



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



SIĞIR KARKASININ FARKLI KAS BÖLGELERİNİN ET KALİTESİ İLE İLİŞKİLİ ÖNEMLİ GEN İFADELERİ AÇISINDAN KARŞILAŞTIRILMASI

Mehmet Cevat TEMİZKAN

**GENETİK ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Alev Gürol BAYRAKTAROĞLU**

**ANKARA
2018**

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SIĞIR KARKASININ FARKLI KAS BÖLGELERİNİN ET
KALİTESİ İLE İLİŞKİLİ ÖNEMLİ GEN İFADELERİ
AÇISINDAN KARŞILAŞTIRILMASI**

Mehmet Cevat TEMİZKAN

**GENETİK ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Alev Gürol BAYRAKTAROĞLU**

**ANKARA
2018**

Etik Beyan

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Sığır Karkasının Farklı Kas Bölgelerinin Et Kalitesi İle İlişkili Önemli Gen İfadeleri Açısından Karşılaştırılması” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir. Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Mehmet Cevat TEMİZKAN

Tarih:

İmza:

KABUL VE ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Genetik Anabilim Dalında
Mehmet Cevat TEMİZKAN tarafından hazırlanan
“Sığır Karkasının Farklı Kas Bölgelerinin Et Kalitesi İle İlişkili Önemli Gen İfadeleri
Açısından Karşılaştırılması” adlı tez çalışması
aşağıdaki jüri tarafından Doktora Tezi olarak Oy Birliği
ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 13 / 04 / 2018

Prof. Dr. Alev Gürol BAYRAKTAROĞLU
Ankara Üniversitesi
Jüri Başkanı

Prof. Dr. Muammer GÖNCÜOĞLU
Ankara Üniversitesi

Prof. Dr. Tolga KAHRAMAN
İstanbul Üniversitesi

Doç. Dr. Emel ÖZKAN ÜNAL
Namık Kemal Üniversitesi

Dr. Öğr. Ü. Özge ÖZMEN
Ankara Üniversitesi
Raportör

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mehmet AKAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
İçindekiler	iv
Önsöz	vi
Simgeler ve Kısaltmalar	viii
Şekiller	xi
Çizelgeler	xiii

1. GİRİŞ	1
1.1. Et Kalitesi ve Karkasın Sınıflandırılması	1
1.2. Et Kalitesinin Değerlendirilmesi	3
1.2.1. Makro Analizler	3
1.2.2. Mikro Analizler	7
1.2.2.1. Histolojik Analiz	7
1.2.2.2. Moleküler Analizler	7
2. GEREÇ VE YÖNTEM	18
2.1. Hayvan Seçiminde Kullanılan Gereç ve Yöntemler	18
2.2. Gıda Analizlerinde Kullanılan Gereç ve Yöntemler	19
2.2.1. Gevreklik Analizi	19
2.2.2. Pişirme Kaybı Analizi	19
2.2.3. Su Tutma Kapasitesi Analizi	20
2.2.4. Et Rengi Ölçümü	20
2.2.5. pH-Sıcaklık Tayini	21
2.3. Histoloji Analizinde Kullanılan Gereç ve Yöntemler	21
2.4. Genetik Analizlerde Kullanılan Gereç ve Yöntemler	22
2.4.1. Örneklerin Taşınması	22
2.4.2. RNA İzolasyonu	22
2.4.3. Total RNA Kalite ve Kantite Analizi	23
2.4.4. DNase Uygulaması	24
2.4.5. cDNA Eldesi	25
2.4.6. Primerler	25
2.4.7. qPCR Analizleri	27

2.5. İstatistiksel Analizler	28
3. BULGULAR	30
3.1. Gıda Analiz Bulguları	30
3.1.1. Gevreklik Analizi	32
3.1.2. Pişirme Kaybı Analizi	33
3.1.3. Su Tutma Kapasitesi Analizi	35
3.1.4. Renk Analizleri	36
3.1.4.1. Renk (L)	36
3.1.4.2. Renk (a)	38
3.1.4.3. Renk (b)	39
3.1.5. pH	41
3.2. Histolojik Analiz Bulguları	42
3.3. Genetik Analiz Bulguları	43
3.3.1. ANK1	45
3.3.2. CAPN1	47
3.3.3. CAST	48
3.3.4. HSPB1	50
3.3.5. HSPA1A	51
3.4. İstatistiksel Bulgular	52
4. TARTIŞMA	55
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	63
ÖZET	65
SUMMARY	66
KAYNAKLAR	67
EKLER	77
Ek 1. Etik Kurul Raporu	77
Ek 2. İzole Edilen Örneklerin Kalite ve Kantitesi	78
Ek 3. Primer Çiftlerinin mRNA’da Yükseltgediği Bölgeler	83
Ek 4. qPCR Ürünlerinin Agaroz Jel Görüntüleri	85
Ek 5. Amplifikasyon ve Erime Eğrisi Görüntüleri	86
Ek 6. Çalışmada Kullanılan Bazı Materyal ve Cihazlar	88
ÖZGEÇMİŞ	90

