı;

İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'ndaki laboratuvar çalışmalarım sırasında bana yardımcı olan sevgili ablalarım Sayın Feraye ESEN ve Sayın Iraz AKIŞ'a;

Hayatım boyunca ruhumu ısıtan sevgili can dostlarım ve arkadaşlarıma;

Saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Aralık 2009

Fateme FROOTAN

ÖZET

Scrapie, bulaşıcı süngerimsi ensefalopati hastalık grubunun prototipi olup koyun ve keçileri etkilemektedir. Bu nörodejeneratif ölümcül hastalığın etkeni olan prionlar, normal organizmalarda da bulunan bir makromolekülün dejenere şeklidir. Söz konusu bu patojen diğer viral ve bakteriyel ajanların vital kalitesini değiştiren işlemlerden etkilenmemektedir. Koyun prion geninde izlenilen polimorfizmlerin hastalığa yakalanma riski üzerindeki etkisi bilinmektedir. Bu amaca uygun olarak birçok ülkede scrapie bakımından genotipleme çalışmaları ve seçici hayvan yetiştirme programları düzenlenmiştir. Hayvan yetiştiriciliğinin büyük bir ekonomik, kültürel ve tarihi öneme sahip olduğu Türkiye ve İran'ın yerli koyun ırkları için yapılan genotipleme çalışmaları ise, yetersizdir.

Bu tezin amacı İran ve Türkiye'de yetiştirilen yerli koyun ırklarından Lori-Bakhtiari, Shal, Zandi, İvesi ve Morkaraman koyun örneklerinin hastalık bakımından değerlendirilmesi ve risk gruplarının bulunmasıdır. Bu sebeple adı geçen ırkların *PrP* alelleri bakımından genotiplerini belirlemek amacıyla PCR ve dizin analizi yöntemleri kullanılmıştır.

Çalışmamızda dokuz farklı polimorfik alel izlenmiştir. Bunlar; ARQ, ARK, ARH, ARL, ARR, SRQ, TRQ, VRR ve VRQ alelleridir. İzlenilen genotipler ise, ARQ/ARQ, ARQ/ARK, ARQ/ARH, ARQ/ARL, ARQ/ARR, ARQ/TRQ, ARH/ARH, ARH/ARR, ARH/VRR, ARR/VRQ, TRQ/SRQ, TRQ/TRQ ve VRQ/VRQ şeklindedir. Ayrıca *PrP* geninde M112T, G127S, G127V, H143R, G145V ve N146S ek polimorfizmleri tanımlanmıştır. Analiz sonucunda elde edilen veriler bu iki ülkenin yerli koyunlarının dirençlilik açısından 2, 3, 4 ve 5 risk gruplarına dâhil olduklarını göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Bulaşıcı süngerimsi ensefalopati, dizin analizi, İran yerli koyun ırkları, İvesi, genotip, Lori-Bakhtiari, Morkaraman, prion, *PrP* geni, scrapie, Shal, Türkiye yerli koyun ırkları, PCR, polimorfizm, Zandi.

ABSTRACT

Analysis of the Prion Gene of Native Turkish and Iranian Sheep Breeds

Scrapie is the prototype of the group of transmissible spongiform encephalopathy diseases affecting sheep and goats. Being the agent of the neurodegenerative fatal illness, prions are degenerative form of a normal macromolecule found in the normal organisms. Above mentioned pathogen is not impressed from processes which change vital quality of viral and bacterial agents. Influence of polymorphisms shown among the sheep prion gene on the risk of the disease is known. Convenient with the target, genotyping studies with regard to scrapie and selective animal husbandry program were arranged in Europe and other parts of the world. In Turkey and Iran where stock farming has a big economic, cultural and historical importance, genotyping labors in native sheep breed is insufficient.

The objective of the thesis was to evaluate the specimens of the sheep and find out the risk groups among Iranian and Turkish native breeds including Lori-Bakhtiari, Shal, Zandi, İvesi and Morkaraman. Hence, PCR and sequencing were used for determining the genotypes of the mentioned breeds.

Nine different polymorphic alleles were seen in our study. These alleles are ARQ, ARK, ARH, ARL, ARR, SRQ, TRQ, VRR and VRQ. Revealed genotypes were ARQ/ARQ, ARQ/ARK, ARQ/ARH, ARQ/ARL, ARQ/ARR, ARQ/TRQ, ARH/ARH, ARH/ARR, ARH/VRR, ARR/VRQ, TRQ/SRQ, TRQ/TRQ and VRQ/VRQ. Furthermore, M112T, G127S, G127V, H143R, G145V and N146S additional polymorphisms were identified among the *PrP* gene. Data obtained from the analysis were shown that the native sheep of these two countries belong to 2, 3, 4 and 5 risk groups according to their resistance to scrapie.

Keywords: Transmissible spongiform encephalopathy, sequencing, Iranian native sheep breeds, İvesi, genotype, Lori-Bakhtiari, Morkaraman, prion, *PrP* gene, scrapie, Shal, Turkish native sheep breeds, PCR, Polymorphism, Zandi.

1. GİRİŞ

Prion bağlantılı hastalıklar çoğunlukla merkezi sinir sistemini etkileyen ölümcül nörodejeneratif hastalıklar olup bulaşıcı süngerimsi ensefalopatiler (Transmissible Spongiform Encephalopathies (TSE)) olarak isimlendirilmiştir (Gadjusek, 1977). Prusiner, bu hastalıkların protein yapısındaki bir makromolekülden kaynaklandığını göstererek “prion” adını İngilizcedeki proteinaceous ve infectious kelimelerinden türetmiştir (Prusiner, 1991, 1998).

Scrapie (Stockman, 1913) koyun, keçi ve yabani koyun (*Ovis aries aries*) ırklarında görünen bulaşıcı nörolojik bir rahatsızlıktır. Bu hastalık sadece Creutzfeld-Jacop hastalığı ve kuru (Gadjusek, 1977) gibi insanları etkileyen ölümcül nörodejeneratif rahatsızlıklara gösterdiği benzerliği sebebiyle değil, enfeksiyöz ajanın çözülme yapısı dolayısıyla da ilgi çekmiştir.

Yapılan araştırmalar, prion (*PrP*) geninin üç kodonundaki bazı polimorfizmlerin scrapie hastalığına karşı duyarlılığı veya dirençliliği etkilediğini göstermiştir. Bunlar sırasıyla 136. (alanin (A) veya valin (V)), 154. (arginin (R) ya da histidin (H)) ve 171. (arginin (R), histidin (H) veya glutamin (Q)) kodonlarıdır (Goldmann vd., 1990; Goldmann vd., 1994; Westaway vd., 1994 ; Belt vd., 1995, 1996; Clouscard vd., 1995; Ikeda vd., 1995; Hunter vd., 1997; Elsen vd., 1999; Thorgeirsdottir vd., 1999; Andréoletti vd., 2000; Vaccari vd., 2001). Söz konusu kodonlar bakımından ARQ alelin yabani alel olduğu tahmin edilir (Elsen vd., 1999; O’Doherty vd., 2002, 2004; Ponz vd., 2003; Gama vd., 2006). Diğer yandan ARR/ARR genotipine sahip koyunların scrapie hastalığına karşı dirençlilik gösterdikleri gösterilmiştir (Díaz vd., 2005). Buna karşın, VRQ/VRQ genotipinin hastalığa karşı duyarlılığı arttırdığı saptanmıştır (Tongue vd., 2004, 2006; Gama vd., 2006).

Evcil hayvanlar insanlık tarihi üzerinde önemli bir rol üstlenmiştir. Koyun ilk evcilleştirilen çiftlik hayvanlarından birisidir. Mevcut bilgilere göre koyun yakın doğuda ve özellikle Akdeniz’in kuzey doğusundaki bölgede evcilleştirilmiştir. Arkeolojik bilgiler evcil koyunun bundan 10750 yıl önce kuzey Irak’ da, 9000 yıl önce Anadolu’ da ve 7000 yıl önce Mısır’da mevcut olduğunu göstermektedir (1).

Dünyada varolan evcil koyun ırklarının büyük çoğunluğunun *Ovis aries orientalis* (Muflon koyunu), *Ovis orientalis vignei* (Urial koyunu) ve *Ovis ammon* (Argali koyunu) isimli yabani koyunlardan kök aldıkları kabul edilmektedir (Hiendleder vd., 1998; Troy vd., 2001; Meadows vd., 2007).

Bunlardan *Ovis aries orientalis* yani muflon koyunu Sardinya ve Korsika adalarında hala yabani olarak yaşamaktadır. *Ovis orientalis vignei* yani Urial koyunu Anadolu ve Türkistan'da bulunmuştur. *Ovis ammon* ise Hazar denizinin doğusundaki bölgede yabani olarak yaşadığı belirtilmiştir (Bradley ve Freeman, 2003). Koyun, Omurgalılar (Vertebrata) grubunun, Memeliler (Mammalia) sınıfına bağlı, Tırnaklılar (Ungulata) takımının, Bovidae Familyasına dâhil olan *Ovis* cinsine bağlı türdür.

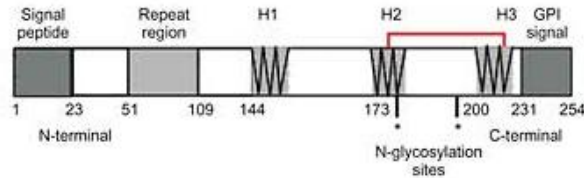
Koyun yetiştiriciliğinin tarihi İran ve Türkiye'de çok eskilere dayanmaktadır ve günümüzde de bu iki ülkede önemli ölçüde koyun üretimi gerçekleştirilmektedir. Özellikle İran, Çin, Avustralya ve Hindistan'dan sonra dördüncü en büyük modern sürülere sahip ülke olarak bilinir (15). Gıda ve Tarım Organizasyonu'na (Food and Agriculture Organization (FAO)) bağlı Evcil Hayvan Çeşitliliği Bilgi Sistemi'nde (the Domestic Animal Diversity Information System (DAD-IS)) listelenmiş 31 yerli İran koyun ırkı ve 33 Türkiye koyun ırkı mevcuttur (2). Buna rağmen, bu yerli koyun ırklarında genotipleme çalışmaları yetersiz kalmıştır.

Çalışmamızda İvesi (n=32), Morkaraman (n=37), Lori-Bakhtiari (n=40), Shal (n=39) ve Zandi (n=39) olmak üzere rastgele seçilmiş toplam 187 sağlıklı koyuna ait kan örneği alınıp DNA'ları izole edilmiştir. Böylece PCR ve dizin analizi yöntemleri uygulanarak analize tabi tutulan yerli ırkların scrapie hastalığına yakalanma riskleri ve genotipleri belirlenmiştir.

2. PRİON PROTEİNLERİ

Prionlar çeşitli ölümcül nörodejeneratif hastalıklara sebep olan enfeksiyöz patojenlerdir (Prusiner, 1982, 1997). Bu bulaşıcı partiküllerden doğan enfeksiyonların UV, nükleazlar, proteazlar, çeşitli deterjanlar, yüksek sıcaklık, basınç ve formalit gibi ajanlardan etkilenmediği gösterilmiştir (Alper vd., 1967; Diener vd., 1982; Prusiner, 1982; McKinley vd., 1983). Bu sonuçlar, prionların nükleik asit içermediklerini açıkça ortaya koymuştur. Bununla birlikte, bu proteinlerin yapısını açıklamak için gerçekleştirilen çalışmalarda (X-ışını kristalografisi gibi), prion proteini ile ilgili olabilecek muhtemel nükleik asit moleküllerinin küçük boyutları sebebiyle fenotipik çeşitliliği etkilemeyeceği öne sürülmüştür (Alper, 1993).

Normal hücresel prionlar-PrP^C glikofosfatidil inositol (GPI) vasıtasıyla hücre membranında gömülmüş siyaloglikoproteinlerdir (Prusiner, 1982; Meyer vd., 1986; Stahl vd., 1987; Endo vd., 1989; Aguzzi ve Polymenidou, 2004; Chen vd., 2007). Memelilerde bu protein; üç α -heliks, iki β -sheet, yapısal olarak globular olan bir C-ucu bölgesi ve N-ucundan meydana gelmektedir (Prusiner vd., 1997). N-terminal bölgesi bir dizi prolin ve glisin içeriği bakımından zengin sekiz tekrarlı (octarepeats) peptid (PHGGGWGQ) içerir (Şekil 2.1) (Prusiner vd., 1997). Bununla birlikte, PrP^C oldukça korunmuş hidrofobik bir bölgeye sahiptir (Prusiner vd., 1997).



Şekil 2.1 *PrP* geninin kodladığı prion proteininin primer yapısı (<http://www.ibs.org.ir/>).

Memelilerde prion proteini molekülünün hücresel formunun ekspresyonu beyin hücreleri ve immün sistemi hücrelerinde gerçekleşir (Cashman ve Dodelet, 1998). Hücresel prion proteini veya PrP^C diğer membran proteinleri gibi düz endoplazmik retikulumda (SER) sentezlenip Golgi aygıtına gönderilip oradan da membrana geçer (Harris, 1999).

Prion proteinin hastalıklı izoformu (PrP^{Sc}), hücresel izoformu ile aynı amino asit dizisine ve aynı translasyonel eklemlere (Stahl vd., 1993; Prusiner vd., 1998; Castilla vd., 2005) sahip olmasına rağmen, scrapie prion proteininin (Prusiner, 1982) PrP^C molekülünün aksine ikincil β -sheet yapısı bakımından zengin olduğu anlaşılmıştır (Baldwin vd., 1993; Pan vd., 1993; Safar vd., 1993a, 1998). PrP^{Sc} molekülünün GPI yapısı analiz edildiğinde siyalik asit içeren değişik bir yapıya sahip olduğu anlaşılmıştır (Stahl ve Prusiner, 1991).

Hücresel *PrP* izoformu (PrP^C) bir posttraslasyonel işlem sonucunda yarı ömrü 4-6 saat olan PrP^{Sc} molekülüne dönüşür (Borchelt vd., 1990, 1992). Enfekte hücrelerde PrP^C moleküllerinin yaklaşık %5'i PrP^{Sc} ye dönüşür. Geri kalan diğer moleküller ise yıkılmak üzere endozom ve lizozom gibi organellere gönderilir (Borchelt vd., 1990; Arnold vd., 1995).

Prion enfeksiyonu ve yayılmasının mekanizmaları hala tam olarak bilinmemektedir. Hastalıklı protein formunun sağlıklı proteinlerle etkileşime girerek şekil değiştirmelerini sağladığı düşünülmektedir (Marino vd., 1996). Öne sürülen “X proteini hipotezi”ne göre, henüz tanımlanmamış hücresel X proteini (muhtemelen GP69) bu iki molekül ile kompleks oluşturarak PrP^C 'nin PrP^{Sc} ye dönüşmesine sebep olur (Telling vd., 1995).

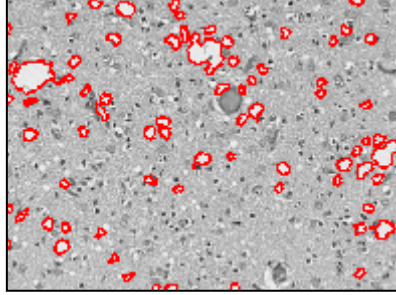
Diğer yandan, PrP^C molekülünün ortasında bulunan bir amino asit dizisinin PrP^{Sc} ile olan homolojisi, PrP^C molekülünün PrP^{Sc} ye dönüşümünü etkilediği görülmüştür (Scott vd., 1993; Telling vd., 1994, 1995; Steele vd., 2006). Söz konusu bu bölgede tek bir amino asit farklılığın olması halinde meydana gelen dönüşümün engellenmesi, türler arasında prion enfeksiyon bariyerini açıklar (Prusiner, 1998).

Bu anormal izoformların merkezi sinir sisteminde örneğin beyinde toplanması ile amiloid fiberler, fiberlerin birikmesi ile de plaklar oluşur. Her fiberin sonu serbest proteinlerin gelip bağlanabildiği bir kalıp görevini üstlenmiştir. Böylece fiberler büyüyerek gelişir ve nörodejeneratif süngerimsi yapıların oluşumuna sebep olduklarından, prion hastalıkları TSE (transmissible spongiform encephalopathy) olarak isimlendirilmiştir (Gajdusek, 1977; Prusiner vd., 1998).

Sağlıklı organizmalarda prion proteininin kesin fonksiyonu tam olarak bilinmediği halde, PrP^C 'lerin hücre-hücre iletişimi ve sinyal iletimi üzerinde önemli bir etkisi olduğu düşünülmektedir (Hu vd., 2008). Ayrıca prion proteinlerinin bakıra gösterdiği afiniteden dolayı (Hornshaw vd., 1995; Brown vd., 1997). PrP^C 'lerin bakır homeostazisinde etkin bir role sahip olduğu tahmin edilir (Brown vd., 1999). Ayrıca bazı bulgular, *PrP* moleküllerinin uzun süreli hafızanın korunmasında fonksiyonel olduklarına işaret eder (Shorter ve Lindquist, 2005). Maglio ve arkadaşları normal hücresel *PrP* genini taşımayan farelerde uzun süreli hippocampal (hipocampus'a ait) hafızaya dikkat çekmişlerdir (Maglio vd., 2004).

3. PRİON HASTALIKLARI

Bulaşıcı süngerimsi ensefalopatilerinin (TSEler) hepsi ölümcül nörodejeneratif rahatsızlıklar olup, hastaların beyinde delikler meydana getirerek süngerimsi bir yapının oluşmasına sebep olurlar (Schneider vd. ,2008) (Şekil 3.1).



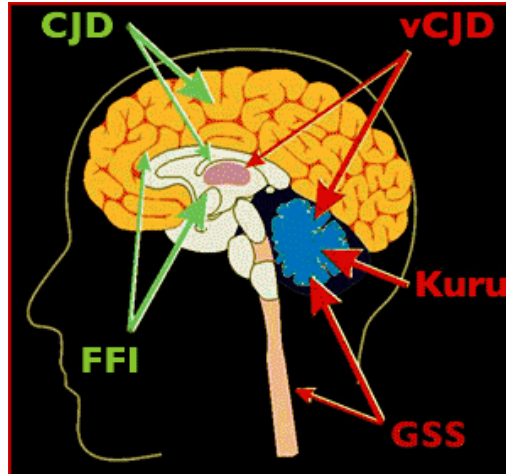
Şekil 3.1 Creutzfeldt Jakob hastasının beyindeki patojenik boşluklar (<http://www.wellesley.edu/>).

TSE'ler prion genindeki mutasyonlar (%15) sonucunda meydana gelebildiği gibi (Medori vd., 1992; Kretzschmar vd., 1995; Mastrianni vd., 1996) enfeksiyon sebebiyle (%5) veya spontan (%80) bir şekilde de gelişebilirler. TSE'lerin histopatolojik özellikleri prion proteininin anormal formunun birikimi, nöron ve nörofillerde boşlukların oluşumu (vakuolizasyon) ve astrositozdur (merkezi sinir sistemindeki özelleşmiş yıldız şeklindeki gliyal hücrelerinin (astrosit) çoğalması ve gliyal yaranın oluşumu).

Hayvanlarda çeşitli TSE hastalıkları gösterilmiştir; sığırdaki BSE (Sığır Süngerimsi Ensefalopati), elk ve mule geyiklerinde CWD (Kronik Atık Hastalığı), kedigillerde FSE (Kedigil Süngerimsi Ensefalopatisi), nyala ve oryx antiloplarında EUE (Ekzotik Toynaklı Ensefalopatisi) ve TME (Transmissible Mink Encephalopathy). Kuru, CJD (Creutzfeldt Jakob Hastalığı), FFI (Ölümcül Ailesel Uyku Hastalığı), GSS (Gerstmann Sträussler Scheinker Sendromu) ve Alper hastalığı insanlarda meydana gelen prion hastalıklarındandır. Kuru hastalığı ilk olarak Papua Yeni Gine'nin dağlık kesimlerinde yaşayan Foré kabilesinde izlenmiştir (Klatzo vd., 1959; Gajdusek, vd., 1966; Gajdusek, 1993). Yerel dilde titreme anlamına gelen "kuru", kabile üyeleri arasında "gülen ölüm" olarak bilinirdi (Gajdusek vd.,1966; Lee vd., 2001).

CJD ise, insanda tanımlanmış en yaygın TSE şeklidir. "Creutzfeld-Jacop hastalığı" terimi 1922 yılında Spielmeyer tarafından daha önce Creutzfeld (1920) ve Jacop (1921) tarafından belgelenen, ataksi, bunama, kas titremesi ve miyoklonus (bir kas veya bir grup kasın kronik spazmı) gibi bazı nörolojik semptomların tanımlanması amacıyla kullanılmıştır (Gibbs vd., 1968; Kahana vd., 1974; Kretzschmar vd., 1986; Beck ve Daniel, 1987; Collinge ve Palmer,

1991; Hsiao vd.,1991; Korczyn, 1991). Histopatolojik değişimler cerebral ve cerebellar cortex'lerde meydana gelir (Şekil 3.2) (Ironsides, 2000). Adı geçen bu hastalık bütün dünyada yayılmış olup oğrafik bir bölgeye özgü değildir. Bugün dünyada yaklaşık 100 ailede CJD görölmektedir. Creutzfeld-Jacop hastalığının yeni bir formu olan vCJD (Varyant Creutzfeld-Jacop Hastalığı), ilk kez 1996 yılının Mart ayında İngiltere'de rapor edilmiştir (3). Bu iki hastalık arasındaki en önemli farklar, vCJD'nin daha genç hastalarda izlenilmesi (ortalama 29 yaşlarında), hastalık süresinin daha uzun olması (yaklaşık 14 ay) ve besin maddelerinden geçişi yüzünden CJD'ye nazaran daha yaygın olmasıdır (Collinge ve Rossor, 1996). İnsanlarda görölen en nadir prion bağlantılı hastalıklardan birisi olan FFI, otozomal dominant bir genetik rahatsızlık olup 1986 yılında birkaç İtalyan ailede gözlemlenmiştir (Manetto vd., 1992; Collinge vd., 1995; Tateishi vd., 1995). Günümüzde ise, dünyada 20 ailesel ve 7 ailevi olmayan FFI vakası bilinmektedir (Al-Mufarrej vd., 2004). İlk kaydedilen GSS vakası, 1928 yılında Alman bir ailede gösterilmiştir (Gertsman, 1928; Masters vd., 1981; Billinis vd., 1994). Bu hastalık tüm dünyada 100 milyonda 1 oranında görölen nadir bir kalıtsal otozomal rahatsızlıktır. Bu hastalıkta medulla oblongata ve beyin kökü etkilenir (Şekil 3.2). Alper hastalığı, Alper Huttenlocher sendromu ve kronik ilerleyici çocukluk ensefalopatisi olarak da bilinir. Bu hastalık en nadir görölen prion hastalığı olup cerebral cortex ve calcarine cortex'i etkiler (Harding vd., 1986, 1995).

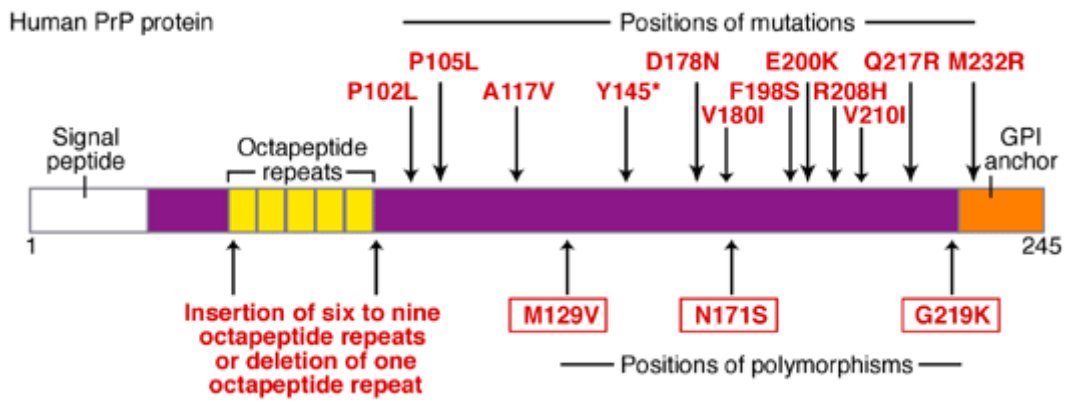


Şekil 3.2 Farklı insan prion hastalıklarında etkilenen beyin kısımları (<http://bioweb.uwlax.edu/>).

İnsan prion protein geni (PRNP) 20p'de bulunup açık okuma erevesi (ORF) ikinci ekzonunda bulunan, iki ekzon içermektedir (Basler vd., 1986; Lee vd., 1998). İnsan prion hastalıkları grubu içinde PRNP'de meydana gelen mutasyonların etkileri kanıtlanmıştır (Windl vd., 1999). Üç çeşit patojenik PRNP mutasyonu belirlenmiştir: (1) Bir amino asit değişimine sebep olan nokta mutasyonu, (2) erken dur (stop) kodunu ,veya (3) ek sekiz

peptidli tekrarların insersiyonu (eklenmesi). Sonuç olarak bilimsel literatürlerde yaklaşık 30 farklı mutasyon rapor edilmiştir (Şekil 3.3).

İnsanlarda bazı PRNP polimorfimleri prion hastalıklarının genetik, enfeksiyonel veya spontan formlarına karşı duyarlılığı belirler. Örneğin PRNP'nin 129. kodonundaki polimorfizm kuru hastalığına yakalanma riskini artırır (Gabizon vd., 1993, 1994; Lee vd., 2001) (Şekil 3.3). Genetik CJD ve FFI hastalıkları *PrP* geninin 178. kodonundaki (Asn178) mutasyon sebebiyle meydana gelir (Goldfarb vd., 1992; Croes vd., 2004). Bununla birlikte mutasyon geçirmiş alellerin 129. kodonundaki metyonin polimorfizmi de etkileyicidir (Medori vd., 1992). 129. kodonunda M/M genotipine sahip bireyler FFI'a karşı daha hassastırlar.



Şekil 3.3 İnsan *PrP* geninde meydana gelen mutasyonlar ve polimorfizmler (<http://journals.cambridge.org/>).

4. SIĞIR SÜNGERİMSİ ENSEFALOPATİSİ (BSE)

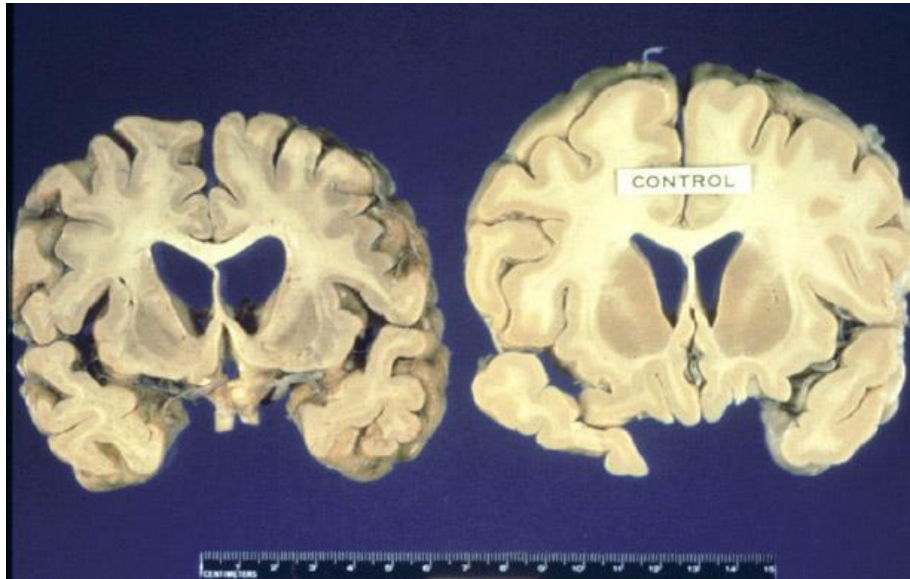
Hayvanlarda en çok bilinen prion bağlantılı hastalıklar, kronik atık hastalığı, BSE ve scrapiedir (Weissmann, 1991, 1993; Prusiner, 1998).

Sığır süngerimsi ensefalopatisi nörodejeneratif semptomlarla karakterize edilmiş bir prion hastalığı olup enfekte sığırlarda ataksi (kasların koordinasyon bozukluğu) ve/veya demans ile kendini gösterir (Sander vd., 2004). Halk arasında deli dana hastalığı olarak isimlendirilen BSE evcil sığırlarda (*Bos taurus* ve *Bos indicus*) ilk defa 1986 yılında, muhtemelen PrP^{Sc} ile enfekte olmuş hayvan yemi (memeli hayvan eti ve kemik katkılı yem (Meat and Bone Meal (MBM)) yoluyla bulaşmıştır (McGowan, 1922; Wilesmith vd., 1988, 1991). Son zamanlarda öne sürülen bir hipoteze göre epidemi spontan bir BSE vakası ile başlamıştır (van Everbroeck vd., 2002; Heim ve Mumford, 2005). Patolojik bulguların scrapieyi andıran süngerimsi lezyonlar, nöronal kayıp ve gliosis (beyin ve omurgada bulunan astrositlerin çoğalması ve gliyal yaranın oluşumu (Boellaard ve Schlote, 1981)) şeklinde olduğu bildirilmektedir (Wells vd., 1987; Holt ve Phillips, 1988; Foster vd., 2001). Daha sonraki yıllarda etkilenmiş sığır sayısı hızla artarak 1986 yılında 16'dan, 1989'da 7000'e ve 1992 senesinde 36,000'a ulaştı (Doherr vd., 1999, 2001). 2002 yılına kadar ise, 34,000 sürüde 170,000 BSE vakası doğrulanmıştır (van Everbroeck vd., 2002). 2001-2007 seneleri arasında toplam 7734 BSE vakası büyük çoğunluğu (7588) Avrupa Birliği'ne üye ülkelerde olmak üzere kaydedilmiştir. Bu sayının %50'si İngiltere'de kayda geçmiştir. Diğer ülkelerde bu oran oldukça düşüktür (İsviçre 98, Japonya 34 (Sugiura vd., 2003), Kanada 11, Amerika Birleşmiş Devletleri 2 (van Gelderen vd., 2003), ve İsrail 1)). Avrupa Komisyonu'nun BSE'yi kontrol etmek için almış olduğu düzenleme kararı (999/2001) bazı önemli noktalar içermektedir: (a) İnsan gıda zincirine giren hayvanların yetiştirilmesi için kullanılan yemlere memeli et ve kemik öğününün katılmasının engellenmesi; (b) Ölümden sonra (post-mortem) yapılan testleri içeren kapsamlı bir gözetleme-izleme sisteminin geliştirilmesi ve (c) Beyin, kafatası, trigeminal gangliya (beyne bağlı nöronlar), gözler, omurilik gibi yüksek BSE riski taşıyan belirlenmiş risk materyallerinin (Specified Risk Materials (SRM)) zorunlu olarak kaldırılması ve yok edilmesi. Hastalığın yayılmasını engellemek için 4,5 milyon sığır imha edildi. Avrupa Birliği'nde 2002-2008 yılları arasında 61 milyon ergin sığır onaylanmış BSE yöntemleri kullanılarak test edilmiştir (Budka vd., 2008). Günümüzde canlı hayvanda BSE teşhisi için geliştirilmiş herhangi bir biyolojik test yoktur. Teşhis ancak klinik muayenenin yanı sıra merkezi sinir sisteminde PrP'lerin tanımlanması için kullanılan immünohistokimya, Western

blot veya ELISA tekniklerinden yararlanılabilir (Collinge, 1996; Moynagh ve Schimmel, 1999; Jeffrey vd., 2006).

BSE'nin ortalama inkübasyon süresi yaklaşık 5 yıl olup (Gravenor ve Kao, 2003) bütün ırkların bu hastalıktan etkilenme olasılıkları eşittir (4). Tipik olmayan BSE, L ve H (immunoblottingde gözlenen yüksek ve düşük moleküler PrP^{Sc} bantlarının fazlalığına bağlı olarak isimlendirilmiştir) olarak isimlendirilen iki çeşidi kapsamaktadır. Bu iki hastalık modeli klasik BSE'nin tanımlanması için şüpheli hayvanın kesiminden sonra yapılan hızlı testler ile zor teşhis edilir (Baron vd., 2007; Budka vd., 2008).

Enfekte ürünlerin yenmesi insanlarda vCJD'ye yol açmaktadır (Will vd., 1996). Bu hastalık ilk kez 1996 yılında Birleşik Krallık'da 10 hastada izlenmiştir (Collinge vd., 1996a; 1996b; Ironside vd., 1996). Kısa bir süre sonra da başka benzer bir vaka Fransa'da ortaya çıkmıştır (Chazot vd., 1996). Bütün bu hastaların ortalama yaşı 40 yaşın altında olup klinik belirtileri klasik CJD'den farklıydı. Ataksi ve psikolojik sempoılar daha erken gözlenildi. Ayrıca Elektroensefalografi (EEG) ile yapılan tetiklerde tipik CJD'de görülen anormal bulgular izlenmemiştir. Örneğin spontan CJD'lerin %60'ından çok vakada pseudoperiyodik anomaliler (pseudoperiodic abnormalities) görülür (Şekil 4.1) (Dormont, 2002). 11 hastanın tıbbi geçmişleri araştırılınca CJD bakımından tıbbi ve/veya cerrahi herhangi bir risk faktörü taşımadıkları anlaşılmıştır. PRNP geninin açık okuma çerçevesi sekanslandığında dizinlerin %100 normal olup ailesel TSE bağlantılı hiçbir bir mutasyon içermedikleri belirtilmiştir (Dormont, 2002).



Şekil 4.1 Sağlıklı bir insan beyni (sağ) ile vCJDli bir insan beyni (sol) (<http://pathology.mc.duke.edu>).

Söz konusu bu vakalar yeni bir insan TSE'si olarak tanımlanıp BSE ile bağlantılı olduğu tahmin edilmiştir (Bruce vd., 1991). Bazı deneyler ve tarihsel bağlantılar sığır süngerimsi ensefalopatisine sebep olan prion zinciri ile vCJD arasındaki ilişkiyi ispatlar niteliktedir. İlk bağlantı, adı geçen ilk hastalığın coğrafik olarak aynı yerde yani İngiltere'de yayılmasıdır. Kuru hastalığın ağız yoluyla alınan enfekte dokularla bulaştığı gerçeği TSE'lerin bu şekilde de yayılabildiğini kanıtlayan ikinci ilişkidir. Buna rağmen hala bu hastalığın nerede ve ne zaman sığırdan insana bulaşıp zoonosis (hayvanlardan insana bulaşan hastalıklar) hastalıklar sınıfına girdiği kesinleştirilememiştir (McKintosh vd., 2003).

Şubat 2009'a kadar İngiltere'de 164 kişi, 42 kişi de dünyanın farklı yerlerinde vCJD'den ölmüştür (Çizelge 4.1) (5).

Çizelge 4.1 Ekim 2009'a kadar dünyada görülen vCJD vakaları.

Ülke	Toplam Primer Vakalar (Hayatta Kalan Birey Sayısı)	Toplam Sekonder Vakalar: Kan Nakli (Hayatta Kalan Birey Sayısı)	1980-1996 Arasında >6Ay İngiltere'de İkamet Eden
Birleşik Krallık	167 (5)	3 (0)	170
Fransa	25 (1)	-	1
İrlanda	4 (0)	-	2
İtalya	1 (0)	-	0
Amerika	3 (0)	-	2
Kanada	1 (0)	-	1
Saudi Arabistan	1 (1)	-	0
Japonya	1 (0)	-	0
Hollanda	3 (0)	-	0
Portekiz	2 (0)	-	0
İspanya	5 (0)	-	0

İngiltere'de vCJD epidemisi 2000 yılında en üst seviyeye ulaştıktan sonra mevcut durumda bu oran senede 2 hasta/ölü şeklinde düşmüştür (Budka vd., 2008). Klinik olarak ispat edilmiş vCJD vakalarının *PrP* geninin 129. kodonunda çoğunlukla homozigot M/M genotipi izlendiği gibi V/V ve M/V genotipleri de bildirilmiştir (Ironsides vd., 2006). İlk salgında araştırılan 9

hastanın da 129. kodon bakımından genotipleri M/M idi. İlginç özelliklerinden birisi bu hastaların nöropatolojisiydi. Hepsi vakuol ile çevrili amiloid plaklara (florid plakları) sahipti. İzlenen bu plakların merkezi yoğun ve eozinofilik (eozin'i kolayca emip boyanan) iken, etrafı açıktı. Bu plaklar daha önce hiçbir insan TSE'sinde görülmemiştir. Nöronal lezyonlar çoğunlukla cerebrum ve cerebellumda olmak üzere basal ganglia, thalamus ve hypothalamusta da dağılmıştır (Dormont, 2002).

1989 senesinde yapılan kontrol çalışmalarından önce yaklaşık 482,000 BSE ile enfekte hayvan insan besin zincirine girmiştir (Valleron vd., 2001). Bu sebepten dolayı da bu hastalık günümüzde modern hayvancılık uygulamalarıyla daha fazla ilişkilendirilmiştir. Bu düşüncüyü destekleyen birçok kanıttan bahsetmek mümkündür. (A) Ovine PRNP proteini geninin 3. eksonu tarafından kodlanan en az 14 amino asit polimorfizmi tanımlanmıştır (Belt vd., 1995; Heaton vd., 2003). 136. ve 171. kodonlarındaki polimorfizmlerin scrapie ekspresyonu üzerindeki etkileri gösterilmiştir (Hunter, 1994, 1997; Belt vd., 1995). Fakat sığırlarda BSE bağlantılı herhangi bir amino asit polimorfizmi tanımlanamamıştır (Humeny vd., 2002; Geldermann vd., 2003). 2004 yılında sığırdaki BSE'ye duyarlılık ile bovine PRNP geninin olası promotor bölgesinde bulunan insersiyon/delesyon (ins/del; indel) polimorfizmleri arasındaki bağlantının önemi anlaşılmıştır (Sander vd., 2004). (B) Sığır PRNP geninin 3. eksonunda kaydedilmiş çeşitlilik paterni (modeli) koyundakilere nazaran belirgin şekilde farklılık gösterir; ilk olarak sığırdaki varyasyon 11 synonymous nukleotid bölgesi ve iki nonsynonymous bölgesi şeklindedir (Neibergs vd., 1994; Heaton vd., 2003). Buna ek olarak, ovine PRNP'nin 3. eksonunun sekiz tekrarlı bölgesinde herhangi bir indel polimorfizmine rastlanamamışken (Belt vd., 1995; Hunter, 1997), sığır ve diğer büyükbaş hayvan türleri ile yapılan araştırmalar sonucunda 5-7 sekizli tekrarlar içeren üç indel izoformunun varlığı kabul edilmiştir (Premzl vd., 2000; Heaton vd., 2003).

Sığırın hem küresel ekonomi hem de tarımsal uygulamalardaki önemine rağmen PRNP'deki alelik çeşitliliği ve bu genin söz konusu ırktaki evrimleşme süreci hakkında şaşırtıcı şekilde az bilgi bulunmaktadır. Bunun yanı sıra birkaç evcilleştirilmemiş Bovinae türünde BSE salgını ile eşzamanlı olarak gerçekleşen bulaşıcı süngerimsi ensefalopatilerine benzer hastalıklar literatüre geçmiştir (Collinge, 2001). Söz konusu bu hastalığın tür bariyerini aşip insanı da etkilemesi bu patojenin potansiyeline dikkat çekmektedir. Ayrıca insan TSE hastalıkları için uygulanan herhangi bir tedavi yöntemi bulunmadığından büyük bir önem taşımaktadır.

5. SCRAPİE

Scrapie (Stockman, 1913) koyun, yabani koyun ve keçileri etkileyen, hayvanlardaki en yaygın TSE şeklidir. Deneysel olarak fare, sıçan, hamster ve maymunlarda da enfekte oldukları gösterilmiştir (Chandler, 1961; Zlotnik ve Rennie, 1965; Marsh ve Kimberlin, 1975; Kimberlin vd., 1987). Ayrıca bu hastalık prion hastalıklarının prototipidir (ön örneği). Hastalığın açıklanması için 18. yüzyılda “scrapie” terimi kullanılmadan önce, koyunların şiddetli kaşıntı yüzünden derilerini sert objelere sürerek kazımalarına bağlı olarak çeşitli dillerde farklı kelimeler kullanılmıştır (Ulvund, 2008). Bunların bazıları; Traberkrankheit (Almanca’da), La tremblane du moutton (Fransızca’da) ve Rida’dır (İzlandaca’da) (McGowan, 1922; Palsson, 1979).

Hastalık ilk kez iki yüz elli sene önce Fransız bir veteriner tarafından rapor edilmiştir (Sarraet, 1883). Öte yandan, hastalığın ilk defa 15. yüzyılda Merino koyunlarında ortaya çıktığı düşünülmektedir. Bugünlerde ise, hastalık, en büyük koyun yetiştiricileri olan Avustralya ve Yeni Zelanda dışında, bütün dünyada izlenilmektedir. Ayrıca scrapie, İngiliz koyunlardan Suffolk ırkında endemiktir (Hunter vd., 1996, 1999).

Konu üzerinde en dikkate değer araştırma 1936 senesinde Cuillé ve Chelle tarafından gerçekleştirilmiştir (Cuillé ve Chelle, 1936). 1980’li yıllarda hastalığın genetik bir rahatsızlık olduğu ortaya atılmıştı (Parry, 1983). Hastalık ortak bir atadan gelen bireylerde zaman zaman ortaya çıkıp tekrar yok olmuştur (Detwiler ve Baylis, 2003). Hunter ve ekibinin yapmış olduğu araştırma ile scrapieye yakalanmak için genetik olarak duyarlı olmanın yanısıra enfeksiyöz ajana da maruz kalmanın gerekliliği gösterilmiştir (Hunter vd., 1997).

Koyunlarda hastalığın inkübasyon süresi 2-5 yıl arasında olup bir yaştan altındaki kuzularda ender olarak rastlanmaktadır (Dickinson vd., 1974). Keçilerde ise, scrapie vakaları 2-8 yaşındaki bireylerde izlenmektedir. Ayrıca inkübasyon periyodu 3 yılın altındadır (Fraser, 1976). Enfekte prionlar derideki yaralardan veya bağırsaklardan hayvanın vücuduna girip, oradaki normal hücrel proteinlerin konformasyonel değişimine sebep olur (van Keulen vd., 2000). Prionların bağırsak tarafından emilimi; lenf düğümlerinde (Ersdal vd., 2003), özellikle ince bağırsakta ve esas olarak da ileumda (sindirim sistemi anatomisinde ince bağırsağın son bölümüdür) yer alan lenfatik doku plaklarında izlenilmektedir (Tarmen viktig for skrapesyke – forskning (6)).

Konold ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada enfeksiyonun süt yoluyla kuzulara geçtiği gösterilmiştir. Fakat enfekte kuzular diğer kuzuların hastalanmasına sebep olduğundan enfeksiyona yakalanma riski tam olarak araştırılmamıştır (Konold vd., 2008).

Hastalarda klinik bulgular sabit olmayıp hayvanın genotipine bağlı olarak değişir. Başlangıçta yaygın semptomlardan bazıları, sürüden ayrı olmaya çalışmak, ataksi (kas koordinasyonu bozukluğu), körlük, titreme ve intense pruritustur (derinin aşırı kaşınması) (Foster vd., 2001; Redman vd., 2002) (Şekil 5.1). Hastalığın geç evrelerinde ise, hasta koyunun su içme ve idrara çıkma oranında farkedilen değişiklikler gözlenir (Gibbs, 1996).



Şekil 5.1 Scrapie hastalığına yakalanmış bir yabani koyun (<http://www.wellesley.edu/>).

Scrapienin patolojik özellikleri ise, nöronal vakuolizasyon, astrocytic gliozs ve *PrP* filamentleri içeren amiloid (kan damarlarının duvarları ve bağ dokularında depolanan özel bir madde olup nişastayı andırdığından, amiloid olarak adlandırılmıştır) plaklardır (Zlotnik, 1962; Mackenzie, 1983; Prusiner vd., 1983; Bendheim vd., 1984; DeArmond vd., 1985).