ÖNSÖZ

Et tüketiminde ve tüketicilerin et seçiminde kalite, bir takım kriterlere bağlı olarak değişmektedir. Tüketicide daha kaliteli ürün sunmaya yönelik çalışmalarda kriterlerin belirlenmesi, günümüzde daha çok moleküler çalışmalara evrilmiştir. Bu bağlamda genler belirteç olarak kullanılmaya başlanmış ve bazı genler et kalitesi ile ilişkilendirilmiştir.

Bu araştırma ile sığır karkasında 12 farklı bölgede et kalitesi ile ilişkili olduğu düşünülen ANK1, CAPN1, CAST, HSPB1 ve HSPA1A genleri gıda analizleri ile birlikte değerlendirilerek ve karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Çalışmanın sonucunda ANK1, CAPN1 genlerinin düşük ve yüksek gevreklik değerlerine sahip kaslar arasında önemli farklılıklar ortaya koyduğu görülmüş, buna karşın CAST, HSPB1 ve HSPA1A genlerinin önemli farklılıklar göstermediği bulunmuştur. Bu çalışma ile ANK1 gen ifadesinin sığırlarda et kalitesi ile olan ilişkisi ilk kez ortaya konmuştur. Aynı zamanda et kalitesi çalışmalarında kullanılacak kas bölgelerinin tespitine yönelik veri oluşturulmuş ve et kalitesinin belirlenmesinde bilinen bir yöntem yeni bir alana uygulanarak mevcut literatüre katkı yapması sağlanmıştır.

Çalışmalarımın başlangıcından son aşamasına kadar fikirlerini ve ilgisini esirgmeden çalışmalarına yön veren danışmanım, Veteriner Fakültesi Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Alev Gürol BAYRAKTAROĞLU'na bana olan güveni ve bir ağabey gibi vermiş olduğu tüm desteklerinden dolayı sonsuz teşekkürü bir borç bilirim. Bu süreçte desteklerini her daim yanımda hissettiğim annem Nazmiye TEMİZKAN, babam Mustafa Korkut TEMİZKAN ve kardeşim İpek TEMİZKAN'a, fedakarlıkları ve bana duydukları güven için minnetle teşekkür ederim. Çalışmalarım boyunca her konuda her daim bana destek olan Araş. Gör. Seçil SEVİNÇ'e en içten duygularla teşekkürlerimi sunarım.

Projenin her aşamasında değerli vaktini ayıran ve çalışmalarına destek olan Dr. Öğr. Ü. Özge ÖZMEN'e ve tezimin değerlendirilmesindeki katkılarından dolayı Prof.

Dr. Muammer GÖNCÜOĞLU'na çok teşekkür ederim. Proje yazım aşamasında bilgisini esirgemeyen Doç. Dr. Okan EKİM'e teşekkürlerimi sunarım. Projenin örnek alımı aşamasında bize kapılarını açan Sincan Et ve Süt Kurumuna ve bu süreçte yardımlarını esirgemeyen Araş. Gör. Dr. Ahmet CEYLAN'a ve Araş. Gör. Dr. Muharrem AYVALI'ya emeklerinden dolayı çok teşekkür ederim. İstatistiksel analizlerde ilgisini her zaman gösteren ve yardımcı olan Dr. Öğr. Ü. Doğukan ÖZEN'e teşekkür ederim. Gıda analizlerinin tamamlanmasındaki yardımlarından dolayı Araş. Gör. Esra AKKAYA'ya teşekkür ederim.

Projenin yürütülmesine mali destek sağlayan Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Müdürlüğü'ne (Proje No: 16L0239012) teşekkür ederim. Bu süreçte bana laboratuvarlarını açarak çalışmaya destek olan Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Genetik Anabilim Dalı ve Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarlarında görevli çalışma arkadaşlarıma, Ankara Etlik Veteriner Kontrol Araştırma Enstitüsü ve Bilkent Üniversitesi Thorlab'e ve çalışanlarına çok teşekkür ederim.