5.1 Nor98

Nor98, scrapienin tipik olmayan formu olup ilk defa 2003 yılında Norveç’de 1998 yılına ait koyun materyallerinde rapor edilmiştir (Benestad vd., 2003). Benzer vakalar daha sonraki senelerde Avrupa’da (De Bosschere vd., 2004; Buschmann vd., 2004; Gavier-Widén vd., 2004; Onnasch vd., 2004; Orge vd., 2004; Le Dur vd., 2005; Everest vd., 2006; Bruce vd., 2007; Konold vd., 2007; Simmons vd., 2007) ve Amerika’da (Cook, 2007) izlenmiştir.

Nor98, klasik scrapieden; patolojik değişimlerin dağılımı, scrapie prion proteini, epidemiyoloji, prion proteininin Western blot profili, klinik semptomlar, enfekte koyunların genotip frekansları ve mikroskopik lezyonlar yönünden farklıdır (Benestad vd., 2003; Gavier-Widén vd., 2004; Hopp vd., 2006; Lühken vd., 2007). Bu iki hastalık arasındaki en önemli fark Nor98 hastalarında patolojik *PrP*’nin merkezi sinir sistemi dışında bulunmayışdır

(Brandner vd., 2003). Nor98'de nörolojik bulgular scrapieye nazaran biraz daha hafiftir. En önemli bulgular ataksi ve hareketlerde düzensizliktir (Sylvie vd., 2008). Pruritus minimal düzeyde olup ender olmakla birlikte bazı vakalarda anormal korku tepkileri, tedirginlik ve titreme rapor edilmiştir. Koyunlarda ilk semptomların izlenmesinin üzerinden 1-6 ay sonra ölüm gerçekleşir (Benestad vd., 2003; Hagenaars vd., 2003; Lühken vd., 2007).

5.2 Koyunlarda *PrP* Geni

PrP geni 1968 yılında scrapie inkübasyon periodu geni (*Sip* (Scrapie Incubation Period)) olarak tanımlanmıştı (Gibbs vd., 1991). Daha sonraki senelerde genin adı *PrP* geni olarak değiştirilmiştir. Koyun *PrP* geni 13q bölgesinde (Şekil 5.2) yerleşmiş olup üç ekson ve iki intron içermektedir (Gama vd., 2006). Buna rağmen, eksonlardan sadece birisi genin ORF'sini içerir (Tranulis, 2002). Bu bölgedeki 768 baz çifti, 256 amino asitlik prion proteinini kodlar (Tranulis, 2002). Fare, sıçan ve sığır *PrP* genleri de benzer şeklide üç eksone sahip olup, ORF'leri üçüncü eksonda bulunur.

PrP geninin 16 kb aşağısında Doppel (Dpl) proteininin ORF bölgesi bulunmaktadır (Moore vd., 1999; Silverman vd., 2000; Mead vd., 2000; Moore vd. 2001; Mastrangelo ve Westaway, 2001; Slate, 2005). 179 amino asitlik bir proteini kodlayan söz konusu gene PRND adı verilmiştir (Moore vd., 1999). Evrim süresince bu bölgenin tek bir atasal *PrP* geninin duplikasyonu ile oluştuğu düşünülmektedir.



Şekil 5.2 Koyun *PrP* geni (<http://www.ibs.org.ir/>).

Prion geninde meydana gelen mutasyonlar veya polimorfizmler hastalığa karşı duyarlılığı belirler. Koyunlarda *PrP* geninin 136., 154. ve 171. kodonlarındaki polimorfizmler scrapie duyarlılığını etkiler (Goldmann vd., 1994; Hunter vd., 1994; Westaway vd., 1994; Belt vd., 1995; Clouscard vd., 1995; Ikeda vd., 1995; Hunter vd., 1997; Elsen vd., 1999; Thorgeirsdottir vd., 1999; Touzeau vd., 2005).

5.3 Scrapie ve Nor98 Duyarlılık Alelleri

Koyun prion protein molekülünün üç kodunu scrapieye karşı dirençlilik veya duyarlılığı belirtmektedir. Bunlar 136., 154. ve 171. kodonlardır (Şekil 5.3) (Goldmann vd., 1994; Westaway vd., 1994; Belt vd., 1995; Clouscard vd., 1995; Ikeda vd., 1995; Hunter vd., 1997;

Elsen vd., 1999; Thorgeirsdottir vd., 1999). 136. ve 171. kodonların hastalığa yakalanma oranı üzerindeki etkisinin daha fazla olduğu kabul edilmektedir.



Şekil 5.3 Koyunlarda scrapie üzerinde etkili polimorfizmler (<http://www.mad-cow.org/>).

Söz konusu bu kodonlarda farklı amino asitler bulunabilir; 136. kodonda A (alanin) veya V (valin), 154. kodonda R (arginin) ya da H (histidin) ve son olarak da 171. kodonda Q (glutamin) veya R (arginin) (Belt vd., 1995). Doğadaki alelin yabani tipi ARQ şeklindedir (Elsen vd., 1999). ARR/ARR genotipine sahip koyunların scrapieye karşı daha dirençli oldukları gözlenmiştir (Díaz vd., 2005). Buna rağmen, son çalışmalarda ARR/ARR genotipine sahip iki bireyde klasik scrapie kaydedilmiştir (Groschup vd., 2007). VRQ/VRQ genotipi ise, hastalığa karşı duyarlılığı arttırmaktadır (Hope vd., 1990; Tongue vd., 2004; Gama vd., 2006). Bu iki genotip dışında AHQ ve ARQ genotipleri de sırasıyla orta ve minimum düzeyde dirençlilik sağlar (Eghiaian vd., 2004). İngiltere’de birçok salgında scrapieden etkilenen koyunların büyük çoğunluğunun VRQ/VRQ homozigotları oldukları ispatlanmıştır (Hunter, 2007). Buna karşılık Yeni Zelanda, Avustralya (Bossers vd, 1999, 2000) ve Norveç’te (Tranulis vd., 1999; Hopp vd., 2003), VRQ/VRQ genotipine sahip sağlıklı koyunların varlığı gösterilmiştir. Cheviot ve Texel ırklarında VRQ aleli ile scrapie arasında sıkı bir bağlantı söz konusu olmasına rağmen (Goldman vd., 1991), Suffolk ırkı koyunlarında ve diğer bazı koyun ırklarında ise, prion proteinin glutamini kodlayan aleli (Q171) koyunları hastalığa karşı duyarlı duruma getirir (Westaway vd., 1994; Hunter vd., 1999). Buna göre *PrP* genotipinin duyarlılığı sadece ırktan kaynaklanmamakta ayrıca prion suşu (strain) tarafından da değişmektedir (Goldman vd., 1994). VRQ aleli içeren ırklarda hassasiyet Cheviot ırkları gibiyken (VRQ-Scrapie), VRQ alelinin nadir görüldüğü ırklarda ise, duyarlılık Suffolk ırkı koyunlarındakilere benzer (ARQ-Scrapie) (Westaway vd., 1994; Hunter vd., 1999).

Üstelik koyunlarda ve keçilerde dirençlilik ve ya duyarlılık üzerindeki etkileri tam olarak bilinmeyen ARH, ARK, TRR, TRQ, VHQ ve VRR polimorfizmleri de yaygın bir şekilde gözlenmektedir. Söz konusu haplotipler arasında, ARK haplotipi sadece belli bazı koyun ırklarında görülmüştür. Bu koyun ırklarından bazıları; büyük yağlı kuyruklu Asya koyunları (Gombojav vd., 2003; Zhang vd., 2004), melez Yunan koyunları (Billinis vd., 2004), Çin’deki

Xinjiang bölgesinde bulunan koyunlar (Lan vd., 2006) ve İtalyan Biellese ırkı gibi dağlık bölgelerde yaşayan ırklardır (Acutis vd., 2004). Şimdiye kadar ARK haplotipi sadece tek bir scrapie-pozitif koyunda ARK/ARH genotipi şeklinde rastlanmıştır (Acutis vd., 2006). Bu sebeple 171. kodonda bulunan lizin amino asidinin scrapie üzerinde tam koruyucu etkisi olduğu söylenemez.

Diğer bir yandan, *PrP* geninde çok sayıda polimorfik pozisyon bulunmuştur. Bunlar 83, 101, 112, 116, 127, 137, 138, 141, 142, 143, 151, 172, 175, 176, 179, 180, 189, 195, 196, 211, 231, 237 ve 241 kodonlarıdır (Vaccari vd., 2001; Thorgeirsdottir vd., 2002; Prusiner vd., 2004; Zhou vd., 2005; Ün vd. 2008).

Son zamanlarda koyunlarda ARQ aleli üzerinde bulunan M137T, I142K veya N176K kodonlarındaki deneysel olarak geliştirilen scrapie ve BSE hastalıklarına karşı koruyucu amino asit değişimleri rapor edilmiştir (Vaccari vd., 2007). Aynı zamanda 154. (R/H) kodondaki polimorfizmin scrapieye karşı duyarlılığın üzerinde etkili olduğu farkedilmiştir. Yunanistan'da yapılan bir araştırmanın sonucuna göre Chios ırkında H154 varlığı scrapieye karşı hassasiyetin artışına sebep olmuştur (Ekateriniadou vd., 2007). Yunanistan'da 2004 yılında Billinis ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen deneyde de AHQ/ARR genotipine sahip bir koyun hariç sağlıklı koyunların hiçbirisinde 154. kodonunda H amino asidi gözlenmemiştir (Billinis vd., 2004; Spyrou vd., 2004).

Keçilerde *PrP* amino asit polimorfizmleri 21. (V↔A), 23. (L↔P), 49. (G↔S), 142. (I↔M), 143. (H↔R), 146. (S↔D), 154. (R↔H), 168. (P↔Q), 220. (Q↔H) ve 240. (S↔P) kodonlarında tanımlanmıştır (Goldmann vd., 1996; Billinis vd., 2002; Papasavva-Stylianou vd., 2007). Bununla birlikte, 42. (a↔g), 127. (g↔a), 138. (c↔t) ve 207. (g↔a) kodonlarında da sessiz mutasyon izlenmiştir (Goldmann vd., 1996; Billinis vd., 2002). İngiliz keçilerinde beş kısa peptid tekrarı yerine sadece üç tekrar içeren *PrP* varyantının inkübasyon süresinin uzaması ile ilgili olabileceği düşünülür (Goldmann vd., 1998). Buna ek olarak 142. (I↔M) kodonundaki dimorfizmin hastalığın inkübasyon süresi üzerinde etkili olduğu bulunmuştur (Goldmann vd., 1996).

Bazı araştırmalar 141. kodonundaki fenil alanin ve 154. kodonundaki histidin amino asitleri ile Nor98 hastalığı arasındaki ilişkiye ışık tutmuştur (Benestad vd., 2003; Moum vd. 2005). Nor98'e yakalanmış koyunların büyük bir kısmı AHQ ve AF141RQ alellerini taşırlar (Moum vd., 2005). Hiçbir hasta koyunda V136R154Q171 aleli rastlanmamıştır (Moum vd., 2005).

Deneysel bulgular *PrP* değişimi ve prion çoğalması için birçok hücresel ve moleküler faktörün dâhil olduğu karmaşık biyolojik süreçlerin gerekliliğini işaret eder (Campana vd., 2005). ARR_{PrP} ve VRQ_{PrP} alellerinin kültürdeki hücrelerde prion çoğalması ile ilişkisi olduğu kanıtlanmıştır (Sabuncu vd., 2003). *PrP* polimorfik varyantlarının (ARR_{PrP} ve VRQ_{PrP}) olası farklı biyolojik özellikleri, bunlardaki prion proteininin farklı çoğalma kapasitesinin katkıda bulunması ile meydana gelmiş olabilir (Sabuncu vd., 2005). Bu iki hücre grubu birçok biyolojik özellik bakımından benzer olsa da prion çoğalması üzerinde ters etkileri olduğu anlaşılmıştır (Sabuncu vd., 2005). Buna göre deterjanda çözölmeyen ARR_{PrP} prion çoğalmasına karşı dirençlidir.

Günümüzde prionlarla ilgili araştırmaların etkileyici düzeyde olmasına karşın konuyla ilgili cevapsız kalan birçok soru mevcuttur. Üstelik hastalığın yeni ve değişik formları ortaya çıkmaktadır. *PrP* genotipi ile scrapie hastalığına duyarlılık arasındaki bağın sıkı oluşu sebebiyle İngiltere başta olmak üzere birçok ölkede şimdiye kadar denenmiş en büyük genetik seçim programları uygulanmaktadır (EC, 2007; Hunter, 2007).

Buna uygun olarak Avrupa Topluluğu'nun almış olduğu düzenleme kararına (260/2003) göre etki altındaki sürölerden VRQ haplotipinin kaldırılması ve ARR/ARR genotipine sahip koyun sayısının arttırılması amaçlanmaktadır (Çizelge 5.1).

Çizelge 5.1. İngiltere’de *PrP* genotipine göre tasarlanan Ulusal Scrapie Planı (NSP)
(DEFRA, 2007)

<i>PrP</i> Genotipi	NSP Sınıfı	Dirençlilik Derecesi
ARR/ARR	1	Scrapieye çok dirençli
ARR/AHQ, ARR/ARH, ARR/ARQ	2	Genetik olarak scrapieye dirençli fakat seçici hayvan yetiştiriciliğinde dikkatli olunmalı
ARQ/ARQ, AHQ/ARH, AHQ/ARQ, ARH/ARH, ARH/ARQ	3	Daha az dirençli, seçici hayvan yetiştiriciliği sürecinde çok daha dikkat edilmeli
ARR/VRQ	4	Genetik olarak duyarlı, hayvan yetiştiriciliğinde kontrollü çiftleştirme olmadığı takdirde kullanılmamalı
VRQ/AHQ, VRQ/ARH, VRQ/VRQ	5	Yüksek duyarlılık, hayvanların çiftleştirilmesine izin verilmemeli

Avrupa Birliği ülkelerindeki koyunlar rastgele araştırılırken büyük farklılıklar kaydedilmiştir. Bazı ülkelerde (örneğin Almanya, Fransa, Hollanda, Litvanya, Macaristan) örneklerin %20-%65’i çok dirençli gruba dâhildir. Halbuki, diğer bazı ülkelerde (örneğin Danimarka, İrlanda, Norveç, Avusturya, İsveç) örneklerin büyük çoğunluğu Ulusal Scrapie Planının (National Scrapie Plan (NSP)) National Scrapie Plan (Ulusal Scrapie Planı)) 4. ve 5. gruplarında yer almaktadır (EC, 2005; Sviland vd., 2006). Şu an dirençli sınıfa giren ülkelerdeki koyunlar daha önceki senelerde scrapieye duyarlı olup doğal seçimle dirençli hale geldiği tahmin edilir (Woolhouse vd., 1998, 2001).

Buna göre bazı ülkelerde (örneğin Fransa, İspanya, Portekiz, Yunanistan, İtalya, Slovakya, Almanya), kontrollü yetiştirme politikası uygulanmaktadır. İzlanda ARR/ARR genotipinin bulunmayışı sebebiyle kontrollü yetiştirme programı uygulamak için zorluk çekmektedir (Thorgeirsdottir vd., 1999). Bu ülkede scrapie-bulunmayan bölgeler çok az olup ülke scrapie bakımından sürekli olarak karantina altındadır. İzlanda koyunlarında VRQ homozigotunun

frekansı düşüktür. Scrapie-bulunduran bölgeler ile bulundurmeyen bölgelerin koyunlarının genotipleri kıyaslandığında ise, AHQ alelinin karantina dışındaki bölgelerde yüksek frekansta bulunduğu gösterilmiştir (Thorgeirsdottir vd., 1999). Yapılan bir araştırmada 932 koyun arasında 171. kodonda herhangi bir polimorfizm izlenmemiştir. Buna göre bütün bireyler bu kodonlarında glutamin amino asidini barındırırlar (Thorgeirsdottir vd., 1999). Bununla beraber söz konusu bölgenin koyunlarında S138N ve R151C polimorfizmleri rastlanmıştır. Bu iki tek nukleotid polimorfizminin (SNP) hastalıkla ilgili bağlantıları bilinmemektedir. Diğer yandan R151C polimorfizmi sadece sağlıklı koyunlarda görülmüştür (Thorgeirsdottir vd., 1999).

Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Organizasyonu'nun verdiği bilgiye göre İran'da kayıtlı 10 keçi türü, 31 koyun ırkı ve 12 sığır ırkı vardır. Türkiye'de ise, 11 keçi ırkı, 33 koyun ırkı ve 35 sığır ırkı kayıda geçmiştir (2). Söz konusu iki ülkede değişik iklimlerin varlığı ve hayvanların besin eksikliği ve susuzluğa karşı dirençli olmaları sebebiyle asırlardan beri hayvan yetiştiriciliği büyük bir ekonomik öneme sahiptir. Türkiye'de 1980-2000 yılları arasında keçi, koyun ve sığır popülasyonunda ciddi bir azalış kaydedilmiştir (Tablo 5.3, FAO, 2005). İran'da ise 1980 yılından bu yana yetiştirilen sığır, keçi ve koyun sayısında artış yaşanmaktadır (Tablo 5.2, FAO, 2005). Bununla birlikte scrapie ve BSE bakımından literatüre geçmiş bir çalışma yoktur. TSE hastalıkları yönünden yapılan genotipleme araştırmaları sonuçlarına dayanarak seçici hayvan yetiştiriciliği programları yürütülebilir. Böylece de sağlıklı hayvan oranını arttırmak mümkündür.

Çizelge 5.2 İran'da evcil hayvan popülasyonu (FAO, 2005).

Türler	1980	1990	2000	2002	Yıllık Büyüme Oranı %	
					1980-1990	1990-2000
Sığır ve Bufalolar	5,414	7,972	8,761	9,262	3.9	0.9
Koyun ve Keçiler	51,858	69,329	79,657	79,657	2.9	1.4

Çizelge 5.3 Türkiye’de evcil hayvan popülasyonu (FAO, 2005).

Türler	1980	1990	2000	2002	Yıllık Büyüme Oranı %	
					1980-1990	1990-2000
Sığır ve Bufalolar	16,607	12,602	11,219	10,686	-2.7	-1.2
Koyun ve Keçiler	64,801	55,589	38,030	33,994	-1.5	-3.7

6. MATERYAL METOD

6.1 Hayvan Materyali

Araştırmamızda çalışma materyali olarak beş yerli koyun ırkı kullanılmıştır. Bu amaçla Türkiye yerli ırklarından 32 İvesi, 37 Morkaraman, İran yerli ırklarından ise, 40 Lori-Bakhtiari, 39 Shal ve 39 Zandi koyunlarından rastgele kan alınarak genotipleri araştırılmıştır. İvesi koyunlarının kan örnekleri Diyarbakır merkeze bağlı köylerde yetiştirilen koyunlardan, Morkaraman ırkı koyunlarının kanları ise, İzmir-Kesimhane'den alınmıştır. İran yerli ırklarına ait kan örnekleri de, Tahran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi'nden Doç. Dr. Gholamreza Nikbakht tarafından sağlanmıştır.

- İvesi Irkı

Asıl anavatanı ve yayılma sahası Fırat ve Dicle nehrinin geçtiği Mezopotamya bölgesi olan İvesi koyunları Türkiye'de Urfa, Gaziantep ve Hatay illerinde, daha çok Suriye sınırı boyunca alçak ve çöl karakteri gösteren kurak ovalarda yetiştirilir. Yabancı kaynaklarda Awassi adı ile bilinen bu ırk, Akdeniz çevresinde İsrail ve ona komşu olan Arap ülkeleri ile Kuzey Afrika'da da yetiştirilmekte. Türkiye'de 1.323.00 baş mevcudu ile koyun varlığının %4'ünü oluşturur (7).

Fenotipik Özellikleri: İvesi koyunları süt tipi koyunlar olup beyaz vücutlu, kahverengi, kirli sarı ya da siyah başlı ve yağlı kuyrukludurlar (Şekil 6.1). Yuvarlak kuyrukları tek parçalıdır. Yapağları kaba-karışık tipte olup halı, kilim ve yatak yapımı için uygundur. Etleri kaliteli değildir.



Şekil 6.1 İvesi ırkı (<http://www.tagem.gov.tr/>).

- Morkaraman Irkı

Genel olarak Türkiye'nin Doğu illerinde, kısmen Kuzeydoğu ve Güneydoğu bölgelerinde Mor ya da Kızıl Karaman denen karaman varyetesi yetiştirilir. 7.276.000 baş mevcudu ile Türkiye koyun varlığının %22'sini teşkil eder (7).

Fenotipik Özellikleri: Renkleri kıızıdan mora kadar değişmekle birlikte, göz, ağız ve burun etrafı daha açık, baş ve ayaklar vücuda nazaran daha koyu renklidir (Şekil 6.2). Erkek ve dişilerde boynuzlu ve boynuzsuz olanlara rastlanır. Bu süt tipi koyun büyük yağlı kuyruklu olup, kuyrukları üç parçadan oluşmakta. Yapağı kaba-karışık tiptedir.

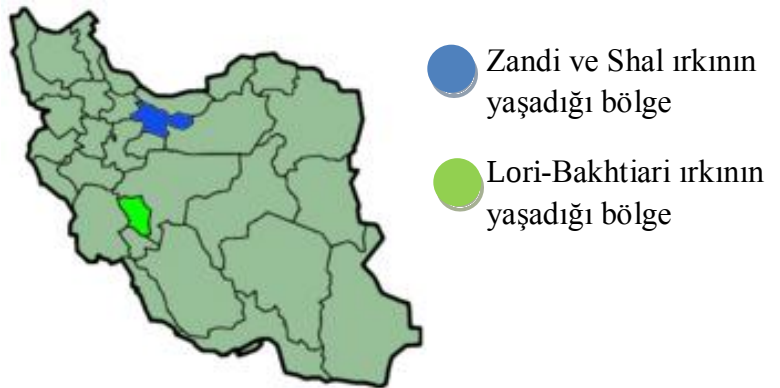


Şekil 6.2 Morkaraman ırkı (<http://www.tagem.gov.tr/>).

- Lori-Bakhtiari Irkı

Bu koyun ırkı Chaharmahal Bakhtiari eyaletinde ve civar kentlerde yaşamaktadır (Şekil 6.3).

Fenotipik Özellikler: Renkleri çoğunlukla beyaz olmakla birlikte kahverengi ve sarı koyunlar da mevcut (Tavakolian, 1999).



Şekil 6.3 İran koyun ırklarının yaşadığı alanlar.

- Shal Irkı

Bu koyunun anavatanı Tahran'ın etrafındaki Boin Zahra bölgesidir. Bugünlerde ise, Tahran'ın birçok ilçesinde yaşamaktalar.

Fenotipik Özellikler: Küçükken renkleri siyahtır. Fakat büyümeye başlayınca kahverengi veya gri rengine dönüşür. Beyaz lekeler alın bölgesinden başın arka tarafına kadar görülmektedir (Şekil 6.4). Yaşadığı bölge şartlarından dolayı susuzluk ve açlığa karşı dirençli olup büyük yağlı bir kuyruğa sahiptir. Et tipi bu koyun süt bakımından da verimlidir. Ama çoğunlukla ikiz doğum yaptıklarından sütün büyük bir kısmı kuzular tarafından tüketilir (Tavakolian, 1999).



Şekil 6.4 Shal ırkı (<http://dad.fao.org/>).

- Zandi Irkı

Zandi ırkının Shiraz koyunları ile Karakul ırkının çiftleştirilmesi ile oluştuğu tahmin edilmektedir. Bu ırk Tahran'ın çevresindeki ilçelerde yaşar.

Fenotipik Özellikler: Renkleri siyah ya da koyu kahverengi olan bu koyunların kuyrukları küçüktür (Şekil 6.5). Küçük cüssesi sebebiyle göçebe hayata alışmıştır. Ayrıca kötü hava koşulları, gıda eksikliği ve benzeri negatif çevresel koşullara karşı dirençlidir. Bununla birlikte, yapağı post yapımı için oldukça elverişlidir (Tavakolian, 1999).



Şeikl 6.5 Zandi ırkı (<http://fao.org/>)

6.2 Kimyasallar

Çizelge 6.1 Çalışmamızda kullanılan kimyasalların listesi.

Kullanılan Kimyasalın Adı	Üretici Firma	Katalog No.
NH₄Cl	Sigma (Japonya)	017K01282
KHCO₃	Sigma (ABD)	09012ME
EDTA	Sigma (ABD)	066K0018
NaCl	Calbiochem (Almanya)	567441
C₂H₇NO₂	Fluka (Hollanda)	1345818
SDS	Sigma (Japonya)	015K0179
Agaroz	Fermentas	111801PR
dNTP Seti	Fermentas	00015729
EtBr	Sigma (ABD)	083K8937
Loading Dye (6x)	Fermentas	00021142
MgCl₂	Fermentas	00023898
Taq DNA Polimeraz	Fermentas	00024607
PCR Reaksiyon Buffer (10x)	Fermentas	00024430
Primer	İontek (İstanbul)	0708011533-1/2
Proteinaz K	Roche (Almanya)	03115836001
TBE Buffer (10x)	Fluka BioChemika (İsviçre)	1245679

6.3 DNA İzolasyonu

Çalışmamızda genomik DNA izolasyonu amacıyla tuzla çöktürme (Miller vd., 1998) yöntemi kullanılmıştır. Bu sebeple, pıhtı oluşumunu önlemek amacıyla kullanılan EDTA'lı tüplere alınan kanların buzu çözündükten sonra DNA'lar amonyum asetatlı tuzla çöktürülür.

2 ml kan alınır ve eritrositlerin hücre duvarlarını ozmozla parçalayarak genetik materyalin serbest kalması için üzerine 15 ml Lizis buffer (10 mM Tris [pH 7,6], 5 mM MgCl₂, 10 mM NaCl) eklenir. Bu işlemin ardından tüpler 7-8 saniye vortekslenir. 15 dakika buzdolabında bekletildikten sonra 11 dakika 6600 rpm'de 4 °C'de santrifüjlenir. Böylece genetik materyal ve membran fraksiyonu birbirinden ayrılır. Süpernatant yani üst sıvı dökülür. DNA'yı içeren pelletin üzerine 3 ml Nükleaz buffer (10 mM Tris-HCl [pH 7,5], 2 mM EDTA), 400 µl distile su, 50 µl SDS ve 30 µl Proteinaz K eklenerek vortekslenir. 37 °C'de 24 saat veya 56 °C'de 3 saat buzdolabında bekletilir.

İnkübasyonun ardından tüplere 1,8 ml amonyum asetat eklenip düşük devirde kısa bir süre vortekslenir. 10600 rpm'de 4 °C'de 25 dakika santrifüjlendikten sonra süpernatant yavaşça başka bir tüpe alınır. Süpernatant %99'luk soğuk etanol ile 15 ml'ye tamamlanır. Tüp hafifçe çalkalanır. Bu arada DNA ipliğinin oluşumu gözle görülebilir. DNA pipet yardımıyla tüpün kenarından etanol süzülerek alınır. DNA 400 µl steril distile su içeren ependorf tüplere aktarılıp, oda sıcaklığında birkaç gün bekletirilir. DNA'lar +4 °C'de saklanır.

6.4 PCR Aşaması

In vitro koşullarda istenilen bir genin veya özgün bir DNA dizisinin çok sayıda kopyasının elde edilmesi için rekombinant DNA yöntemleri ile DNA klonlanmasına ek olarak, 1980'li yıllardan itibaren "polimeraz zincir reaksiyonu" (PCR) da kullanılır. 1980'li yılların ortalarında Cetus firmasının araştırmacıları tarafından geliştirilen bu yöntem moleküler biyoloji çalışmalarında kullanıldığı gibi, birçok hastalığın tanısı için de klinik tıpta kullanılmaktadır. Ayrıca günümüzde, PCR yönteminden, alelik dizi varyasyonlarının gösterebilmesi ile doku transplantasyonu için doku tipinin belirlenmesi, adli tıp örneklerinin tiplendirilmesi gibi birçok alanda yararlanılır.

PCR ile istenilen genlerin ya da DNA dizilerinin jenerasyonlara bağlı replikasyonu, hızlandırılmış bir şekilde gerçekleştirilir. Aynen doğal hücre bölünmesinde olduğu gibi, PCR replikasyon sürecini taklit ederek yaklaşık 30 döngü sonra seçilmiş bir DNA dizisinin milyar katını kopyalar.

Polimeraz zincir reaksiyonu, özgün bir genetik materyal parçasının kopyalarının primerler tarafından yönlendirilerek, enzimatik olarak sentezlenmesi şeklinde tanımlanan *in vitro* bir yöntemdir.

PCR'ın temel bileşenleri; kalıp DNA molekülü, bu moleküle uygun olarak tasarlanmış primerler, dNTP'ler (ATP, CTP, GTP ve TTP) , DNA polimeraz enzimi ve $MgCl_2$ gibi bir tampondan oluşur.

Söz konusu bu işlem üç temel aşamadan oluşmaktadır; 1) Çoğaltılacak DNA'nın yüksek sıcaklığın etkisiyle denatürasyonu, 2) Primerin hedef DNA bölgesi ile hibridizasyonunu sağlayan sıcaklıklarda bağlanma reaksiyonu ve 3) DNA polimeraz enziminin katalizlediği primerlerin uzaması reaksiyonu.

Çalışmamızda PCR işlemi vasıtasıyla çoğaltılacak *PrP* kodlama bölgesi (GenBank, Accession No. AF195247-Nükleotid 8-752) için kullanılan primer dizileri aşağıdaki gibi tasarlanmıştır:

PrP1 (Forward Primer): 5'-GATCCTGGTTCTCTTTGTGG-3'

PrP2 (Reverse Primer): 5'-GGGAAGAAAAGAGGATCACA-3'

PCR işlemi sırasında ependorf tüplere 3 μ l (50-100 ng) genomik DNA, 2.5 μ l buffer, 1.5 μ l $MgCl_2$ (2.5 mM), her dNTP'den 0.1 μ l, primerlerden 1 μ l (10 μ M) ve 0.2 μ l 1U Taq polimeraz eklenir. Tüpler spinlendikten sonra Thermal cycler 9700 (Applied Biosystems) cihazına konulur. PCR işleminin koşulları 2 dakika 94 °C'de denatürasyon reaksiyonu, 30 döngü boyunca 94 °C'de 1 dakika, 58,4 °C'de, 1 dakika primerlerin kalıp DNA'ya bağlanması, 72 °C, 1 dakika DNA'nın uzaması ve son siklusun bitişinde 10 dakika 72 °C'de, final extension şeklindedir.

PCR işleminden sonra amplikonlar %2'lik agaroz jelde 15 dakika boyunca, 110 V'de yürütülüp etidiyum bromür ile boyanarak jel görüntüleme sistemiyle uzun dalga boylu UV cihazında görüntülenmiştir (Şekil 7.1).

6.5 Dizin Analizi

Çalışmamızda dizin analizi işlemi RefGen Firması (Ankara-ODTÜ) tarafından gerçekleştirilmiştir. PCR ürünleri saflaştırılıp forward primer vasıtasıyla dizinleme işlemi ABI3100 cihazında yapılmıştır.

6.6 Genotiplerin Analizi

PrP geninin 136., 154. ve 171. kodonlarındaki tek nükleotid polimorfizmleri (SNP'ler) BioEdit (7.0.9.0) (Hall, 1997) yazılımı yardımıyla doğrudan araştırılmıştır. Diğer ek polimorfizmler ve *PrP* gen dizilerinin karşılaştırılması MEGA4 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) programı (Kumar vd., 2007) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

6.7 İstatistiksel Analiz

Genotip frekansı (f_{ij}) (6.1) ve alel frekansını (p_i) (6.2) hesaplamak için aşağıdaki formülden yararlanmıştır:

$$f_{ij} = \frac{n_{ij}}{N} \quad \text{ve} \quad (6.1)$$

$$p_i = \frac{2f_{ii} + f_{ij}}{2N} \quad (6.2)$$

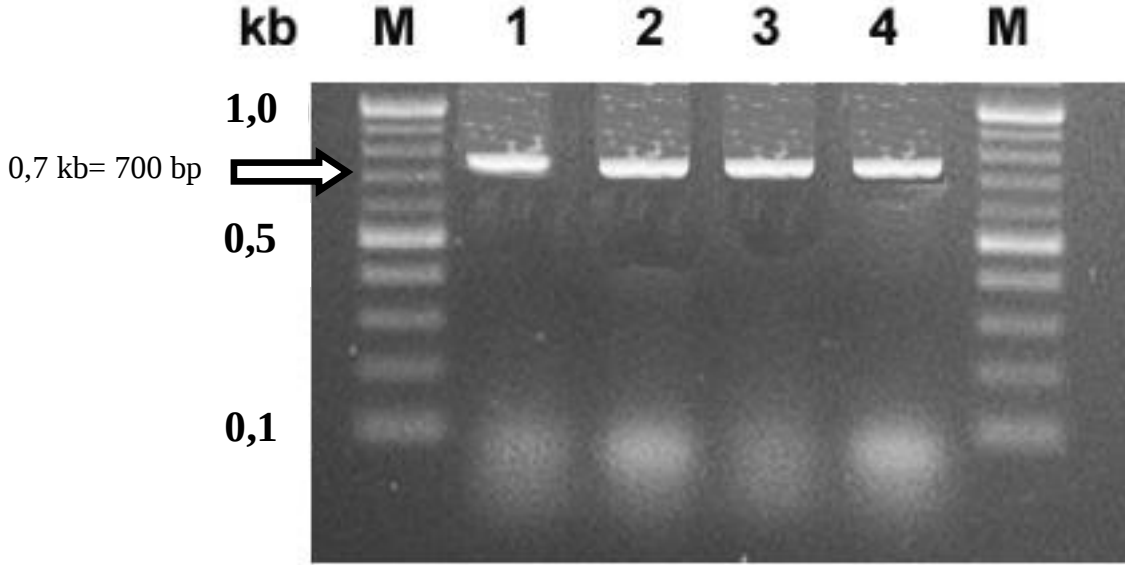
Burada n_{ij} , ij genotipine sahip hayvan sayısını ortaya koymakta ve N ise, toplam hayvan sayısını gösterir (6.1). χ -square testi alel dağılımları ve Hardy-Weinberg Dengesinden (Hardy-Weinberg Equilibrium (HWE)) olası sapma arasındaki ilişkinin önemini değerlendirmek için uygulanmıştır.

Her ırkın genotipik dağılımı gereğince, scrapieye duyarlılık Tongue vd. (2004) tarafından önerilen risk grupları uygulaması ile hesaplanmıştır.

7. SONUÇLAR

7.1 PCR Sonuçları

Amplikonlar 1,5 μ l loading dye ile agaroz jele yüklenmiştir. Jelin ilk ve son kuyucuğuna da 1 μ l 100 bp'lik marker plus loading dye ile beraber yüklenmiştir (Şekil 7.1).



Şekil 7.1 PCR işlemi sonucunda çoğaltılmış koyun *PrP* geninin jel elektroforezi. M: 100 bp'lik marker plus, 1, 2, 3 ve 4: İvesi koyun ırkından alınmış örneklerle ait PCR ürünleri.

7.2 Alel Frekansları

Çalışmamızda dokuz farklı alel bulunmuştur (Çizelge 7.1). Bu aleller; ARH, ARK, ARL, ARQ, ARR, SRQ, TRQ, VRQ ve VRR'dir. Dünyada en sık görünen aleller ise, AHQ, ARH, ARQ, ARR, TRQ (Billinis vd., 2004) ve VRQ alelleridir (Baylis ve Goldmann, 2004). Bizim çalışmamızda en sık görülen alel frekansı ARQ aleline (0,7668) aitken, ikinci dereceden yüksek alel frekansı ARH'dir (0,1006). Onun ardından en sık izlenen aleller sırasıyla ARR (0,0652), TRQ (0,0336) ve SRQ (0,0051) alelleridir. En az rastlanılan alel ise, VRR'dir (0,0031) (Çizelge 7.1).

Duyarlılığa sebep olan VRQ aleli Türkiye yerli koyun ırklarından İvesi (1) ve Morkaraman'da (3) dört kez görülmüştür. Bu alelin frekansı 0,0112'dir. En dirençli alel olduğu kabul edilen ARR ise, çalışmada kullanılan tüm ırklarda görülmekle beraber, sık görülme bakımından üçüncü sırada yer almaktadır.

Dünyada sık görülen aleller dışında İvesi ve Morkaraman ırklarında ARK (0,0058) aleline rastlanmıştır. ARL (0,0051) aleli ise, sadece Zandi ırkının iki örneğinde izlenmiştir (Çizelge 7.1).

Çizelge 7.1 İran ve Türkiye yerli koyun ırklarının alel frekansları.

PrP Aleli	İrklar				
	İvesi (n=32)	Morkaraman (n=37)	Lori- Bakhtiari (n=40)	Shal (n=39)	Zandi (n=39)
ARQ	0,7343	0,6216	0,8500	0,8589	0,7692
ARK	0,0156	0,0135	0	0	0
ARH	0,1406	0,1216	0,0875	0,0512	0,1025
ARL	0	0	0	0	0,0256
ARR	0,0625	0,1756	0,0625	0,0128	0,0128
SRQ	0	0	0	0,0128	0,0128
TRQ	0	0,0270	0	0,0641	0,0769
VRR	0,0156	0	0	0	0
VRQ	0,0156	0,0405	0	0	0

7.3 Genotip Frekansları

Yerli koyun ırklarında 13 farklı genotip tespit edilmiştir. Bunlar; ARQ/ARQ, ARQ/ARK, ARQ/ARH, ARQ/ARL, ARQ/ARR, ARQ/TRQ, ARH/ARR, ARR/VRQ, SRQ/TRQ, TRQ/TRQ ve VRQ/VRQ şeklindedir (Çizelge 7.2).

Toplam değerlendirmede en sık görülen genotip risk grubu bakımından üçüncü sırada yer alan ARQ/ARQ genotipidir. ARQ/ARQ genotip çalışmamızda yararlanılan tüm beş ırkta en yüksek frekansa sahiptir. Söz konusu bu genotip Shal ırkında en yüksek değeri gösterir. ARQ/ARQ genotipinden sonra en sık görülen genotip ise, ARQ/ARH genotipidir. Bu genotip en sık İvesi ırkında görülmektedir. Toplam değerlendirmede üçüncü sırada yer alan genotip ise, ARQ/ARR genotipidir. En dirençli genotip olarak bilinen ARR/ARR genotipi ise, hiçbir ırkta izlenmemiştir (Çizelge 7.2).

Çizelge 7.2 İran ve Türkiye yerli koyun ırklarının genotip frekansları.

<i>PrP</i> Genotipi	İrklar				
	İvesi (n=32)	Morkaraman (n=37)	Lori- Bakhtiari (n=40)	Shal (n=39)	Zandi (n=39)
ARR/ARR	0	0	0	0	0
ARR/TRQ	0	0	0	0	0
ARR/ARQ	%6,250	%29,720	%7,500	%2,564	0
ARQ/AHQ	0	0	0	0	0
ARH/TRQ	0	0	0	0	0
TRQ/TRQ	0	%2,702	0	0	0
SRQ/TRQ	0	0	0	%2,564	%2,564
ARQ/TRQ	0	0	0	%10,256	%10,256
ARQ/ARQ	%56,250	%37,830	%75,000	%76,923	%69,102
ARQ/ARK	%3,125	%2,702	0	0	0
ARH/ARR	0	%2,702	%5,000	0	0
ARQ/ARH	%28,120	%18,910	%12,500	%10,256	%15,384
ARH/VRR	%3,125	0	0	0	0
ARH/ARH	0	0	0	0	%2,564
ARR/VRQ	%3,125	%2,702	0	0	0
VRQ/VRQ	0	%2,702	0	0	0
ARQ/VRQ	0	0	0	0	0
ARQ/ARL	0	0	0	0	%5,128

En fazla genotip çeşitliliği Morkaraman ırkında izlenilirken İvesi ve Zandi ırkları ikinci sıraya paylaşmaktadır. Bu iki ırkı sırasıyla Shal ve Lori-Bakhtiari ırkları takip etmiştir.

7.4 Ek Polimorfizmler

Yerli ırkların dizin analizinin ve 136., 154. ve 171. kodonlarındaki genotiplerine bakılmasına takiben, *PrP* geninin dizisi diğer olası polimorfizmlerin araştırılması amacıyla bütünüyle taranmıştır. Araştırmamızda hiçbir bireyde insersiyon ve/veya delesyon şeklindeki mutasyonlar görülmemiştir. İzlenilen mutasyonlar tek nükleotid değişimi adıyla da bilinen

SNP'lerdir. Söz konusu taramalarda beş koyun ırkında bu polimorfizmler izlenmiştir; M112T, G127S, G127V, H143R, G145V ve N146S (Çizelge 7.3).

Polimorfik çeşitlilik bakımından zengin olan ırk, dört farklı polimorfizmle İran'ın yerli koyun ırklarından biri olan Shal ırkıdır. Söz konusu polimorfizmler: M112T, G127S, G145V ve N146S'dir. M112T polimorfizmine tek bir örnekte ARQ/ARQ genotipinde izlenmiştir. G127S polimorfizmi ise, ARQ/ARR genotipine sahip tek bir bireyde rastlanmıştır (Çizelge 7.3).

Shal ırkında en çok rastlanılan polimorfizm, 25 bireyde görünen G145V polimorfizmidir. Bu bireylerin genotipleri; ARQ/ARQ, ARQ/ARH, ARQ/TRQ ve TRQ/SRQ şeklinde olup Çizelge 7.3'te gösterilmiştir. Bu polimorfizm en çok ARQ/ARQ genotipinde izlenmiştir.

N146S polimorfizmi en çok izlenilen ikinci polimorfizm olarak Shal ırkının 9 üyesinde görülmüştür. Bunlar ARQ/ARQ ve ARQ/TRQ genotiplerine sahiptir (Çizelge 7.3). Bu polimorfizm 6 kez olmak üzere en çok ARQ/ARQ genotipine sahip bireylerde gösterilmiştir.

Lori-Bakhtiari ırkında tek izlenilen polimorfizm G127S polimorfizmidir. Söz konusu polimorfizm ARQ/ARQ genotipine sahip koyunda (Çizelge 7.3) görülmüştür.

İvesi ırkında izlenilen polimorfizmler; G127S, H143R ve N146S'dir. H143R ARQ/ARQ ve ARQ/ARH genotiplerinde iki kez (Çizelge 7.3) görülmüştür. Bununla birlikte ARQ/ARQ genotipine sahip iki örnekte N146S polimorfizmine rastlanmıştır. İvesi ırkında en az görünen polimorfizm tek bir bireyde rastlanan G127S'dir.

Tablo 7.3'te gösterildiği gibi Morkaraman ırkında M112T, G127S ve G127V polimorfizmleri görülmektedir. Bu ırkta G127S mutasyonu ARQ/ARH ve ARQ/ARR (iki kez) genotiplerine sahip üç koyunda izlenilir.

Çizelge 7.3 Ek polimorfizmlerin genotiplere göre dağılımı.