SİMGELER VE KISALTMALAR

%	Yüzde
°C	Celsius türünden derece, Santigrat derece
μ	Mikro
μl	Mikrolitre
μm	Mikrometre
a	Kırmızılık
ACACA	Asetil-CoA Karboksilaz Alfa (Acetyl-CoA Carboxylase Alpha)
ACTB	Aktin-beta
ADIPOQ	Adiponektin
ANK	Ankirin
ANOVA	Tek yönlü varyans analizi (Analysis of Variance)
ASAP1	Ankirin tekrar ve pH bölgesi-1 (Ankyrin Repeat and pH Domain-1)
ATP	Adenozin trifosfat
b	Sarılık
B	Bölge
B1	Gerdan, <i>musculus brachiocephalicus</i>
B2	Antrikot, <i>musculus longissimus thorasis</i>
B3	Kontrafile, <i>musculus longissimus lumborum</i>
B4	Nuar, <i>musculus semitendinosus</i>
B5	Bonfile, <i>musculus psoas major</i>
B6	Kontranuar, <i>musculus biceps femoris</i>
B7	Arka bacak, <i>musculus extensor digitorum</i>
B8	Yumurta, <i>musculus quadriceps femoris</i>
B9	Pençeta, <i>musculus rectus abdominis</i>
B10	Döş, <i>musculus pectoralis profundus</i>
B11	Kürek, <i>musculus infraspinatus</i>
B12	Ön bacak, <i>musculus extensor carpi</i>
CAPN	Calpain, Calcium-Activated Neutral Proteinase
CAST	Calpastatin

cDNA	Komplementer deoksiribonükleik asit
CIE	Uluslararası Aydınlatma Komisyonu (Commission Internationale de l'Eclairage)
CL	Piştirme Kaybı (Cooking Loss)
cm	Santimetre
CRH	Kortikotropin Salgılatıcı Hormon (Corticotropin Releasing Hormon)
CSN3	Kazein Kappa (Casein Kappa)
Ct	Eşik döngüsü (Threshold cycle)
DGAT1	Diçilgliserol O-Açiltransferaz (Diacylglycerol O-Acyltransferase 1)
dk	Dakika
DNA	Deoksiribonükleik asit
DNAJA1	DnaJ HSP40 A1 üyesi [DnaJ Heat Shock Protein Family (Hsp40) Member A1]
DNMT	DNA Metil Transferaz
EDTA	EtilenDiamin Tetra Asetik asit
EtBr	Etidyum Bromür
FABP4	Yağ Asidi Bağlanma Proteini-4 (Fatty Acid Binding Protein-4)
FADS1	Yağ asidi Desaturaz-1 (Fatty Acid Desaturase-1)
g	G kuvveti (G Force)
GHR	Büyüme Hormon Reseptörü (Growth Hormon Receptor)
gr	Gram
H	Hayvan
HMBS	Hidroksimetilbilan sentaz
HSD	Doğru anlamlı farklılık (Honest significant difference)
HSP	Isı Şok Proteini (Heat Shock Protein)
HSPA1A	Isı Şok Proteini A ailesi 1A üyesi (Heat Shock Protein Family A Member 1A)
HSPA9	Isı Şok Proteini A ailesi 9. üyesi (Heat Shock Protein Family A (Hsp70) Member 9)
HSPB1	Isı Şok Proteini B ailesi 1. üyesi (Heat Shock Protein Family B Member 1)
kDa	kilodaltons

kg	Kilogram
L	Parlaklık (Lightness)
LEP	Leptin
LPL	Lipoprotein Lipaz
<i>m.</i>	<i>musculus</i>
MC3R	Melanokortin-3 reseptör (Melanocortin-3 Receptor)
ME1	Malik Enzim-1
mg	Miligram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
mRNA	Mesajcı ribonükleik asit
MSTN	Miyostatin
NCBI	Uluslararası Biyoteknoloji Bilgi Merkezi (National Center for Biotechnology Information)
ng	Nanogram
pH	Asitlik/bazlık ölçütü (Hidrojenin Gücü; Power of Hydrogen)
POMC	Proopiomelanokortin
qPCR	Kantitatif eş zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (Quantitative Real-Time Polymerase Chain Reaction)
RNA	Ribonükleik asit
RORC	RAR İlişkili Reseptör C (RAR related orphan receptor C)
s	Saniye
SCD	Stearoil CoA Desaturaz
SF	Gevreklik (Shear Force)
SH	Standart Hata
SIRT1	Sirtuin-1
SL	Sarkomer Uzunluğu (Sarcomer Lenght)
SNP	Tek Nükleotid Polimorfizmi (Single Nucleotide Polymorphism)
TAE	Tris Asetat Etilendiamin tetra asetik asit
TG	Tiroglobulin
WHC	Su Tutma Kapasitesi (Water Holding Capacity)
Δ	Delta