İrk	Örnek	Haplotip Polimorfizmler	Ek Polimorfizmler	Heterozigot/Homozigot
İvesi	1412	ARQ/ARH	H143R	Heterozigot
İvesi	1413	ARQ/ARQ	H143R	Heterozigot
İvesi	1415	ARQ/ARQ	G127S	Heterozigot
İvesi	1421	ARQ/ARQ	N146S	Homozigot
İvesi	1424	ARQ/ARQ	G127S	Homozigot
İvesi	1438	ARQ/ARQ	N146S	Heterozigot
Morkaraman	1264	ARQ/ARR	G127S	Heterozigot
Morkaraman	1277	ARQ/ARR	G127S	Homozigot
Morkaraman	1279	ARQ/ARQ	M112T	Heterozigot
Morkaraman	1287	ARQ/ARH	G127V	Heterozigot
Lori- Bakhtiari	37	ARQ/ARQ	G127S	Heterozigot
Shal	2	ARQ/ARR	G127S	Homozigot
Shal	4	TRQ/SRQ	G145V	Homozigot
Shal	5	ARQ/ARQ	G145V	Homozigot
Shal	6	ARQ/ARQ	G145V	Heterozigot
Shal	8	ARQ/ARQ	G145V	Heterozigot
Shal	10	ARQ/ARQ	G145V	Homozigot
Shal	11	ARQ/TRQ	N146S	Homozigot
Shal	12	ARQ/ARH	G145V	Heterozigot
Shal	13	ARQ/ARQ	G145V	Heterozigot
Shal	13	ARQ/ARQ	N146S	Heterozigot
Shal	14	ARQ/ARQ	G145V	Homozigot
Shal	15	ARQ/ARH	G145V	Heterozigot
Shal	16	ARQ/ARQ	G145V	Homozigot
Shal	17	ARQ/ARQ	M112T	Homozigot
Shal	18	ARQ/TRQ	N146S	Homozigot
Shal	19	ARQ/TRQ	G145V	Heterozigot
Shal	19	ARQ/TRQ	N146S	Heterozigot
Shal	20	ARQ/ARQ	G145V	Heterozigot
Shal	20	ARQ/ARQ	N146S	Heterozigot

Shal	21	ARQ/TRQ	G145V	Heterozigot
Shal	22	ARQ/ARQ	G145V	Homozigot
Shal	24	ARQ/ARQ	N146S	Homozigot
Shal	25	ARQ/ARQ	G145V	Homozigot
Shal	27	ARQ/ARQ	G145V	Homozigot
Shal	28	ARQ/ARQ	G145V	Heterozigot
Shal	29	ARQ/ARQ	G145V	Homozigot
Shal	30	ARQ/ARQ	G145V	Heterozigot
Shal	31	ARQ/ARQ	G145V	Homozigot
Shal	33	ARQ/ARQ	G145V	Homozigot
Shal	34	ARQ/ARQ	N146S	Homozigot
Shal	35	ARQ/ARQ	G145V	Heterozigot
Shal	36	ARQ/ARQ	G145V	Heterozigot
Shal	37	ARQ/ARQ	G145V	Homozigot
Shal	38	ARQ/ARQ	N146S	Homozigot
Shal	39	ARQ/ARQ	G145V	Heterozigot
Shal	40	ARQ/ARQ	N146S	Homozigot
Zandi	16	ARQ/ARL	G127S	Heterozigot
Zandi	30	ARQ/TRQ	G127S	Heterozigot
Zandi	32	ARQ/ARQ	G127S	Homozigot

7.5 Nor98 Genotip Frekansları ve Polimorfizmler

Scrapie için dirençli olduğu tahmin edilen ARR, AHQ ve ARQ alelleri Nor98 hastalığına karşı duyarlılığı artırır. Bu alellerin duyarlılık dereceleri sırasıyla ARQ, AHQ ve ARR şeklindedir.

Çalışmamızda elde edilen ilgili genotipler ARQ/ARQ ve ARQ/ARR'dir. Buna göre, Nor98 bakımından en duyarlı ırk, %76,923 ARQ/ARQ genotip frekansı ile Shal ırkıdır. Shal ırkını İran yerli ırklarından birisi olan Lori-Bakhtiari ırkı %75,000 ARQ/ARQ genotip frekansı ile takip etmektedir. Homozigot ARQ/ARQ genotip frekansı Zandi ırkında %69,102'dir. Türkiye yerli koyun ırklarının ARQ/ARQ genotip frekansları İvesi ve Morkaraman ırklarında sırasıyla %56,250 ve %37,83 şeklindedir. Örnekler ARQ/ARR genotipi bakımından incelendiğinde ise, Morkaraman %29,720 genotip frekansı ile ilk sırada yer alırken, Lori-Bakhtiari ırkı açık

bir ara ile (%7,500 frekans ile) ikinci sırada bulunmaktadır. Bu ırkları, %6,250 ve %2,564 genotip frekansları ile sırasıyla İvesi ve Shal ırkları takip etmektedir.

Çalışmamızda AHQ haplotipi herhangi bir ırkta ve genotipte rastlanmamıştır. ARR/ARR genotipine ise, herhangi bir örnekte gözlemlenmemiştir.

8. TARTIŞMA

8.1 Alel Frekansları

İran ve Türkiye’de kayda geçmiş bir scrapie vakası yoktur. Bunun yerli ve melez koyun ırklarının genotiplerinden kaynaklanıp kaynaklanmadığı Türkiye’deki bazı çalışmalarla gösterilmiştir (Ün vd, 2008). Bu çalışmaların sonuçlarına göre duyarlılığa sebep olan VRQ aleli düşük frekanslarla izlenmiştir (Ün vd, 2008). Bizim çalışmamızdan da elde edilen sonuçlar bu bulguyu desteklemektedir. Homozigot VRQ alelinin genotipik kombinasyonu bir tek Morkaraman ırkında %2,702 oranla görülmüştür (Çizelge 7.2). V₁₃₆R₁₅₄Q₁₇₁ aleli ise, sadece Türkiye koyun ırklarında (İvesi ve Morkaraman) rastlanmıştır. Daha önce yapılan bir çalışmada Morkaraman ırkında sadece ARR ve ARQ haplotipleri gözlemlenmiştir (Lühken vd., 2008).

Çalışmamızda *PrP* proteininin 154. kodonunda sadece arginin amino asidinin (R154) varlığı saptanmıştır. Duyarlılığı arttırdığı tahmin edilen H154 polimorfizmi (Ekateriniadou vd., 2007) daha önce Türkiye yerli ve melez ırkları arasında, yerli bir ırk olan İmroz koyunlarında görülmüştür (Gönülalp vd., 2008; Ün vd., 2008).

Avrupa’da farklı koyun ırklarının *PrP* genlerindeki polimorfizmler araştırılmıştır; bunlar Alman (Drögemüller vd., 2001, 2004), Avusturyalı (Sipos vd., 2002), Fransız (Palhière vd., 2002), İngiliz (Arnold vd., 2002; Baylis vd., 2004), İrlandalı (O’Doherty vd., 2000, 2004), İspanyol (Ponz vd., 2003; Legarra vd., 2004; Acin vd., 2004;) İtalyan (Blasi vd., 2003; Vaccari vd., 2007; Pongolini vd., 2009), İzlandalı (Thorgeirsdottir vd., 1999), Norveçli (Tranulis vd., 1999), Polonyalı (Walawski ve Czarnik, 2003; Jasik ve Reichert., 2006), Portekiz (Orge vd., 2003; Gama vd., 2006) ve Yunan (Billinis vd., 2004) koyun ırklarıdır. Bütün bu ırklarda sayısal olarak baskın olan alel, *PrP* geninin atasal formu olduğu tahmin edilen ARQ alelidir. Bizim sonuçlar elde ettiğimiz bu düşünceyi doğrular niteliktedir. Ayrıca sözü edilen alelin geleneksel olarak zor koşullar altında yetiştirilen ırklarda yüksek frekansla izlendiği sanılmaktadır (Palhière vd., 2002; Sipos vd., 2002). Bu çalışmada çetin koşullarda yetiştirilen yerli ırkların kullanılması ve bu ırkların ARQ yüksek frekansına sahip olduğunun belirlenmiş olması bu varsayımı doğrular niteliktedir.

ARR haplotipi diğer ırklara nazaran büyük bir fark göstererek yüksek bir oranla Morkaraman koyunlarında izlenmiştir. Bu bulgu Lühken ve arkadaşlarının sonuçlarını destekler (Lühken vd., 2008).

Dünyada çok az rastlanan SRQ haplotipi Türk ırklarda hiç rastlanmadığı halde İran ırklarından Shal ve Zandi koyunlarında birer kez olmak üzere görülmüştür. Söz konusu bu alel benzer çalışmalarda incelenen diğer Türkiye ırklarında da hiç görülmemiştir (Lühken vd., 2008; Ün vd., 2008).

TRQ aleli ise, Shal ve Zandi ırklarında sırasıyla 5 ve 6 bireyde izlenmiştir. Bu haplotip Morkaraman ırkının iki koyununda da rastlanmıştır. Bu haplotip daha önce çalışılan Türkiye yerli ırklarından Akkaraman, Dağlıç, İmroz ve Karayaka koyun ırklarının hiçbirinde rastlanmamıştır (Lühken vd., 2008; Ün vd., 2008).

ARK haplotipi birer bireyde olmak üzere her iki Türkiye yerli koyun ırkında da kaydedilmiştir. Bu haplotipin 187 örneğin sadece ikisinde bulunuşu bu haplotipin nadir olarak sadece bazı belli koyun gruplarındaki varlığına işaret etmektedir. Bu sonuç daha öncelerde yapılan araştırmaların sonuçları ile örtüşmektedir (Waßmuth vd., 2001; Lühken vd., 2008).

Bugüne kadar *PrP* kodonları bakımından araştırılmış Türkiye yerli koyun ırkları arasında Sakız ırkı en yüksek ARR haplotip frekansı ile en dirençli koyun ırkı olarak nitelendirebilir (Çizelge 8.1). İki farklı araştırmada ele alınan Morkaraman ırkının koyunları haplotip dağılımı bakımında iki değişik olgu göstermiştir. Lühken ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ARR haplotipinin frekansı yüksekken bizim çalışmamızda bu alelin oranı düşüktür. Diğer yandan Lühken'in çalışmasında bulunmayan VRQ haplotipi bu çalışmada göz ardı edilmeyecek bir frekansa sahip olduğu gösterilmiştir (Çizelge 8.1).

Çizelge 8.1 Türkiye yerli koyun ırklarının *PrP* haplotip frekansları
(Lühken vd., 2008; Ün vd., 2008).

İrk	Örnek Sayısı	ARR	ARQ	VRQ
Akkaraman	17	8,82	52,94	0,00
Dağlıç	31	16,13	80,65	0,00
İmroz	31	24,19	74,19	0,00
İvesi	32	6,25	73,43	1,56
Karayaka	30	25,00	73,33	1,67
Kıvırcık	44	42,05	51,14	3,41
Morkaraman	31	22,58	77,42	0,00
Morkaraman	37	17,56	62,16	4,05
Sakız	34	55,88	29,41	1,47

8.2 Genotip Frekansları

Tongue ve arkadaşlarının (2004) çalışmalarında kullandıkları risk tablosuna göre çalışmamızda yararlanılan yerli ırklarının genotipik değerlendirilmesi Çizelge 8.2’de gösterilmiştir. Bu tabloya göre koyunlar dirençliden duyarlığa doğru beş farklı risk grubunda yer almaktadır.

En çok direçli genotip olarak kabul edilen ARR/ARR genotipinin hiçbir yerli ırkta bulunmayışı önemli bir konudur. Bu sorun ilgili genin başka bir ırktan bu ırkın gen havuzuna kontrollü olarak aktarılması ile giderilebilir. Böylece ARR haplotipinin artırılması ile genetik olarak dirençli koyun nesilleri elde edilebilir.

Araştırmada örneklendirilen diğer yerli koyunlarla kıyaslandığında Morkaraman koyunları farklı bir genetik dirençlilik olgusu göstermektedir. Bu ırkın üyeleri %29,72 oranında ikinci risk grubunda yerleşir (Çizelge 8.2). Diğer yandan bu ırkın bazı üyelerinde VRQ haplotipi homozigot ve heterozigot şeklinde mevcuttur.

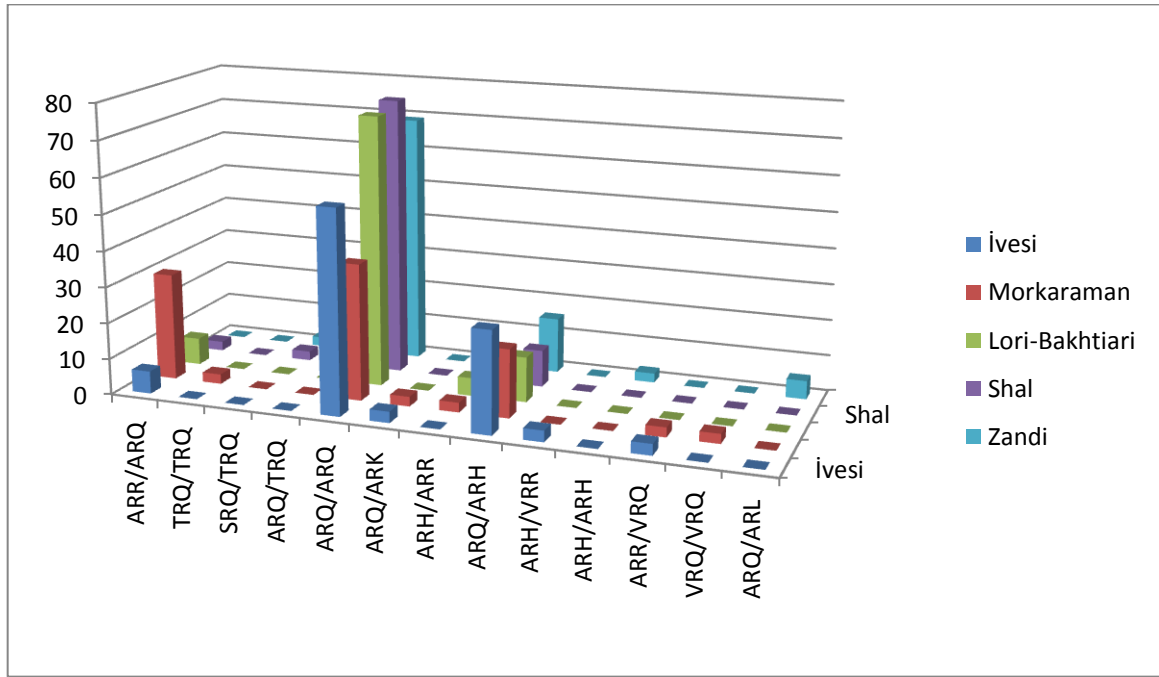
Çizelge 8.2 İran ve Türkiye yerli koyun ırklarının genotiplerine göre risk grubu sınıflandırılması.

Risk Grubu	PrP Genotipi	İrklar				
		Ivesi (n=32)	Morkaraman (n=37)	Lori-Bakhtiari (n=40)	Shal (n=39)	Zandi (n=39)
1	ARR/ARR	0	0	0	0	0
2	ARR/TRQ	0	0	0	0	0
2	ARR/ARQ	6,250%	29,720%	7,500%	2,564%	0
2	ARH/ARR	0	2,702%	5,000%	0	0
3	TRQ/TRQ	0	2,702%	0	0	0
3	ARQ/TRQ	0	0	0	10,256%	10,256%
3	ARQ/ARQ	56,250%	37,830%	75,000%	76,923%	69,102%
3	ARQ/ARH	28,120%	18,910%	12,500%	10,256%	15,384%
3	ARH/ARH	0	0	0	0	2,564%
4	ARR/VRQ	3,125%	2,702%	0	0	0
5	VRQ/VRQ	0	2,702%	0	0	0

Duyarlılık ve dirençlilik üzerinde etkili oldukları sanılan üç kodon bakımından en çok genotipik çeşitlilik Morkaraman koyun ırkında tanımlanmıştır. İvesi ve Zandi ırkları ise, çeşitlilik bakımından ikinci sırayı paylaşırlar.

Scrapie bakımından ikinci risk grubunda yer alan ARR/ARQ genotipi Zandi ırkı dışında çalışmada kullanılan bütün koyun ırklarında görülmüştür. TRQ/TRQ genotipi ise, sadece Morkaraman koyunlarında izlenmiştir. SRQ/TRQ ve ARQ/TRQ genotipleri İran yerli ırklarından Shal ve Zandi koyunlarında gözlemlenmiştir. ARQ/TRQ genotipinin frekansı her iki ırktada eşittir. İkinci risk grubunda yerleşen ARH/ARR genotipi Morkaraman ve Lori-Bakhtiari ırklarında kaydedilmiştir. ARH/VRR genotipinin varlığı bir tek İvesi ırkında gösterilmiştir. ARH/ARR ve ARQ/ARL genotipleri de sadece Zandi ırkında izlenmiştir (Çizelge 8.3).

Çizelge 8.3 İran ve Türkiye yerli ırklarının genotip dağılımı.



Daha önce Türkiye yerli koyun ırkları ile bizim çalışmamız karşılaştırıldığında en dirençli genotip olarak tanımlanan ARR/ARR genotipinin frekansı Sakız ırkında en yüksek seviyedeysen, Akkaraman, İvesi ve bizim çalışmamızda incelenen Morkaraman koyunlarında bu genotip hiç gözlenmemiştir (Çizelge 8.4). En duyarlı genotip olarak öne sürülen VRQ/VRQ genotipi ise, sadece, bu çalışmada yer alan Morkaraman koyunlarında kaydedilmiştir (Çizelge 8.4).

Çizelge 8.4 Türkiye yerli koyun ırklarında *PrP* genotipleri (Lühken vd., 2008; Ün vd., 2008).

İrk	Örnek Sayısı	ARR/ARR	ARQ/ARQ	ARR/VRQ	ARQ/VRQ	VRQ/VRQ
Akkaraman	17	0,00	23,53	0,00	0,00	0,00
Dağlıç	31	6,45	70,97	0,00	0,00	0,00
İmroz	31	3,20	51,60	0,00	0,00	0,00
İvesi	32	0,00	6,25	3,125	0,00	0,00
Karayaka	30	3,33	53,33	3,33	0,00	0,00
Kıvırcık	44	13,60	27,20	4,50	2,20	0,00
Morkaraman	31	6,45	61,29	0,00	0,00	0,00
Morkaraman	37	0,00	37,83	2,70	0,00	2,70
Sakız	34	38,20	11,70	2,90	0,00	0,00

Bizim çalışmamız Avrupa’da yapılan araştırmalarla kıyaslandığında İngiltere koyun ırklarında ARR/ARR genotipinin yüksek bir frekansa sahip olduğu görülür (Çizelge 8.5). Scrapie hastalığının ilk önce İngiltere’de meydana çıktığı göz önünde bulundurursa, şu anda dayanıklılık oranının yüksek olması hayvancılıkta kontrollü bir seleksiyon programının yürütülmesi sayesinde gerçekleştiği düşünülebilir.

Bu çalışmada da araştırmamızda olduğu gibi birçok Avrupa ülkesinde ARQ/ARQ genotipinin frekansı diğer genotip frekanslarına nazaran oldukça yüksek değerler sergilemektedir (Lipsky vd., 2008) (Çizelge 8.5). Bu bulgu ARQ alelinin *PrP* geninin atasal aleli olabileceği varsayımını onaylamaktadır.

ARK haplotipi ise, daha önce belirtildiği gibi *PrP*’nin ender rastlanan bir haplotipi olarak sadece İvesi ırkında ve İtalyan bir ırkta (Bergamasca) rastlanmıştır. Bununla beraber, scrapieye karşı en duyarlı genotip olan VRQ/VRQ genotipinin frekansı çoğu Avrupa ülkesinde sıfır olarak bulunmuştur (Çizelge 8.5) (Lühken vd., 2008).

Çizelge 8.5 İran ve Türkiye yerli koyun ırklarının genotip frekansının bazı Avrupa ırkları ile karşılaştırılması.

İrklar	<i>PrP</i> Genotipleri				
	ARR/ARR	ARQ/ARQ	ARQ/ARK	ARR/VRQ	VRQ/VRQ
İran (Shal)	0,00	76,92	0,00	0,00	0,00
Türkiye (İvesi)	0,00	56,25	3,12	3,12	0,00
İtalya (Altamura)	0,00	25,81	0,00	0,00	0,00
Almanya (Weisses Bergschaf)	0,00	53,33	0,00	0,00	0,00
Fransa (Thône et Martod)	0,00	64,32	0,00	0,00	0,00
İngiltere (Welsh Mountain)	25,81	29,03	0,00	3,23	0,00
İspanya (Colmenareña)	12,90	51,61	0,00	3,23	0,00

Son olarak, burada araştırılan örnek sayısının kısıtlı oluşuna göre her ırktaki numune sayısının artışına takiben *PrP* haplotip ve genotip frekanslarında küçük değişimlerin gözlemlenebileceği göz ardı edilmemelidir.

8.3 Ek Polimorfizmler

Koyunlarda tek nükleotid polimorfizmleri 50 bireyde gözlenmiştir (Çizelge 7.3). İlgili polimorfizmler M112T, G127S, G127V, H143R, G145V ve N146S şeklindedir.

Araştırmada kullanılan yerli koyun ırkları ek polimorfizm bakımından diğer yerli koyun ırkları ile farkları araştırmak amacıyla incelendiğinde beş farklı polimorfizme rastlanmıştır. Türkiye yerli koyun ırkları olan İmroz, Kıvırcık ve Sakız'dan farklı olarak (Ün vd., 2008) İvesi ve Morkaraman koyunlarında M112T, G127S, G127V, H143R polimorfizmleri bulunmuştur. İmroz, Kıvırcık ve Sakız ırklarında belirtilen ek polimorfizmler M112T, A116E, R138M, N146S, Y172D, S173N, V179E ve R231R şeklindedir (Ün vd., 2008). İran yerli

koyun ırklarından Lori-Bakhtiari, Shal ve Zandi koyun ırklarında ise, M112T, G127S, G145V ve N146S polimorfimleri görülür. Bu ırklarda en çok görülen polimorfizmler sırasıyla G145V ve N146S polimorfizmleri görülmüştür. Söz konusu tek nükleotid polimorfizmleri en çok ARQ/ARQ genotipine sahip bireylerde bulunmuştur.

Çalışmamızda kullanılan beş farklı ırk arasında en az polimorfizm tek bir bireyde olmak üzere Lori-Bakhtiari ırkında görülmüştür. Polimorfik çeşitlilik bakımından en zengin ırk Shal ırkıdır (Çizelge 7.3).

Scrapie üzerinde etkili olduğu düşünülen 168. kodondaki ek polimorfizmler (Kirby vd., 2006) hiçbir ırkta rastlanılmamıştır.

Çalışmamızda ARQ/ARQ genotipinin yüksek frekansla izlenmesi ve ARR/ARR genotipinin analiz edilen hiçbir ırkta görülmemesi homozigot ARR alel frekansının yükselmesi için geliştirilen seçici yetiştirme programlarında karşılaşılabilen en önemli sorunlardan birisidir. Netice itibari ile bulgularımız scrapieye dirençliliği arttırmak amacıyla tasarlanan uygun çiftleştirme programlarının önemini vurgulamaktadır. Buna uygun olarak büyük kitle genotipleme çalışmaları gereklidir. Ayrıca scrapieye dirençli haplotipinin frekansını yükseltmek için söz konusu alel diğer ırklardan gen havuzuna aktarılmalı veya biyoteknolojik yöntemler ile gerçekleştirilen manupulasyonlar vasıtasıyla bu zorluklar giderilebilir.