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. Çalışmada kullanılan kas bölgeleri	2
Şekil 1.2. ANK1 geninin yakın ilişkili olduğu 10 gen	10
Şekil 1.3. CAPN1 geninin yakın ilişkili olduğu 10 gen	11
Şekil 1.4. CAST geninin yakın ilişkili olduğu 10 gen	13
Şekil 1.5. HSPB1 geninin yakın ilişkili olduğu 10 gen	14
Şekil 1.6. HSPA1A geninin yakın ilişkili olduğu 10 gen	15
Şekil 2.1. Örneklem yapılan karkas bölümleri	19
Şekil 2.2. Kas dokusundan çekilen fotoğraf örneği	21
Şekil 3.1. Birinci, ikinci ve üçüncü kalite kas grupları arasındaki gıda analiz değerleri farklılıkları	30
Şekil 3.2. Kas bölgelerinin gevreklik değerleri	32
Şekil 3.3. Gevrekliğin kas gruplarına göre sıralı değerleri	32
Şekil 3.4. Kas bölgelerinin pişirme kaybı değerleri	34
Şekil 3.5. Pişirme kaybının kas gruplarına göre sıralı değerleri	34
Şekil 3.6. Kas bölgelerinin su tutma kapasitesi değerleri	35
Şekil 3.7. Su tutma kapasitesinin kas gruplarına göre sıralı değerleri	36
Şekil 3.8. Kas bölgelerinin renk (L) değerleri	37
Şekil 3.9. Renk (L)'nin kas gruplarına göre sıralı değerleri	37
Şekil 3.10. Kas bölgelerinin renk (a) değerleri	38
Şekil 3.11. Renk (a)'nın kas gruplarına göre sıralı değerleri	39
Şekil 3.12. Kas bölgelerinin renk (b) değerleri	40
Şekil 3.13. Renk (b)'nin kas gruplarına göre sıralı değerleri	40
Şekil 3.14. Kas bölgelerinin pH değerleri	41
Şekil 3.15. pH'nin kas gruplarına göre sıralı değerleri	42
Şekil 3.16. Kas bölgelerinin sarkomer uzunluk değerleri	42
Şekil 3.17. Sarkomer uzunluğunun kas gruplarına göre sıralı değerleri	43

Şekil 3.18. Birinci, ikinci ve üçüncü kalite kas grupları arasındaki relatif gen ifadesi farklılıkları	44
Şekil 3.19. ANK1 geninin kaslara göre değişen ifade farklılıkları	46
Şekil 3.20. ANK1 geninin birinci (yeşil), ikinci (sarı) ve üçüncü (kırmızı) kalite kas bölgeleri arasındaki sıralı ifade farklılıkları	46
Şekil 3.21. CAPN1 geninin kaslara göre değişen ifade farklılıkları	47
Şekil 3.22. CAPN1 geninin birinci (yeşil), ikinci (sarı) ve üçüncü (kırmızı) kalite kas bölgeleri arasındaki sıralı ifade farklılıkları	48
Şekil 3.23. CAST geninin kaslara göre değişen ifade farklılıkları	49
Şekil 3.24. CAST geninin birinci (yeşil), ikinci (sarı) ve üçüncü (kırmızı) kalite kas bölgeleri arasındaki sıralı ifade farklılıkları	49
Şekil 3.25. HSPB1 geninin kaslara göre değişen ifade farklılıkları	50
Şekil 3.26. HSPB1 geninin birinci (yeşil), ikinci (sarı) ve üçüncü (kırmızı) kalite kas bölgeleri arasındaki sıralı ifade farklılıkları	51
Şekil 3.27. HSPA1A geninin kaslara göre değişen ifade farklılıkları	51
Şekil 3.28. HSPA1A geninin birinci (yeşil), ikinci (sarı) ve üçüncü (kırmızı) kalite kas bölgeleri arasındaki sıralı ifade farklılıkları	52

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1. Sığır karkasının sınıflandırılması	2
Çizelge 2.1. Çalışmada kullanılan primerlere ait diziler	26
Çizelge 2.2. Çalışmada kullanılan primer çiftlerinin verileri	26
Çizelge 2.3. qPCR çalışma protokolü	27
Çizelge 3.1. Kalite gruplarına göre gıda analiz değerleri farklılıkları	30
Çizelge 3.2. Birinci kalite kaslarda gıda analizlerinin gıda analizleri ile korelasyonları	31
Çizelge 3.3. İkinci kalite kaslarda gıda analizlerinin gıda analizleri ile korelasyonları	31
Çizelge 3.4. Üçüncü kalite kaslarda gıda analizlerinin gıda analizleri ile korelasyonları	31
Çizelge 3.5. Kas bölgelerine göre gevreklik değerleri	32
Çizelge 3.6. Kas bölgelerine göre pişirme kaybı değerleri	34
Çizelge 3.7. Kas bölgelerine göre su tutma kapasitesi değerleri	35
Çizelge 3.8. Kas bölgelerine göre renk (L) değerleri	37
Çizelge 3.9. Kas bölgelerine göre renk (a) değerleri	38
Çizelge 3.10. Kas bölgelerine göre renk (b) değerleri	40
Çizelge 3.11. Kas bölgelerine göre pH değerleri	41
Çizelge 3.12. Sarkomer uzunlukları kas bölgeleri değerleri	43
Çizelge 3.13. Kalite gruplarına göre gen ifadesi değerleri	44
Çizelge 3.14. Birinci kalite kaslarda gen ifadelerinin diğer gen ifadeleri ile korelasyonları	45
Çizelge 3.15. İkinci kalite kaslarda gen ifadelerinin diğer gen ifadeleri ile korelasyonları	45
Çizelge 3.16. Üçüncü kalite kaslarda gen ifadelerinin diğer gen ifadeleri ile korelasyonları	45
Çizelge 3.17. Kas bölgelerine göre ANK1 gen ifadesi değerleri	46
Çizelge 3.18. Kas bölgelerine göre CAPN1 gen ifadesi değerleri	47

Çizelge 3.19. Kas bölgelerine göre CAST gen ifadesi değerleri	49
Çizelge 3.20. Kas bölgelerine göre HSPB1 gen ifadesi değerleri	50
Çizelge 3.21. Kas bölgelerine göre HSPA1A gen ifadesi değerleri	51
Çizelge 3.22. Birinci kalite kaslarda gen ifadelerinin gıda analizleri ile korelasyonları	52
Çizelge 3.23. İkinci kalite kaslarda gen ifadelerinin gıda analizleri ile korelasyonları	53
Çizelge 3.24. Üçüncü kalite kaslarda gen ifadelerinin gıda analizleri ile korelasyonları	53
Çizelge 3.25. Birinci ve üçüncü kalite kas bölgeleri arasındaki istatistiksel farklılıklar	54

1. GİRİŞ

1.1. Et Kalitesi ve Karkasın Sınıflandırılması

Et tüketiminde ve tüketicilerin et seçiminde kalite, bir takım kriterlere bağlı olarak değişmektedir. Etin kalitesini belirleyen ölçütler, fiziksel, kimyasal, histolojik ve genetik birçok faktörden etkilenmektedir (Kahraman ve ark., 2011). Aynı zamanda post-mortem dönem içerisinde yapılan uygulamalarında, etin kalitesini ilgilendirdiği bilinmektedir (Bayraktaroğlu ve Kahraman, 2011). Kesim öncesi kas gelişiminden, kesim sonrası uygulamalara kadar pek çok prosedür etin kalitesi ile ilişkilendirilmiştir.

Sığırlarda iskelet kasının gelişimi temel olarak üç faktöre bağlıdır. Bunlar; kas proteinlerinin sentezi, kas proteinlerinin degradasyonu, hücrelerin sayısı ve boyutlarıdır. Kas hücrelerindeki büyüme ve gelişme çeşitli hormonlar veya büyüme faktörleri ile desteklense de, hayvancılıkta yüzlerce yıldır süregelen genetik seçim bu üç temel üzerine kurulmuştur (Goll ve ark., 1998). Bu temellere dayanarak kasın ete dönüşme süreçleri incelenmiş, verimi ve kaliteyi arttırmaya yönelik çok sayıda çalışma yapılmıştır. Yıllar içinde süregelen bu gelişimler sonucunda her toplum ve kültür kendi et sınıflandırma sistemini ortaya koymuştur.