Diğer yandan araştırılan yerli koyun ırklarında ARR haplotipinin düşük frekans ile gözlemlenmesi seçici hayvancılık programlarını zorlaştıran önemli bir husustur. Bu sorunun ortadan kaldırılması ve sağlıklı hayvan nesillerinin yetiştirilmesi amacıyla koyun ırklarının ölümcül scrapie ve Nor98 hastalıklarına benzer hastalıklar yönünden değerlendirilmesi ve ek polimorfizmlerin bu hastalıklar üzerindeki kesin etkilerinin araştırılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

Acin, C., Martin-Burriel, I., Goldmann, W., Lyahyai, J., Monzon, M., Bolea, R., Smith, A., Rodellar, C., Badiola, J. J. ve Zaragoza, P. (2004), "Prion Protein Gene Polymorphisms in Healthy and Scrapie-affected Spanish Sheep", *Journal of General Virology*, 85: 2103–2110

Acutis, P.L., Sbaiz, L., Verburg, F., Riina, M.V., Ru, G., Moda, G., Caramelli, M. ve Bossers, A. (2004), "Low Frequency of the Scrapie Resistance-associated Allele and Presence of Lysine-171 Allele of the Prion Protein Gene in Italian Biellese Ovine Breed", *Journal of General Virology*, 85: 3165-3172.

Acutis, P.L., Bossers, A., Priem, J., Riina, M.V., Peletto, S., Mazza, M., Casalone, C., Forloni, G., Ru, G. ve Caramelli, M. (2006), "Identification of Prion Protein Gene Polymorphisms in Goats from Italian Scrapie Outbreaks", *Journal of General Virology*, 87: 1029-1033.

Aguzzi, A. ve Polymenidou, M. (2004), "Mammalian Prion Biology: One Century of Evolving Concepts", *Cell*, 116:313-327.

Al-Mufarrej, S.I. ve Hussein, M.F. (2004), "Prion Diseases in Man and Animals", *Scientific Journal of King Faisal University*, Volume 5, No.2, 1425.

Alper, T., Cramp, W.A., Haig, D.A. ve Clarke, M.C. (1967), "Does the Agent of Scrapie Replicate without Nucleic Acid?", *Nature*, 214: 764–6.

Alper, T. (1993), "The Scrapie Enigma: Insights from Radiation Experiments", *Radiat Research*, 135: 283-292.

Andréoletti, O., Berthon, P., Marc, D., Sarradin, P., Grosclaude, J., van Keulen, L., Schelcher, F., Elsen, J. M. ve Lantier, F. (2000), "Early Accumulation of PrP^{Sc} in Gut-associated Lymphoid and Nervous Tissues of Susceptible Sheep from a Romanov Flock with Natural Scrapie", *Journal of General Virology*, 81: 3115–3126.

Andréoletti, O., Berthon, P., Levavasseur, E., Marc, D., Lantier, F., Monks, E., Elsen, J. M. ve Schelcher, F. (2002), "Phenotyping of Protein-Prion (PrP^{Sc})-Accumulating Cells in

Lymphoid and Neural Tissues of Naturally Scrapie-Affected Sheep by Double-Labeling Immunohistochemistry”, *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 50: 1357–1370

Arnold, J.E., Tipler, C., Laszlo, L., Hope, J., Landon, M. ve Mayer, R.J. (1995), “The Abnormal Ispform of the Prion Protein Accumulates in Late-Endosome-Like Organelles in Scrapie-Infected Mouse Brain”, *Journal of Pathology*, 176:403-411.

Arnold, M., Meek, C., Webb, C.R. ve Hoinville, L.J. (2002), “Assessing the Efficacy of a Ram -genotyping Programme to Reduce Susceptibility to Scrapie in Great Britain”, *Preventive Veterinary Medicine*, Volume 56, No. 3, pp. 227-249.

Baron, T., Bencsik, A., Biacabe, A.G., Morignat, E., Bessen, R.A. (2007), “ Phenotypic Similarity of Transmissible Mink Encephalopathy in Cattle and L-type Bovine Spongiform Encephalopathy in a Mouse Model”, *Emerging Infectious Diseases*, 13 :1887-94.

Basler, K., Oesch, B., Scott, M., Westaway, D., Wälchli, M., Groth, D.F., McKinley, M.P., Prusiner, S.B. ve Weissmann, C. (1986), “Scrapie and Cellular *PrP* Isoforms are Encoded by the Same Chromosomal Gene”, *Cell*, 46: 417–428.

Baylis, M., Chihota, C., Stevenson, E., Goldmann, W., Smith, A., Sivam, K., Tongue, S. ve Gravenor, M.B. (2004), ” Risk of Scrapie in British Sheep of Different Prion Protein Genotype”, *Journal of General Virology*, 85: 2735-2740.

Baylis, M. ve Goldmann, W. (2004), “The Genetics of Scrapie in Sheep and Goats”, *Current Molecular Medicine*, Volume 4, No. 4, pp. 385-396.

Beck, E. ve Daniel, P.M. (1987), (Neuropathology of Transmissible Spongiform Encephalopathies) S.B. Prusiner ve M.P. McKinley, eds, *Prions: Novel Infectious Pathogens Causing Scrapie and Creutzfeldt–Jakob Disease*, Academic Press, San Diego, pp. 331–385.

Belt, P.B.G.M., Muileman, I.H., Schreuder, B.E.C., Bos-de Ruijter, J., Gielkens, A.L.G. ve Smits, M.A. (1995), “Identification of Five Allelic Variants of the Sheep *PrP* Gene and Their Association with Natural Scrapie”, *Journal of General Virology*, 76: 509-517.

Belt, P.B., Bossers, A., Schreuder, B.E. ve Smits, M.A. (1996), Bovine- Belt, P.B., Muileman, I.H., Schreuder, B.E., Bos-de Ruijter, J., Gielkens, A.L. ve Smits, M.A. (1995), *Journal of General Virology*, 76: 509–517.

Benestad, S.L., Sarradin, P., Thu, B., Schonheit, J., Tranulis, M.A. ve Bratberg, B. (2003), “Cases of Scrapie with Unusual Features in Norway and Designation of a New Type, Nor98”, *Veterinary Record*, 153: 202–208.

Bendheim, P.E., Barry, R.A., DeArmond, S.J., Stites, D.P. ve Prusiner, S.B. (1984), “Antibodies to a Scrapie Prion Protein”, *Nature*, 310: 418–421.

Billinis, C., Psychas, V., Leontides, L., Clarke, A.R. ve Jefferys, J.G.R. (1994), “Prion Protein is Necessary for Normal Disease Virus Isolations From the Gerstmann-Straussler Syndrome with an Analysis of the Various Forms of Amyloid Plaque Deposition in the Virus-Induced Spongiform Encephalopathies”, *Brain*, 104: 559–588.

Billinis, C., Panagiotidis, H.C., Psychas, V., Argyroudis, S., Nicolaou, A., Leontides, S., Papadopoulos, O. ve Sklaviadis, T. (2002), “Prion Protein Gene Polymorphisms in Natural Goat Scrapie”, *Journal of General Virology*, 83: 713–721.

Billinis, C., Psychas, V., Leontides, L., Spyrou, V., Argyroudis, S., Vlemmas, I., Leontides, S., Sklaviadis, T. ve Papadopoulos, O. (2004), “Prion Protein Gene Polymorphisms in Healthy and Scrapie-affected Sheep in Greece”, *Journal of General Virology*, 85: 547–554.

Bird, S. M. (2003),” European Union’s Rapid TSE Testing in Adult Cattle and Sheep: Implementation and Results in 2001 and 2002”, *Statistical Methods in Medical Research*, 12: 261–278.

Blasi, M., Lanza, A., Sangalli, S., Rosati, A., Vaccari, G., Conte, M., Chiappini, B., Carta, A., Ligios, C., Acutis, P.L., Nazzarri, N., Maroni, A. ve Agrimi, U. (2003), Determinazione delle Frequenze Alleliche del Gene *PrP* Nelle Razze Ovine Italiane [Scrapie], Italian Society of Veterinary Science. 57. Annual meeting, Ischia, Napoli (Italy).

Boellaard J.W. ve Schlote, W. (1981), “Glial Plaques: Amyloid Deposits Characteristic of Slow Transmissible Encephalopathies”, *Virchows Archiv [Cell Pathol]*, 37:337-341.

Borchelt, D.R., Scott, M., Taraboulos, A., Stahl, N. ve Prusiner, S.B. (1990), “Scrapie and Cellular Prion Proteins Differ in Their Kinetics of Synthesis and Topology in Cultured Cells”, *Journal of Cell Biology*, 110:743-752.

Borchelt, D.R., Taraboulos, A. ve Prusiner, S.B. (1992), “Evidence for Synthesis of Scrapie Prion Proteins in Endocytic Pathway”, *Journal of Biological Chemistry*, 267:16188-16199.

Bossers, A., de Vries, R. ve Smits, M.A. (2000), “Susceptibility of Sheep for Scrapie as Assessed by *in Vitro* Conversion of Nine Naturally Occurring Variants of *PrP*”, *Journal of Virology*, 74: 1407–1414.

Bossers, A., Harders, F.L. ve Smits, M.A. (1999), “*PrP* Genotype Frequencies of the Most Dominant Sheep Breed in a Country Free from Scrapie”, *Archives of Virology*, 144: 829–834.

Bradley, G.D. ve Freeman, A.R. (2003), *Livestock Phylogenetics and Geography, as Pertinent to the Classification of Disease Spread from South Asia to the Mediterranean Basin, Including the Arabian Peninsular*, Dublin, Consultant's report to the Food and Agriculture Organisation of the United Nations, Rome, pp98.

Brandner, S., Isenmann, S., Raeber, A., Fischer, M., Sailer, A., Kobayashi, Y., Bratberg, B., Benestad, S.L., Sarradin, P. ve Tranulis, M.A. (2003), “An Unusual Form of Scrapie, Nor98. In: *Proceedings of a Conference on Methods for Control of Scrapie*”, (Abstract 14).

Brown, D.R., Qin, K., Herms, J.W., Madlung, A., Manson, J., Strome, R., Fraser, P.E., Kruck, T., Bohlen, A., Schulz-Schaeffer, W., Giese, A., Westaway, D. ve Kretzschmar, H. (1997), “The Cellular Prion Protein Binds Copper *in Vivo*”, *Nature*, 390: 684-687.

Brown, D.R., Wong, B.S., Hafiz, F., Clive, C., Haswell, S.J. ve Jones, I.M. (1999), “Normal Prion Protein has an Activity Like that of Superoxide Dismutase”, *Biochemical Journal*, Volume 344, pp. 1–5.

Bruce, M.E., McConnell, I., Fraser, H. ve Dickinson, A.G. (1991), “The Disease Characteristics of Different Strains of Scrapie in Sinc Congenic Mouse Lines: Implications

for the Nature of the Agent and Host Control of Pathogenesis”, *Journal of General Virology*, 72, 595-603.

Bruce, M.E., Nonno, R., Foster, J., Goldmann, W., Di Bari, M., Esposito, E., Benestad, S. L., Hunter, N. ve Agrimi, U. (2007), “Nor98-like Sheep Scrapie in the United Kingdom in 1989”, *The Veterinary record*, 160: 665-6.

Budka, H., Gregori, L., Kovacs, G.G., Alexeeva, I. ve Rohwer, R.G. (2008), “Excretion of Transmissible Spongiform Encephalopathy Infectivity in Urine”, *Emerging Infectious Diseases*, 14: 1406–1412.

Buschmann, A., Luhken, G., Schultz, J., Erhardt, G. ve Groschup, M.H. (2004), “Neuronal Accumulation of Abnormal Prion Protein in Sheep Carrying a Scrapie-Resistant Genotype (*PrPARR/ARR*)”, *Journal of General Virology*, 85: 2727–33.

Campana, V., Sarnataro, D. ve Zurzolo, C. (2005), “The Highways and Byways of Prion Protein Trafficking”, *Trends in Cell Biology*, Volume 15, Issue 2, pp. 102-111

Cashman, N.R. ve Dodelet, V.C. (1998), “Prion Protein Expression in Human Leukocyte Differentiation”, *Blood*, Volume 91, No. 5, pp. 1556-1561

Castilla, J., Saá, P., Hetz, C. ve Soto, C. (2005), “*In Vitro* Generation of Infectious Scrapie Prions”, *Cell*, 10.1016.

Chandler, R.L. (1961), “Encephalopathy in Mice Produced by Inoculation with Scrapie Brain Material”, *Lancet*, 7191:1378-9.

Chazot, G., Broussolle, E., Lapras, C. I., Blättler, T., Aguzzi, A. ve Kopp, N. (1996), “New Variant of Creutzfeldt-Jakob Disease in a 26-year-old French Man.”, *Lancet*, 347, 1181.

Chen, L., Yang, Y., Han, J., Zhang, B.Y., Zhao, L., Nie, K., Wang, X.F., Li, F., Gao, C., Dong, X.P. ve Xu, C.M. (2007), “Removal of the Glycosylation of Prion Protein Provokes Apoptosis in SF126”, *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, Volume 40, No. 5, pp. 662-669.

Cloucard, C., Beaudry, P., Elsen, J.M., Milan, D., Dussaucy, M., Bounneau, C., Schelcher, F., Chatelain, J., Launay, M. ve Laplanche, J.L. (1995), “Different Allelic Effects of the Codons 136 and 171 of the Prion Protein Gene in Sheep with Natural Scrapie”, *Journal of General Virology*, 76: 2097-2101.

Collinge, J. ve Palmer, M.S. (1991), “CJD Discrepancy”, *Nature*, 353, 802.

Collinge, J., Palmer, M.S., Sidle, K.C.L., Gowland, I., Medori, R. Ironside, J. ve Lantos, P.L. (1995), “Transmission of Fatal Familial Insomnia to Laboratory Animals”, *Lancet*, 346: 569–570.

Collinge, J. ve Rossor, M. (1996), “A New Variant of Prion Disease”, *Lancet*, 347: 916–917.

Collinge, J. (1996),” New Diagnostic Tests for Prion Diseases”, *New England Journal of Medicine*, 335: 963-5.

Collinge, J., Beck, J., Campbell, T., Estibeiro, K. ve Will, R.G. (1996a),” Prion Protein Gene Analysis in New Variant Cases of Creutzfeldt-Jakob Disease”, *Lancet*, Volume 348, Issue 9019, p. 56.

Collinge, J., Sidle, K.C.L., Meads, J., Ironside, J. ve Hill, A.F. (1996b), “Molecular Analysis of Prion Strain Variation and the Aetiology of 'New Variant' CJD”, *Nature*, 383: 685 – 690.

Collinge, J. (2001), “Prion Diseases of Humans and Animals: Their Causes and Molecular Basis”, *Annual Review of Neuroscience*, 24: 519–550.

Cook, W., (2007), Nor98-like Strain of Scrapie Found in Wyoming (WEB site), (Press Release, Wyoming Livestock Board).

Croes, E.A., Alizadeh, B.Z., Bertoli-Avella, A.M., Rademaker, T., Vergeer-Drop, J., Dermaut, B., Houwing-Duistermaat, J.J., Wientjens, D.P.W.M., Hofman, A., van Broeckhoven, C. ve van Duijn, C.M. (2004), “Polymorphisms in the Prion Protein Gene and in the Doppel Gene Increase Susceptibility for Creutzfeldt–Jakob Disease”, *European Journal of Human Genetics*, 12: 389–394.

Cuillé, J.ve Chelle, P.L. (1936), “ La Maladie Dite Tremblante du Mouton est-elle Inocuable?”, Comptes Rendus de l'Académie des sciences, 203: 1552–1554.

DeArmond, S.J., McKinley, M.P., Barry, R.A., Braunfeld, M.B., McColloch, J.R. ve Prusiner, S.B. (1985), “Identification of *Prion* Amyloid Filaments in Scrapie-infected Brain”, Cell, 4: 221-235.

De Bosschere, H., Roels, S., Benestad, S.L. ve Vanopdenbosch, E. (2004), “Scrapie Case Similar to Nor98 Diagnosed in Belgium via Active Surveillance”, Veterinary Record, 155: 707-708.

Detwiler, L. A. ve Baylis, M. (2003), “The Epidemiology of Scrapie”, Rev Sci Tech, 22: 121–143.

Díaz-San Segundo, F., Castilla, J., Brun, A., Salguero, F.J., Gutiérrez-Adán, A., Pintado, B., Ramírez, M.A., del Riego, L.ve Torres, J.M. (2005), “Vertical Transmission of Bovine Spongiform Encephalopathy Prions Evaluated in a Transgenic Mouse Model”, Journal of Virology, Volume 79, No. 13, pp. 8665-8668.

Dickinson, A.G., Stamp, J.T.ve Renwick, C.C. (1974), “Maternal and Lateral Transmission of Scrapie in Sheep”, Journal of Comparative Pathology, 84: 19–25.

Diener, T.O., McKinley, M.P. ve Prusiner, S.B. (1982), “Viroids and Prions”, PNAS, Volume 79, No. 17, 5220-5224.

Doherr, M.G., Oesch, B., Moser, M., Vandeveld, M. ve Heim, D. (1999), “Targeted Surveillance for Bovine Spongiform Encephalopathy”, Veterinary Record, 145, 672.

Doherr, M.G., Heim, D., Fatzer, R., Cohen, C.H., Vandeveld, M. ve Zurbriggen, A. (2001), “Targeted Screening of High-Risk Cattle Populations for BSE to Augment Mandatory Reporting of Clinical Suspects”, Preventive Veterinary Medicine, 51: 3–16.

Drögemüller, C., Leeb, T. ve Distl, O. (2001), “Breeding for Resistance to Scrapie: Detection of Polymorphisms in the Prion Protein Gene in German Sheep Breeds”, Archiv für Tierzucht, Volume 44, NS2, pp. 280-287.

Drögemüller, C., De Vries, F., Hamann Drscagr, H., Leeb Drrernat, T. ve Distl, O. (2004), “Breeding German Sheep for Resistance to Scrapie”, *The Veterinary Record*, Volume 154, Issue 9, 257-260.

Dormont, d. (2002), “Prions, BSE and Food”, *International Journal of Food Microbiology*, 78: 181– 189.

Eghiaian, F., Grosclaude, J., Lesceu, S., Debe, P., Doublet, B., Tréguer, E., Rezaei, H. ve Knossow, M. (2004), “Insight into the $\text{PrP}^{\text{C}} \rightarrow \text{PrP}^{\text{Sc}}$ Conversion from the Structures of Antibody-bound Ovine Prion Scrapie-Susceptibility Variants”, *PNAS*, Volume 101, No. 28, 10254-10259.

Ekateriniadou, L.V., Panagiotidis, C.H., Terzis, A., Ploumi, K., Triantafyllidis, A., Deligiannidis, P., Triantaphyllidis, C. ve Sklaviadis, T. (2007), “Genotyping for *PrP* Gene Polymorphisms in Rare Greek Breeds of Sheep”, *Veterinary Record*, 160: 164–195.

Elsen, J.M., Amigues, Y., Schelcher, F., Ducrocq, V., Andreoletti, O., Eychenne, F., Khang, J.V., Poivey, J.P., Lantier, F. ve Laplanche, J.L. (1999), “Genetic Susceptibility and Transmission Factors in Scrapie: Detailed Analysis of an Epidemic in a Closed Flock of Romanov”, *Archives of Virology*, 144: 431–445.

Endo, T., Groth, D., Prusiner, S.B. ve Kobata, A. (1989), “Diversity of Oligosaccharide Structures Linked to Asparagines of the Scrapie Prion Protein”, *Biochemistry*, pp 8380–8388.

ERGO/FAO (2001), *Livestock Geography: New Perspectives on Global Resources*: Environmental Research Group Oxford Limited for the Animal Production and Health Division of the Food and Agriculture Organisation of the United Nations, Rome.

Ersdal, C., Ulvund, M.J., Benestad, S.L. ve Tranulis, M.A. (2003), “Accumulation of Pathogenic Prion Protein (PrP^{Sc}) in Nervous and Lymphoid Tissues of Sheep with Subclinical Scrapie”, *Veterinary Pathology*, 40: 164–174.

European Commission (EC) (2003), “Report on the Monitoring and Testing of Ruminants for the Presence of Transmissible Spongiform Encephalopathy (TSE) in 2002”, Available from http://europa.eu.int/comm/food/food/biosafety/bse/annual_report_2002_en.pdf.

European Commission (EC) (2004), “Report on the Monitoring and Testing of Ruminants for the Presence of Transmissible Spongiform Encephalopathy (TSE) in The EU in 2003, Including the Results of the Survey of Prion Protein Genotypes in Sheep Breeds”, Available from http://europa.eu.int/comm/food/food/biosafety/bse/annual_report_tse2003_en.pdf.

Everest, S.J., Thorne, L., Barnicle, D.A., Edwards, J.C., Elliott, H., Jackman, R. ve Hope, J. (2006), “Atypical Prion Protein in Sheep Brain Collected during the British Scrapie-Surveillance Programme”, *Journal of General Virology*, 87: 471-477.

Foster, J.D., Parnham, D., Chong, A., Goldmann, W. ve Hunter, N. (2001), “Clinical Signs, Histopathology and Genetics of Experimental Transmission of BSE and Natural Scrapie to Sheep and Goats”, *Veterinary Record*, 148: 165–171.

Fraser, H. (1976), “The Pathology of a Natural and Experimental Scrapie”, *Front Biol*, 44: 267–305.

Gabizon, R., Rosenmann, H., Meiner, Z., Kahana, I., Kahana, E., Shugart, Y., Ott, J. ve Prusiner, S.B. (1993), “Mutation and Polymorphism of the Prion Protein Gene in Libyan Jews with Creutzfeldt-Jakob Disease (CJD)”, *American Journal of Human Genetics*, 53: 828–835.

Gabizon, R., Rosenman, H., Meiner, Z., Kahana, I., Kahana, E., Shugart, Y., Ott, J. ve Prusiner, S.B. (1994), “Mutation in Codon 200 and Polymorphism in Codon 129 of the Prion Protein Gene in Libyan Jews with Creutzfeldt-Jakob Disease”, *Philosophical Transactions: Biological Sciences*, Volume 343, Issue 1306, pp. 385-390.

Gajdusek, D.C., Gibbs, C.J.J. ve Alpers, M.P. (1966), “Experimental Transmission of a Kuru-Like Syndrome to Chimpanzees”, *Nature*, 209: 794–796.

Gajdusek, D.C. (1977), “Unconventional Viruses and the Origin and Disappearance of Kuru”, *Science*, 197: 943-60.

Gajdusek, D.C. (1993), “Genetic Control of Nucleation and Polymerization of Host Precursors to Infectious Amyloids in the Transmissible Amyloidoses of Brain”, *British Medical Bulletin*, 49: 913–931.