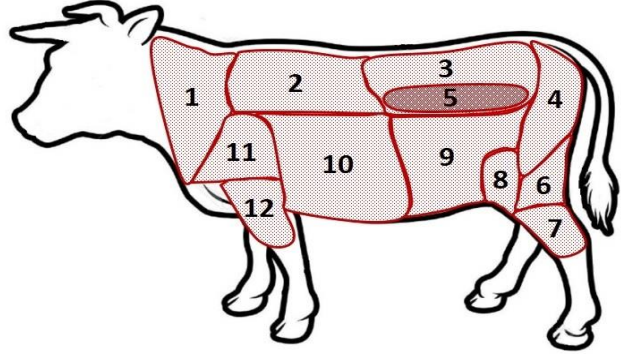
Ülkemizde sığır karkası üç kalite olarak sınıflandırılmıştır. Bu sisteme göre birinci kalite sığır etleri bonfile, kontrafile, bel pirzola, sırt pirzola; ikinci kalite sığır etleri biftek ve rosto; üçüncü kalite sığır etleri ise incik (ön ve arka diz üstü), gerdan, döş ve sığır rulo (karın kasları) bölgelerinden oluşmaktadır. Kasaplık sığır eti ise temel olarak 14 ayrı parça olarak incelenmektedir. Bu parçalar; gerdan, pirzola (antrikot), kontrafile, bonfile, sokum, tranç, nuar, kontranuar, yumurta, arka bacak incik, pençeta, döş, kol, ön bacak incik şeklindedir. Gerdan, kol (kürek), döş, pençeta ve ön bacak incik bölgeleri kıymalık; sokum, tranç, nuar, kontranuar, yumurta ve arka bacak incik bölgeleri yemeklik; pirzola, kontrafile ve bonfile bölgeleri ise ızgaralık olarak tanımlanmıştır (Milli Eğitim Bakanlığı, 2013). Bu bilgiler ışığında kasaplık sığır eti kalite düzeylerine göre tablodaki gibi sınıflandırılabilir (Çizelge 1.1; Şekil 1.1).

Çizelge 1.1. Sığır karkasının sınıflandırılması.

Kalite Seviyesi	Sığır Karkasının Kasaplık Sistemde Sınıflandırılması
1. Kalite Sığır Eti	<i>Bonfile, Kontrafile, Antrikot</i>
2. Kalite Sığır Eti	<i>Sokum, Tranç, Nuar, Kontranuar, Yumurta</i>
3. Kalite Sığır Eti	<i>Gerdan, Kürek, Döş, Pençeta, Ön Bacak, Arka Bacak</i>

Çalışmada kullanılan kas bölgeleri *italik* yazılmıştır.

- Bölge 1 - **Gerdan:** *m. brachiocephalicus*
Bölge 2 - **Antrikot:** *m. longissimus thoracis*
Bölge 3 - **Kontrafile:** *m. longissimus lumborum*
Bölge 4 - **Nuar:** *m. semitendinosus*
Bölge 5 - **Bonfile:** *m. psoas major*
Bölge 6 - **Kontranuar:** *m. biceps femoris*
Bölge 7 - **Arka Bacak:** *m. extensor digitorum*
Bölge 8 - **Yumurta:** *m. quadriceps femoris*
Bölge 9 - **Pençeta:** *m. rectus abdominis*
Bölge 10 - **Döş:** *m. pectoralis profundus*
Bölge 11 - **Kürek:** *m. infraspinatus*
Bölge 12 - **Ön Bacak:** *m. extensor carpi*



Şekil 1.1. Çalışmada kullanılan kas bölgeleri.

Sığırlarda et kalitesi yönünden yapılan incelemeler büyük çoğunlukla erkek hayvanlar üzerinden yapılmaktadır. Bunun sebebi erkek hayvanlardaki et veriminin dişi hayvanlara kıyasla daha yüksek olması ve doğurganlıklarının olmamasıdır. Çalışma sonuçların istatistiksel olarak daha güvenilir olması açısından hayvanların aynı cinsiyet, yaş ve ırk olmasına, mümkün olduğunca uzak akraba olmalarına özen gösterilmektedir. Et kalitesi ile ilgili makro ve mikro düzeyde birçok kriter ortaya konmuş ve çalışma yapılmıştır. Makro düzeyde yapılan analizlerin kapsamı gevrekliğin tayini, et rengi, pişirme kaybı ve su tutma kapasitesi analizleri ile pH-sıcaklık ölçümlerini kapsayan gıda analizleridir (Bayraktaroğlu ve Kahraman, 2011 ve Kahraman ve ark., 2011). Mikro düzeyde yapılan analizler ise genetik, histolojik ve biyokimyasal analizler olarak özetlenebilir. Moleküler araştırmayı temel alan çalışmalar genellikle tek nükleotid polimorfizmi (Single Nucleotide Polymorphism: SNP) ve gen ifadesi analizleri gibi genetik analizleri kapsamaktadır (Aslan ve ark., 2012). Diğer yandan karkasın ete dönüşümü hücresel bazda ultrastrüktürel olarak histolojik analizlerle mikro düzeyde değerlendirilebilmektedir. Ayrıca özellikle etin gevrekliği ile ilintili sarkomer uzunluğu ölçümleri ışık mikroskopik düzeyde ortaya konulabilmektedir (Bayraktaroğlu ve Kahraman., 2011 ve Kahraman ve ark., 2010).

1.2. Et Kalitesinin Değerlendirilmesi

1.2.1. Makro Analizler

Tüketilen ette kalite kavramı her geçen gün önem kazanmaktadır (Kahraman ve ark., 2010). Et kalitesini gıda güvenliği, hayvan refahı, damak tadına uygunluk, yetiştirme ve besi şartları dahil çok sayıda faktör etkilemektedir. Bir tüketici et almaya karar verirken göze hoş gelen ve ilgisini çeken ürüne yönelmektedir. Etin aroması ve sululuğu, çeşitli baharatlar ve pişirme metotları ile artırılabilir. Ancak etin gevrekliği ve rengi gibi karakterler kalıtsal olarak gelmekte ve değiştirilememektedir (Thu, 2006). Bu nedenle de etin gevrekliği oldukça önemli bir parametre olarak göze çarpmaktadır. Tüketime sunulan etlerin kalitesini saptamada gevreklik, pişirme kaybı ve su tutma kapasitesi, renk, pH-sıcaklık ölçümleri gibi gıda analizleri esas alınmaktadır (Kahraman ve ark., 2010 ve Mullen, 2002, b:19).

Kasların kasılmasının gevrekliği etkileyebildiği bildirilmektedir (Bayraktaroğlu ve Kahraman, 2011 ve Thu, 2006). Kas kasılmaları Z bantlarını birbirine yaklaştırmakta ve filament yoğunluğunu arttırmaktadır ve bu nedenle de etin gevrekliğinin kas grubunun yapısına göre farklılık gösterdiği bildirilmektedir (Thu, 2006). Yavaş kasılan oksidatif (Tip I) kaslar, hızlı kasılan oksido-glikolitik (Tip II) kaslardan farklı olarak gevreklik değerleriyle pozitif korelasyon göstermektedir. Bu da kaslarda meydana gelen protein degradasyonu ile, dolayısıyla da kasların degradasyonunu sağlayan calpain proteinleri ile ilişkilendirilmektedir (Lawrence ve Fowler, 2002 ve Maltin ve ark., 2003). Karşılaştırmalı çalışmalarda *m. longissimus dorsi* (antrikot ve kontrafile) ve *m. biceps femoris* (kontranuar) kasları öne çıkmaktadır (Bayraktaroğlu ve Kahraman, 2011; Kahraman ve ark., 2010). Gevreklik ile ilgili diğer bir faktör bağ dokuların yoğunluğu ve kas içindeki dağılımıdır. Genç hayvanlarda bu yoğunluk daha az iken, yaşlı hayvanlarda daha fazladır. Bu nedenle genç hayvanların kas yapısının daha gevrek olduğu gözlemlenmektedir (Gerrard ve Grant, 2003, b:5). Yaş ve çevre faktörleri gevreklikle ilişkili sonradan ortaya çıkan faktörlerdir. Ancak kas tipleri ve yapısı; et proteinlerinin yoğunluğu, degradasyonu, cinsiyet, ırk ve

akrabalık derecesiyle, yani kalıtımla ilişkilidir. Angus gibi et kalitesi geliştirilmeye daha yatkın ırklar, potansiyel olarak, et kalitesiyle ilişkili kalıtımsal olarak gelişime daha kolay adapte olabilmektedir (Bradford ve ark., 2016).