Gama, L.T., Carolino, M.I., Santos-Silva, M.F., Pimanta, J.A. ve Costa, M.S. (2006), “Prion Protein Genetic Polymorphisms and Breeding Strategies in Portuguese Breeds of Sheep”, *Livestock Science*, 99: 175-184.

Geldermann, H., Preuss, S., Eckert, J., Han, Y. ve Ollesch, K. (2003), “Analysis of Polymorphic Microsatellites within the Bovine and Ovine Prion Protein (PRNP) Genes”, *Animal Genetics*, 34: 283–289.

Gavier-Widén, D., Nöremark, M., Benestad, S.L., Simmons, M., Renström, L., Bratberg, B., Elvander, M. ve Segerstad, C.H. (2004), “Recognition of the Nor98 Variant of Scrapie in the Swedish Sheep Population”, *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 16: 562-7.

Gertsman, J. (1928), “Über ein Noch Nicht Beschriebenes Reflexphanomen bei Einer Erkrankung des Zerebellaren Systems”, *Wein Med. Wochenschr.*, 78: 906- 908.

Gibbs, C.J.J., Gajdusek, .D.C., Asher, D.M., Alpers, M.P., Beck, E., Daniel, P.M. ve Matthews, W.B. (1968), “Creutzfeldt-Jakob Disease (Spongiform Encephalopathy): Transmission to the Chimpanzee”, *Science*, Volume 161, No. 3839, pp. 388-389.

Gibbs, C.J.J., Gajdusek, D.C., Asher, D.M., Alpers, M.P., Beck, E., Daniel, P.M., Goldman, W., Hunter, N., Benson, G., Foster, J.D. ve Hope, J. (1991), “Different Scrapie-Associated Fibril Proteins (*PrP*) are Encoded by Lines of Sheep Selected for Different Alleles of the *Sip* Gene”, *Journal of General Virology*, 72: 2411–2417.

Gibbs, C.J.J. (1996), *Bovine Spongiform Encephalopathy: The BSE Dilemma*, Springer-Verlag Telos. USA.

Goldfarb, L.G., Petersen, R.B., Tabaton, M., Brown, P., LeBlanc, A.C., Montagna, P., Cortelli, P., Julien, J., Vital, C., Pendelbury, W.W., Haltia, M., Wills, P.R., Hauw, J.J. (1992), “Fatal Familial Insomnia and Familial Creutzfeldt-Jakob Disease: Disease Phenotype Determined by a DNA Polymorphism”, *Science*, Volume 258, Issue 5083, 806-808.

Goldmann, W., Hunter, N., Foster, J. D., Salbaum, J. M., Beyreuther, K. ve Hope, J. (1990), “Two Alleles of a Neural Protein Gene Linked to Scrapie in Sheep”, *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 87: 2476–2480.

Goldmann, W., Hunter, Smith, S., Foster, J. ve Hope, J. (1994), “*PrP* Genotype and Agent Effects in Scrapie: Change In Allelic Interaction With Different Isolates of Agent in Sheep, a Natural Host of Scrapie”, *Journal of General Virology*, 75: 989-995

Goldmann, W., Martin, T., Foster, J., Hughes, S., Smith, G., Hughes, K., Dawson, M. ve Hunter, N. (1996), “Novel Polymorphisms in the Caprine *PrP* Gene: a Codon 142 Mutation Associated with Scrapie Incubation Period”, *Journal of General Virology*, 77: 2885–2891.

Goldmann, W., O’Neill, G., Cheung, F., Charleson, F., Ford, P. ve Hunter, N. (1999), “*PrP* (Prion) Gene Expression in Sheep May be Modulated by Alternative Polyadenylation of Its Messenger RNA”, *Journal of General Virology*, 80: 2275–2283.

Gombojav, A., Ishiguro, N., Horiuchi, M., Serjmyadag, D., Byambaa, B. ve Shinagawa, M. (2003), “Amino Acid Polymorphisms of *PrP* Gene in Mongolian Sheep”, *Journal of Veterinary Medical Science*, 65: 75-81.

Gönülalp, İ. (2008), Türkiye’deki Melez Koyun Irklarında Prion Geni Analizi, Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi, İstanbul.

Gravenor, M.B. ve Kao, R.R. (2003), “Risk Assessments on BSE”, *Veterinary Record*, 152: 816.

Groschup, M.H., Lacroux, C., Buschmann, A., Lühken, G., Mathey, J., Eiden, M., Lugan, S., Hoffmann, C., Espinosa, J.C., Baron, T., Torres, J.M., Erhardt, G. ve Andreoletti, O. (2007), “Classic Scrapie in Sheep with the ARR/ARR Prion Genotype in Germany and France”, *Emerging Infectious Diseases*, Volume 13, No. 8.

Hagenaars, T.J., Donnelly, C.A., Ferguson, N.M. ve Anderson, R.M. (2003), “Dynamics of a Scrapie Outbreak in a Flock of Romanov Sheep – Estimation of Transmission Parameters”, *Epidemiology and Infection*, 131: 1015–1022

Harding, B.N., Egger, J., Portmann, B. ve Erdohazi, M. (1986), “Progressive Neuronal Degeneration of Childhood with Liver Disease”, *Brain*, Volume 109, No. 1, 181-206.

Harding, B.N., Alsanjari, N., Smith, S.J., Wiles, C.M., Thrush, D., Miller, T.D. ve Scaravilli, H. (1995), "Progressive Neuronal Degeneration of Childhood with Liver Disease (Alpers' Disease) Presenting in Young Adults", *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 58: 320-325.

Harris, D.A. (1999), "Cellular Biology of Prion Diseases", *Clinical Microbiology Reviews*, 12: 429-444.

Heaton, M.P., Leymaster, K.A., Freking, B.A., Hawk, D.A., Smith, T.P., Keele, J.W., Snelling, W.M., Fox, J.M., Chitko-McKown, C.G. ve Laegreid, W.W. (2003), "Prion Gene Sequence Variation within Diverse Groups of U.S. Sheep, Beef Cattle, and Deer", *Mamm Genome*. 14:765-777.

Heim, D. ve Mumford, E. (2005), "The Future of BSE From the Global Perspective", *Meat Science*, 70: 555-562.

Hiendleder, S., Mainz, K., Plante, Y. ve Lewalski, H. (1998), "Analysis of Mitochondrial DNA Indicates That Domestic Sheep Are Derived From Two Different Ancestral Maternal Sources: No Evidence for Contributions From Urial and Argali Sheep", *Journal of Heredity*, 89: 113.

Holt, T.A. ve Phillips, J. (1988), "Bovine Spongiform Encephalopathy", *British Medical Journal*, 296:1581-2.

Hope, J., Goldmann, W., Hunter, N., Foster, J.D., Salbaum, J.M. ve Beyreuther, K. (1990), "Two Alleles of a Neural Protein Gene Linked to Scrapie in Sheep", *PNAS, USA*, 87: 2476-2480.

Hopp, P., Webb, C.R. ve Jarp, J. (2003), "Monte Carlo Simulation of Surveillance Strategies for Scrapie in Norwegian Sheep", *Preventive Veterinary Medicine*, 61: 103-125.

Hopp, P., Omer, M.K. ve Heier, B.T. (2006), "A Case-Control Study of Scrapie Nor98 in Norwegian Sheep Flocks", *Journal of General Virology*, 87: 3729-3736.

Hornshaw, M.P., Mcdermott, J.R., Candy, J.M. ve Lakey, J.H. (1995), "Copper Binding to the N-Terminal Tandem Repeat Region of Mammalian and Avian Prion Protein: Structural

Studies Using Synthetic Peptides”, Biochemical and Biophysical Research Communications, Volume 214, Issue 3, pp. 993-999.

Hsiao, K., Meiner, Z., Kahana, E., Cass, C., Kahana, I., Avrahami, D., Scarlato, G., Abramsky, O., Prusiner, S.B. ve Gabizon, R. (1991), “Mutation of the Prion Protein in Libyan Jews with Creutzfeldt-Jakob Disease”, NEJM, Volume 324, 1091-1097.

Hu, W., Kieseier, B., Frohman, E., Eagar, T.N., Rosenberg, R.N., Hartung, H.P. ve Stüve, O. (2008), “Prion Proteins: Physiological Functions and Role in Neurological Disorders”, Journal of the Neurological Sciences, 264:1-8.

Humeny, A., Schiebel, K., Seeber, S. ve Becker, C.M. (2002), “Identification of Polymorphisms within the Bovine Prion Protein Gene (Prnp) by DNA Sequencing and Genotyping by MALDI-TOF-MS”, Neurogenetics, 4:59–60.

Hunter, N., Goldmann, W., Smith, G. ve Hope, J. (1994), “The Association of Codon 136 *PrP* Gene Variant with the Occurrence of Natural Scrapie”, Archives of Virology, 137: 171–177.

Hunter, N. (1996), “Prion Protein (prnp) Genotypes and Natural Scrapie in Closed Flocks of Cheviot and Suffolk Sheep in Britain” In: Court L, Dodet B, editors. “Transmissible Subacute Spongiform Encephalopathies: Prion Diseases”, Paris: Elsevier. pp. 47–50.

Hunter, N. (1997), The Genetics of Sheep, ed. Ruvinsky, A., CAB International, Wallingford, U.K., pp. 225–240.

Hunter, N., Cairns, D., Foster, J., Smith, G., Goldman, W. ve Donnelly, K. (1997), “Is Scrapie a Genetic Disease? Evidence From Scrapie-Free Countries”, Nature, 386: 137.

Hunter, N., Moore, L., Hosie, B.D., Dingwall, W.S. ve Greig, A. (1999), “Association Between Natural Scrapie and *PrP* Genotype in a Flock of Suffolk Sheep in Scotland”, Veterinary Record, 140: 59–63.

Hunter, N. (2007), “Scrapie—Uncertainties, Biology and Molecular Approaches”, BBA, 1772: 619–628.

Ikedo, T., Horiuchi, M., Ishiguro, N., Muramatsu, Y., Kai-Uwe, G.D. ve Shinagawa, M. (1995), "Amino acid polymorphisms of *PrP* with reference to onset of scrapie in Suffolk and Corriedale sheep in Japan", *Journal of General Virology*, 76: 2577-2581

Ironside, J.W., Sutherland, K., Bell, J.E., McCardle, L., Barrie, C., Estebeiro, K., Zeidler, M. ve Will, R.G. (1996), "A New Variant of Creutzfeldt-Jakob Disease: Neuropathological and Clinical Features", *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 61: 523–30.

Ironside, J.W., Parchi, P., Zou, W., Wang, W., Brown, P., Capellari, S., Ghetti, B., Kopp, N., Schulz-Schaeffer, W.J., Kretzschmar, H.A., Head, M.W., Gambetti, P. ve Chen, S.G. (2000), "Genetic Influence on the Structural Variations of the Abnormal Prion Protein", *PNAS*, Volume 97, No. 18, 10168-10172.

Ironside, J.W., Bishop, M.T., Connolly, K., Hegazy, D., Lowrie, S., Le Grice, M., Ritchie, D.L., McCardle, L.M. ve Hilton, D.A. (2006), "Variant Creutzfeldt-Jakob Disease: Prion Protein Genotype Analysis of Positive Appendix Tissue Samples from a Retrospective Prevalence Study", *British Medical Journal*, 332:1186-1188.

Jasik, A. ve Reichert, M. (2006), "Application of Temperature-Gradient Gel Electrophoresis for Detection of Prion Protein Gene Polymorphisms in Polish Swiniarka Sheep", *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 18: 270-274.

Jeffrey, M., Gonzalez, L., Chong, A., Foster, J., Goldmann, W., Hunter, N. ve Martin, S. (2006), "Ovine Infection with the Agents of Scrapie (CH1641 Isolate) and Bovine Spongiform Encephalopathy: Immunochemical Similarities can be Resolved by Immunohistochemistry", *Journal of Comparative Pathology*, 134: 17–29.

Kahana, E., Wilber, N., Brahma, J. ve Sofa, D. (1974), "Creutzfeldt-Jakob Disease: Focus among Libyan Jews in Israel", *Science*, Volume 183, pp. 90-91.

Kimberlin, R.H., Cole, S. ve Walker, C.A. (1987), "Temporary and Permanent Modifications to a Single Strain of Mouse Scrapie on Transmission to Rats and Hamsters", *Journal of General Virology*, 68: 1875-81.

Kipanyula, M.J., Chuma, I.S., Brundtland, E., Bårdsen, K. ve Ulvund, M.J. (2008), “Genotyping of the Prion Protein (*PrP*) Gene in Red Maasai and Black Head Persian Sheep in Tanzania”, *Small Ruminant Research*, 10:1016.

Klatzo, I., Gajdusek, D.C. ve Zigas, V. (1959), “Pathology of Kuru”, *Laboratory Investigation*, 8: 799–847.

Konold, T., Davis, A., Bone, G., Bracegirdle, J., Everitt, S., Chaplin, M., Saunders, G.C., Cawthraw, S. ve Simmons, M.M. (2007), “Clinical Findings in Two Cases of Atypical Scrapie in Sheep: a Case Report”, *BMC Veterinary Research*, 3:2.

Konold, T., Moore, S., Bellworthy, S. ve Simmons, H. (2008), “Evidence of Scrapie Transmission via Milk”, *BMC Veterinary Research*, 4:16.

Korczyn, A.D. (1991), “Creutzfeldt-Jakob Disease among Libyan Jews”, *European Journal of Epidemiology*, Volume 7, No. 5, pp. 490-493.

Kretschmar, H.A., Herms, J.W., Titz, S. ve Keller, B.U. (1995), “Patch-clamp Analysis of Synaptic Transmission to Cerebellar Purkinje Cells of Prion Protein Knockout Mice”, *European Journal of Neuroscience*, 7: 2508-12.

Lan, Z., Wang, Z.L., Liu, Y. ve Zhang, X. (2006), “Prion Protein Gene (PRNP) Polymorphisms in Xinjiang Local Sheep Breeds in China”, *Archives of Virology*, Volume 151, No. 10, 2095-2101.

Le Dur, A., Beringue, V., Andréoletti, O., Reine, F., Lai, T.L., Baron, T., Bratberg, B., Vilotte, J.L., Sarradin, P., Benestad, S.L. ve Laude, H., (2005), “A Newly Identified Type of Scrapie Agent Can Naturally Infect Sheep with Resistant *PrP* Genotypes”, *PNAS, USA*, 102: 16031–16036.

Lee, I.Y., Westaway, D., Smit, F.S.A., Wang, K., Seto, J., Chen, L., Acharya, C., Ankener, M., Baskin, D., Cooper, C., Yao, H., Prusiner, S.B. ve Hood, L.E. (1998) “Complete Genomic Sequence and Analysis of the Prion Protein Gene Region from Three Mammalian Species”, *Genome Research*, 8: 1022-1037

Lee, H.S., Brown, P., Cervena'kova', L., Garruto, R.M., Alpers, M. P., Gajdusek, D.C. ve Goldfarb, L.G. (2001), "Increased Susceptibility to Kuru of Carriers of the PRNP 129 Methionine/Methionine Genotype", *Journal of Infectious Diseases*, 183.

Legarra, A., Ugarte, E. ve Beltra'N De Heredia, I. (2004), Ana'lisis de Asociacio'n entre Genotipos de *PrP* y Produccio'n de Leche en la Raza Latxa, Proc. XII Reunio'n Nacional de Mejora Gene'tica Animal, Las Palmas, Spain.

Lipsky, S., Brandt, H., Lühken, G. ve Erhardt, G. (2008), "Analysis of Prion Protein Genotypes in Relation to Reproduction Traits in Local and Cosmopolitan German Sheep Breeds", *Animal Reproduction Science*, 103: 69-77.

Lühken, G., Buschmann, A., Brandt, H., Eiden, M., Groschup, M.H. ve Erhardt, G. (2007), "Epidemiological and Genetical Differences between Classical and Atypical Scrapie Cases", *Veterinary Research*, 38: 65-80.

Lühken, G., Lipsky, S., Peter, C. ve Erhart, G. (2008), "Prion Protein Polymorphisms in Autochthonous European Sheep Breeds in Respect to Scrapie Eradiction in Affected Flocks", *Small Ruminant Research*, 75: 43-47.

Mackenzie, A. (1983), "Immunohistochemical Demonstration of Glial Fibrillary Acidic Protein in Scrapie", *Journal of Comparative Pathology*, 93: 251-259

Maglio, L.E., Perez, M.F., Martins, V.R., Brentani, R.R. ve Ramirez, O.A. (2004), "Hippocampal Synaptic Plasticity in Mice Devoid of Cellular Prion Protein", *Molecular Brain Research*, Volume 131, Issues 1-2, pp. 58-64.

Manetto, V., Medori, R., Cortelli, P., Montaga, P., Tinuper, P., Baruzzi, A., Rancurel, G., Hauw, J.J., Vanderhaeghen, J., Maillieux, P., Bugiani, O., Tagliavini, F., Bouras, C., Ruzzuuto, N., Lugaresi, E. ve Gambetti, P. (1992), "Fatal Familial Insomnia: Clinical and Pathological Study of Five New Cases", *Neurology*, 42: 312-319.

Manuelidis, L. (2007), "A 25 nm Virion is the Likely Cause of Transmissible Spongiform Encephalopathies", *Journal of Cellular Biochemistry*, 100: 897-915.

Marino, S., Weissmann, C. ve Aguzzi, A. (1996), “Normal Host Prion Protein Necessary for Scrapie-Induced Neurotoxicity”, *Nature*, 379: 339–343.

Marsh, R.F. ve Kimberlin, R.H. (1975), “Comparison of Scrapie and Transmissible Mink Encephalopathy in Hamsters. I. Biochemical Studies of Brain during Development of Disease”, *The Journal of Infectious Diseases*, Volume 131, No. 2, pp. 97-103.

Mastrangelo, P. ve Westaway, D. (2001), “The Prion Gene Complex Encoding PrPC and Doppel: Insights from Mutational Analysis”, *Gene*, Volume 275, Issue 1, pp. 1-18.

Masters, C.L., Gajdusek, D.C. ve Gibbs, C.J.J. (1981), “Creutzfeldt–Jakob Disease Virus Isolations from the Gerstmann-Sträussler Syndrome with an Analysis of the Various Forms of Amyloid Plaque Deposition in the Virus-Induced Spongiform Encephalopathies”, *Brain*, 104, 559–588.

Mastrianni, J., Telling, G.C., Parchi, P., DeArmond, S.J., Cortelli, P., Montagna, P., Gabizon, R., Lugaresi, E., Gambetti, P. ve Prusiner, S.B. (1996), “Evidence for the Conformation of the Pathologic Isoform of the Prion Protein Enciphering and Propagating Prion Diversity”, *Science*, Volume 274, No. 5295, pp. 2079 – 2082.

McGowan, J.P. (1922), “Scrapie in Sheep”, *Scott. J. Agric*, 5: 365–375.

McKinley, M.P., Prusiner, S.B., Bowman, K.A., Bolton, D.C., Bendheim, P.E., Groth, D.F. ve Glenner, G.G. (1983), “Scrapie prions aggregate to Form Amyloid-like Birefringent Rods,” *Cell*, 35: 349-58.

McKintosh, E., Tabrizi, S.J. ve Collinge, J. (2003), “Prion Diseases”, *Journal of NeuroVirology*, 9: 183–193.

Mead, S., Beck, J., Dickinson, A., Fisher, E.M.C. ve Collinge, J. (2000), “Examination of the Human Prion Protein-Like Gene Doppel for Genetic Susceptibility to Sporadic and Variant Creutzfeldt–Jakob Disease”, *Neuroscience Letters*, Volume 290, Issue 2, pp. 117-120.

Meadows, J.R.S., Cemal, I., Karaca, O., Gootwine, E. ve Kijas, J.W. (2007), “Five Ovine Mitochondrial Lineages Identified From Sheep Breeds of the Near East”, *Genetics*, Volume 175, 1371-1379.

Medori, R., Montagna, P., Tritschler, H.J., LeBlanc, A., Cortelli, P., Tinuper, P., Lugaresi, E., ve Gambetti, P. (1992), “Fatal Familial Insomnia: a Second Kindred with Mutation of Prion Protein Gene at Codon 178”, *Neurology*, 42: 669-670.

Miller, M.W., Wild, M.A.ve Williams, E.S. (1998), “Epidemiology of Chronic Wasting Disease in Captive Rocky Mountain Elk”, *Journal of Wildlife Diseases*, 34:3, pp. 532-538

Meyer, R.K., McKinley, M.P, Bowman, K.A., Braunfeld, M.B., Barry, R.A. ve Prusiner, S.B. (1986), “Separation and Properties of Cellular and Scrapie Prion Proteins”, *PNAS*, Volume 83, No.8, pp. 2310-2314.

Moore, R.C., Lee, I.Y., Silverman, G.L., Harrison, P.M., Strome, R., Heinrich, C., Karunaratne, A., Pasternak, S.H., Chishti, M.A., Liang, Y., Mastrangelo, P., Wang, K., Smit, A.F.A., Katamine, S., Carlson, G.A., Cohen, F.E., Prusiner, S.B., Melton, D.W., Tremblay, P., Hood, L.E. ve Westaway, D. (1999), “Ataxia in Prion Protein (*PrP*)-deficient Mice is Associated with Upregulation of the Novel *PrP*-like Protein Doppel”, *Journal of Molecular Biology*, Volume 292, Issue 4, pp. 797-817.

Moore, R. C., Mastrangelo, P., Bouzamondo, E., Heinrich, C., Legname, G., Prusiner, S. B., Hood, L., Westaway, D., DeArmond, S. J. ve Tremblay, P. (2001), “Doppel-Induced Cerebellar Degeneration in Transgenic Mice”, *PNAS*, USA, 98: 15288–15293.

Moum, T., Olsaker, I., Hopp, P., Moldal, T., Valheim, M., Moum, T. ve Benestad, S.L. (2005), “Polymorphisms at Codons 141 and 154 in the Ovine Prion Protein Gene are Associated with Scrapie Nor98 Cases”, *Journal of General Virology*, 86: 231–235.

Neibergs, H.L., Ryan, A.M.,Womack, J.E.,Spooner, R.L. ve Williams, J.L. (1994), “Polymorphism Analysis of the Prion Gene in BSE-affected and Unaffected Cattle”, *Animal Genetics*, 25: 313–317.

Moynagh, J. ve Schimmel, H. (1999), “Tests for BSE Evaluated”, *Nature*, 400: 105.

O'Doherty, E., Aherne, M., Ennis, S., Weavers, E., Hunter, N., Roche, J.F. ve Sweeney, T. (2000), “Detection of Polymorphisms in the Prion Protein Gene in a Population of Irish Suffolk Sheep”, *Veterinary Record*, 146: 335-8.

O'Doherty, E., Healy, A., Aherne, M., Hanrahan, J.P., Weavers, E., Doherty, M., Roche, J.F., Gunn, M. ve Sweeney, T. (2002), "Prion Protein (*PrP*) Gene Polymorphisms Associated with Natural Scrapie Cases and Their Flock-Mates in Ireland", *Research in Veterinary Science*, 73:243-50.

O'Doherty, E., Aherne, M., Ennis, S., Weavers, E., Roche, J.F. ve Sweeney, T. (2004), "Prion Protein Gene Polymorphisms in Pedigree Sheep in Ireland", *Research in Veterinary Science*, 70: 51–56.

Onnasch, H., Gunn, H.M., Bradshaw, B.J., Benestad, S.L. ve Bassett, H.F. (2004), "Two Irish Cases of Scrapie Resembling Nor98", *Veterinary Record*, 155:636-637.

Orge, L., Galo, A., Sepulveda, N., Simas, J.P. ve Pires, M. (2003), "Scrapie Genetic Susceptibility in Portuguese Sheep Breeds", *Veterinary Record*, 153, 508.

Orge, L., Galo, A., Machado, C., Lima, C., Ochoa, C., Silva, J., Ramos, M. ve Simas, J.P. (2004), "Identification of Putative Atypical Scrapie in sheep in Portugal", *Journal of General Virology*, 85 : 3487-3491.

Palhière, I., François, D., Elsen, J., Barillet, M., Amigues, F., Perret, Y. ve Bouix, G.J. (2002), (Allele Frequencies of the *PrP* Gene in 29 French Sheep Breeds) *Proceedings of the Seventh World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Session 13*, pp. 13–16. Montpellier, France.

Palsson, P.A. (1979), (Rida (Scrapie) and Its Epidemiology) *Slow Transmissible Diseases of the Nervous System, Volume I*, Academic Press, N.Y., pp. 357-366.

Pan, K.M., Baldwin, M., Nguyen, J., Gasset, M., Serban, A., Groth, D., Mehlhorn, I., Huang, Z., Fletterick, R.J. ve Cohen, F.E. (1993), "Conversion of Alpha-helices into Beta-sheets Features in the Formation of the Scrapie Prion Proteins", *PNAS*, Volume 90, No. 23, 10962-10966.

Papasavva-Stylianou, P., Kleanthous, M., Toumazos, P., Mavrikiou P. ve Loucaides, P. (2007), "Novel Polymorphisms at Codons 146 and 151 in the Prion Protein Gene of Cyprus

Goats, and Their Association with Natural Scrapie”, *Veterinary Journal*, Volume 173, Issue 2, pp. 459-462.

Parry, H.B. (1983), *Scrapie Disease in Sheep*, ed. Oppenheimer, D.R., Academic, New York, pp. 31–59.

Pongolini, S., Bergamini, F., Iori, A., Migliore, S., Corradi, A. ve Bassi, S. (2009), “Prion Protein Genotypes of Italian Sheep Breeds with Lysine-171 and Phenylalanine-141 Detection”, *Veterinary Microbiology*, 137:18-23.

Ponz, R., Tejedor, T., Laviña, A. ve Arruga, M.V. (2003), “Estudio de la Asociación de los Alelos del Gen *PrP* Con el Carácter Prolificidad en la Raza Rasa Aragonesa”

Premzl, M., Bozic, P. ve Gamulin, V. (2000), “PRNP Octarepeat Allele Genotype Frequencies among the Modern and Rare Cattle Breeds in Croatia”, *Animal Genetics*, 31: 408-409.

Prusiner, S.B. (1982). "Novel Proteinaceous Infectious Particles Cause Scrapie". *Science*, 216: 136–144.

Prusiner, S.B. (1991), “Molecular Biology of Prion Diseases”, *Science*, 252: 1515–1522.

Prusiner, S.B., Telling, G., Cohen, F.E. ve DeArmond, S.J. (1996), “Prion Diseases of Humans and Animals”, *Seminars in Virology*, 7: 150-173.

Prusiner, S.B. (1997), “Prion Diseases and the BSE Crisis”, *Science*, Volume 278, No. 5336, pp. 245 – 251.

Prusiner, S.B. (1998), “Prions”, *Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)*, USA, 95: 13363–13383.

Prusiner, S.B., Scott, M.R., DeArmond, S.J. ve Cohen, F.E.(1998), “Prion Protein Biology”, *Cell*, Volume 93, pp. 337–348.

Redman, C.A., Coen, P.G., Matthews, L., Lewis, R.M., Dingwall, W.S., Foster, J.D., Chase-Topping, M.E., Hunter, N. ve Woolhouse, M.E. (2002), “Comparative Epidemiology of Scrapie Outbreaks in Individual Sheep Flocks”, *Epidemiology and Infection*, 128: 513–52.

Ryder, S., Dexter, G., Bellworthy, S. ve Tongue, S. (2004), “Demonstration of Lateral Transmission of Scrapie between Sheep Kept under Natural Conditions Using Lymphoid Tissue Biopsy”, *Research in Veterinary Science*, 76: 211–217.

Sabuncu, E., Petit, S., Le Dur, A., Lan Lai, T., Vilotte, J.C., Laude, H. ve Vilette, D. (2003), “*PrP* Polymorphisms Tightly Control Sheep Prion Replication in Cultured Cells”, *Journal of Virology*, Volume 77, No. 4, pp. 2696-2700.

Sabuncu, E., Paquet, S., Chapuis, J., Moudjou, M., Lan Lai, T., Grassi, J., Baron, U., Laude, H. ve Vilette, D. (2005), “Prion Proteins from Susceptible and Resistant Sheep Exhibit Some Distinct Cell Biological Features”, *Biochemical and Biophysical Research Communications* 337: 791-798.

Safar, J., Roller, P.P., Gajdusek, D.C. ve Gibbs, C.J. (1993), “Conformational Transitions, Dissociation, and Unfolding of Scrapie Amyloid (Prion) Protein”, *Journal of Biological Chemistry*, 268: 20276-20284.

Safar, J., Wille, H., Itri, V., Groth, D., Serban, H., Torchia, M., Cohen, F.E. ve Prusiner, S.B. (1998), “Eight Prion Strains have PrP^{Sc} Molecules with Different Conformations”, *Nature Medicine*, 4: 1157 – 1165.

Sander, P., Hamann, H., Pfeiffer, I., Wemheuer, W., Brenig, B., Groschup, M.H., Ziegler, U., Distl, O. ve Leeb, T. (2004), “Analysis of Sequence Variability of the Bovine Prion Protein Gene (PRNP) in German Cattle Breeds”, *Springer*, Volume 5, 1364-6753.

Sarraet, M., (1883), “Un Cas de Temblant sur Boeuf “, *Revue Médicale Vétérinaire*, 7: 310-312.

Schneider, K., Fangerau, H., Michaelsen, B., ve H.-M. Raab, W. (2008), “The Early History of the Transmissible Spongiform Encephalopathies Exemplified by Scrapie”, *Brain Research Bulletin*, 77: 343–355.

Scott, M., Groth, D., Foster, D., Torchia, M., Cohen, F.E., Yang, S.L., DeArmond, S.L. ve Prusiner, S.B. (1993), "Propagation of Prions with Artificial Properties in Transgenic Mice Expressing Chimeric *PrP* Genes", CELL-CAMBRIDGE MA, Volume 73, Issue 5, pp. 979-988.

Shorter, J. ve Lindquist S. (2005), "Prions as Adaptive Conduits of Memory and Inheritance", Nature Reviews Genetics, 6: 435-50.

Silverman, G.L., Qin, K., Moore, R.C., Yang, Y., Mastrangelo, P., Tremblay, P., Prusiner, S.B., Cohen, F.E. ve Westaway, D. (2000), "Doppel is an N-Glycosylated, Glycosylphosphatidylinositol-Anchored Protein", Journal of Biological Chemistry, 275: 26834–26841.

Simmons, M.M., Konold, T., Simmons, H.A., Spencer, Y.I., Lockey, R., Spiropoulos, J., Everitt, S. ve Clifford, D. (2007), "Experimental Transmission of Atypical Scrapie to Sheep", BMC Veterinary Research, 3:20.

Sipos, W., Kraus, M., Schmoll, F., Achmann, R. ve Baumgartner, W. (2002), "*PrP* Genotyping of Austrian Sheep Breeds", J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med., 49: 415- 8.

Slate, J. (2005), "Molecular Evolution of the Sheep Prion Protein Gene", Proceedings of the Royal Society B, 272: 2371–2377.

Spyrou, V., Argyroudis, S., Vlemmas, I., Leontides, S., Sklaviadis, T. ve Papadopoulos, O. (2004), "Prion Protein Gene Polymorphisms in Healthy and Scrapie-Affected Sheep in Greece", Journal of General Virology, 85: 547–554.

Stahl, N., Borchelt, D.R., Hsiao, K. ve Prusiner, S.B. (1987), "Scrapie Prion Protein Contains a Phosphatidylinositol Glycolipid", Cell, Volume 51, No.2, pp. 229-240.

Stahl, N. ve Prusiner, S.B. (1991), "Prions and Prion Proteins", FASEB Journal, Volume 5, 2799-2807.

Stahl, N., Baldwin, M.A., Teplow, D.B., Hood, L., Gibson, B.W., Burlingame, A.L. ve Prusiner, S.B. (1993) , " Structural Studies of the Scrapie Prion Protein Using Mass Spectrometry and Amino Acid Sequencing", Biochemistry, pp. 1991–2002.

Steele, A.D., Emsley, J.G., Özdinler, P.H., Lindquist, S. ve Macklis, J.D. (2006), “Prion Protein PrP^{Sc} Positively Regulates Neural Precursor Proliferation During Developmental and Adult Mammalian Neurogenesis”, PNAS, Volume 103, No.9, pp. 3416-3421.

Stockman, S. (1913), “Scrapie: An Obscure Disease of Sheep”, Journal of Comparative Pathology, 26: 317-327.

Sugiura, K., Ito, K., Yokoyama, R., Kumagai, S. ve Onodera, T. (2003), “A Model to Assess the Risk of the Introduction into Japan of the Bovine Spongiform Encephalopathy Agent through Imported Animals, Meat and Meat-and-Bone Meal.”, Revue Scientifique et Technique, 22: 777–794.

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

Sylvie, L., Benestad, S.L., Arsac, J.N., Goldmann, W., ve Nöremark, M. (2008), “Atypical/Nor98 Scrapie: Properties of the Agent, Genetics, and Epidemiology”, Veterinary Research, 39: 19.

Tabrizi, S.J., Scaravilli, F., Howard, R.S., Collinge, J. ve Rossor, M.N. (1996), “Creutzfeldt-Jakob Disease in a Young Woman”, Lancet, 347:945-948.

Tateishi, J., Brown, P., Kitamoto, T., Hoque, Z.M., Roos, R., Wollman, R., Cervenakova, L., ve Gajdusek, D.C. (1995), “First Experimental Transmission of Fatal Familial Insomnia”, Nature, 376: 434-435.

Tavakolian, J. (2000), Genetic Resources of Native Farm Animals in İran, Animal Science Research Institute , Tehran, İran.

Telling, G.C., Scott, M., Hsiao, K.K., Foster, D., Yang, S.L., Torchia, M., Sidle, K.C.L., Collinge, J., Dearmond, S.J. ve Prusiner, S.B. (1994), “Transmission of Creutzfeldt–Jakob Disease from Humans to Transgenic Mice Expressing Chimeric Human-mouse Prion Protein”, PNAS, USA, 91: 9936–9940.

Telling, G., Scott, M., Mastrianni, J., Gabizon, R., Torchia, M., Cohen, F., DeArmond, S. ve Prusiner, S.B. (1995), "Prion Propagation in Mice Expressing Human and Chimeric *PrP* Transgenes Implicates the Interaction of Cellular *PrP* with Another Protein", *Cell*, 83: 93.

Thorgeirsdottir, S., Sigurdarson, S., Thorisson, H.M., Georgsson, G. ve Palsdottir, A. (1999), "*PrP* Gene Polymorphism and Natural Scrapie in Icelandic Sheep", *Journal of General Virology*, 80: 2527–2534.

Thorgeirsdottir, S., Georgsson, G., Reynisson, E., Sigurdarson, S. ve Palsdottir, A. (2002), "Search for Healthy Carriers of Scrapie: an Assessment of Subclinical Infection of Sheep in an Icelandic Scrapie Flock by Three Diagnostic Methods and Correlation with *PrP* Genotypes", *Archives of Virology*, 147: 709–722.

Tongue, S.C., Wilesmith, J.W. ve Cook, C.J. (2004), "Frequencies of Prion Protein (*PrP*) Genotypes and Distribution of Ages in 15 Scrapie-affected Flocks in Great Britain", *Veterinary Record*, Volume 154, Issue 1, pp. 9-16.

Tongue, S.C., Pfeiffer, D.U., Warner, R., Elliott, H. ve Del Rio Vilas, V. (2006), "Estimation of the Relative Risk of Developing Clinical Scrapie: the Role of Prion Protein (*PrP*) Genotype and Selection Bias", *Veterinary Record*, 158: 43–50.

Touzeau, S., Chase-Topping, M.E., Matthews, L., Lajous, D., Eychenne, F., Hunter, N., Foster, J.D., Simm, G., Elsen, J.M. ve Woolhouse, M.E. (2005), "Modelling the Spread of Scrapie in a Sheep Flock: Evidence for Increased Transmission during Lambing Seasons", *Archives of Virology*, 151: 735–751.

Tranulis, M.A., Osland, A., Bratberg, B. ve Ulvund, M.J. (1999), "Prion Protein Gene Polymorphisms in Sheep with Natural Scrapie and Healthy Controls in Norway", *Journal of General Virology*, 80: 1073–1077.

Tranulis, M.A. (2002), "Influence of the Prion Protein Gene, *Prnp*, on Scrapie Susceptibility in Sheep", *APMIS*, 110: 33–43.

Troy, C.S., MacHugh, D.E., Bailey, J.F., Magee, D.A., Loftus, R.T., Cunningham, P., Chamberlain, A.T., Sykes, B.C. ve Bradley, D.G. (2001), “Genetic Evidence for Near-Eastern Origins of European Cattle”, *Nature*, 410: 1088-1091

Ulvund, M.J. (2008), “Ovine Scrapie Disease: Do We Have to Live with It?”, *Small Ruminant Research* 76: 131–140.

Ün, C., Öztapak, K., Özdemir, N., Akış, I. ve Mengi, A. (2008), “Genotyping of *PrP* Gene in Native Turkish Sheep Breeds”, *Small Ruminant Research*, 74:260-264.

Vaccari, G., Petraroli, R., Agrimi, U., Eleni, C., Perfetti, M.G., Di Bari, M.A., Morelli, L., Ligios, C., Busani, L., Nonno, R. ve Di Guardo, G. (2001), “*PrP* Genotype in Sarda Breed Sheep and Its Relevance to Scrapie”, *Archives of Virology*, 146: 2029–2037.

Vaccari, G., D'Agostino, C., Nonno, R., Rosone, F., Conte, M., Di Bari, M.A., Chiappini, B., Esposito, E., De Grossi, L., F., Marcon, S., Morelli, L., Borroni, R. ve Agrimi, U. (2007), “Prion Protein Alleles Showing a Protective Effect on the Susceptibility of Sheep to Scrapie and Bovine Spongiform Encephalopathy”, *Journal of Virology*, Volume 81, No. 13, pp. 7306-7309.

Valleron, A. J., Boelle, P. Y., Will, R. & Cesbron, J. Y. (2001), “Estimation of Epidemic Size and Incubation Time Based on Age Characteristics of vCJD in the United Kingdom”, *Science* 294: 1726–1728.

van Everbroeck, B., Green, A.J.E., Vanmechelen, E., Vanderstichele, H., Pals, P., Sanchez-Valle, R., Cuadrado Corrales, N., Martin, J-J. ve Cras, P. (2002), “Phosphorylated Tau in Cerebrospinal Fluid as a Marker for Creutzfeldt–Jakob Disease”, *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 73: 79-81.

van Gelderen, C., Gimeno, E.J. ve Schudel, A.A. (2003), “Bovine Spongiform Encephalopathy in South America: a Regional Preventive Approach”, *Revue Scientifique et Technique*, 22: 227–236.

van Keulen, L.J., Schreuder, B.E., Vromans, M.E., Langeveld, J.P. ve Smits, M.A. (2000), “Pathogenesis of Natural Scrapie in Sheep”, *Archives of Virology*, 16: 57–71.

Walawski, K. ve Czarnik, U. (2003), “Prion Octapeptide-Repeat Polymorphism in Polish Black-and-White Cattle”, *Journal of Applied Genetics*, 44 pp. 191-195.

Waßmuth, R., Hiendleder, S., Mendel, C. ve Erhardt, G. (2001), “Bio-Chemische Polymorphismen und Haupt-mtDNA-Haplotypen bei Bergschafzuchten und Waldschafen als Beitrag zur Abstammung der Hausschafe (Biochemical Polymorphisms and Major mtDNA Haplotypes in Bergschaf Breeds and Waldschaf as Contribution to Descent of Domestic Sheep)”, *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 118: 327-340.

Weissmann, C. (1991), “A ‘Unified Theory’ of Prion Propagation”, *Nature*, 352: 679-683.

Weissmann, C. (1993), “Mice Devoid of *PrP* are Resistant to Scrapie”, *Cell*, 73: 1339–1347.

Wells, G.A., Scott, A.C., Johnson, C.T., Gunning, R.F, Hancock, R.D., Damson, M., Jeffrey, M. ve Bradley, R. (1987), “A Novel Progressive Spongiform Encephalopathy in Cattle”, *Veterinary Record*, 121: 419-420.

Westaway, D., Zuliani, V., Cooper, C.M., Cooper, C.M., Da Costa, M., Neuman, S., Jenny, A.L., Detwiler, L. ve Prusiner, S.B. (1994), “Homozygosity for Prion Protein Alleles Encoding Glutamine-171 Renders Sheep Susceptible to Natural Scrapie”, *Genes & Development*, 8: 959–969.

Wilesmith, J.W., Wells, G.A., Cranwell, M.P. ve Ryan, J.B. (1988), “Bovine Spongiform Encephalopathy: Epidemiological Studies”, *Veterinary Record*, 123: 638–644.

Wilesmith, J.W., Ryan, J.B. ve Atkinson, M.J. (1991), “Bovine Spongiform Encephalopathy: Epidemiological Studies on the Origin”, *Veterinary Record*, 128: 199–203.

Will, R.G., Ironside, J.W., Zeidler, M., Estibeiro, K., Cousens, S.N., Smith, P.G., Alperovitch, A., Poser, S., Pocchiari, M. ve Hofman, A. (1996), “A New Variant of Creutzfeldt-Jakob Disease in the UK”, *Lancet*, Volume 347, Issue 9006, pp. 921-925

Windl, O., Giese, A., Schulz-Schaeffer, W., Zerr, I., Skworc, K., Arendt, S., Oberdieck, S., Bodemer, M., Poser, S. ve Kretzschmar, H.A. (1999), “Molecular Genetics of Human Prion Diseases in Germany”, *Human Genetics*, 105 : 244–252.

Woolhouse, M. E.J., Stringer, S.M., Matthews, L., Hunter, N. ve Anderson, R.M. (1998), “Epidemiology and Control of Scrapie within a Sheep Flock”, *Proceedings of the Royal Society B*, 265: 1205–1210.

Woolhouse, M.E., Coen, P., Matthews, L., Foster, J.D., Elsen, J.M., Lewis, R.M., Haydon, D.T. ve Hunter, N. (2001), “A Centuries-Long Epidemic of Scrapie in British Sheep?” *Trends in Microbiology*, 9: 67–70.

Zhang, L., Li, N., Fan, B., Fang, M. ve Xu, W. (2004), “PRNP Polymorphisms in Chinese Ovine, Caprine and Bovine Breeds”, *Animal Genetics*, Volume 35, Issue 6, pp. 457 – 461.

Zhou, H., Hickford, J.G.H. ve Fang, Q., (2005), “Technical Note: Determination of Alleles of the Ovine PRNP Gene Using PCR–Single-Strand Conformational Polymorphism Analysis”, *Journal of Animal Science*, 83: 745–749.

Zlotnik, I. (1962), “The Pathology of Scrapie: a Comparative Study of Lesions in the Brain of Sheep and Goats”, *Acta Neuropathologica (Suppl. I)*, 6170.

Zlotnik, I. ve Rennie, J.C. (1965), “Experimental Transmission of Mouse Passaged Scrapie to Goats, Sheep, Rats and Hamsters”, *Journal of Comparative Pathology*, 75:147-57.

İNTERNET KAYNAKLARI

1. <http://ergodd.zoo.ox.ac.uk/eurasia/Eurasian%20Street%20Web/phylogenetics.htm>
2. <http://dad.fao.org/>
3. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs180/en/>
4. http://fsrio.nal.usda.gov/document_fsheets.php?product_id=169
5. <http://www.cjd.ed.ac.uk/vcjdworld.htm>
6. <http://www.forskning.no/artikler/2008/juni/186400>
7. <http://www.hassatarim.gov.tr/hayvan-yetistirciligi/88-turkiye-koyun-irklari.html>
8. <http://www.bseinfo.org/>
9. <http://www.cdc.gov/>
10. http://www.cyber-dyne.com/~tom/mad_cow_disease.html
11. <http://www.fao.org/>
12. <http://www.kkgm.gov.tr/>
13. <http://www.mad-cow.org/>
14. <http://www.sheep.cornell.edu/management/health/scrapiegenetics.htm>
15. <http://nqr.farmonline.com.au/news/nationalrural/livestock/sheep/live-sheep-shipshape/64508.aspx>

ÖZGEÇMİŞ

Doğum Tarihi	16.09.1982	
Doğum Yeri	Paris-Fransa	
Lise	1996-2000	İran Lisesi
Lisans	2001-2005	İstanbul Üniversitesi Biyoloji-Biyoteknoloji Bölümü
Yüksek Lisans	2007-2009	Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Moleküler Biyoloji ve Genetik Programı