Belew ve ark., (2003) yapmış oldukları çalışmada 40 farklı sığır karkas bölümü gevreklik değerleri yönünden incelenmiş dört farklı grup belirlenmiştir. Bu gruplara göre bonfile ve kürek çok gevrek, kontrafile ve antrikot gevrek, nuar orta seviye gevrek, ön bacak, arka bacak, döş ve gerdan bölgelerinin sert olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Kalite ile ilişkilendirilen bir diğer faktör ise etin pişirme kaybı ve su tutma kapasitesidir. Bu iki değer birbiri ile sürekli negatif korelasyon halinde olmalıdır. Çünkü etin su tutma kapasitesi ne kadar artarsa, pişirme kaybı da o ölçüde azalmalıdır (Kahraman ve ark., 2010).

Etin bileşimini büyük oranda su oluşturur. Kasın karkasta bulunduğu bölgeye, hayvanın yaşına ve türüne bağlı olarak etteki su miktarı %70-80 arasında değişmektedir. Suyun mümkün olduğu kadar etin içerisinde kalması ekonomik açıdan arzu edilen bir özelliktir. Ancak kasın sahip olduğu suyun bir kısmı, kasın ete dönüşümü veya işlenmesi sırasında kayba uğramaktadır. Etin doğal olarak sahip olduğu suyu bünyesinde tutabilme becerisine etin su tutma kapasitesi denir. Bu kavram etin en önemli kalite karakteristiklerinden biri olup, su tutma kapasitesi yüksek etler ekonomik açıdan tercih edilmektedir. Su tutma kapasitesi genetik faktörler, post-mortem proteolizis, pH ve protein oksidasyonu gibi pek çok faktöre bağlı olarak değişmektedir (Ergezer ve Serdaroglu, 2008 ve Swatland, 2002, b:10).

Pişirme kaybı büyük ölçüde pişirme süresi ve sıcaklığına bağlıdır. Termografik çalışmalar etin pişirilmesi esnasında protein denatürasyonunun üç aşamadan oluştuğunu göstermektedir. Birinci aşamada 40-60 santigrat derecede (°C) miyozin degradasyonu, ikinci aşamada 60-70°C'de sarkoplazmik protein ve kollojen denatürasyonu, üçüncü aşamada ise 80°C'de aktin denatürasyonu şeklindedir. Tüm bu aşamalar pişirme kaybı analizinde önem taşımaktadır. Özellikle 80°C'de aktin

denatürasyonunun pişirme kaybı ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (Pearce ve ark., 2011).

Tüketicilerin et ürünü alırken dikkat ettiği ilk nokta etin rengidir ve bu sebeple et rengi, kaliteyi doğrudan etkileyen bir faktör olmasa da, özellikle sığır etindeki parlak kırmızı renk tüketiciyi psikolojik olarak etkileyerek, satın alma noktasında önemli bir kriter haline getirmektedir. Et renginin değerlendirilmesinde birçok ülkede *musculus longissimus dorsi* (*m. longissimus thoracis* ve *m. longissimus lumborum*) kası referans alınmaktadır ve etin renk standardı bu kas üzerinden değerlendirilmektedir (Taşçı, 2017).

Ette renk, pigment içeren proteinlerin ışığı absorbe etmesi veya yansıtması ile ilişkilidir ve en çok pigment içeren bileşik miyoglobindir. Bu nedenle sığırdaki miyoglobin içeriğinin yüksek olması etin koyu renkli olmasına sebebiyet vermektedir. Yaşlı-genç hayvanlar arasındaki renk farklılıkları veya türler arasındaki et renklerindeki farklılıklar da bu sebepten ileri gelmektedir. Diğer yandan kaslar arasındaki renk farklılıkları daha çok o kasın fizyolojik fonksiyonu ile ilişkilidir. Daha fazla kullanılan kaslar daha yoğun miyoglobulin içeriğine sahip olmakta ve az kullanılan kaslara kıyasla daha koyu görünmektedir (Miller, 2002, b:3).

Ette renk analizlerinin gerçekleştirilmesinde Uluslararası Aydınlatma Komisyonu (Commission Internationale de l'Eclairage, CIE) tarafından oluşturulan matematiksel bazlı renk tanımlama sistemi kullanılmaktadır. İnsan gözündeki ışık algılama hücreleri üç tiptedir ve bu hücreler mavi, yeşil ve kırmızı ışıklara hassastır. Sistemde renkler tanımlanırken, bu bilgi baz alınmış ve değerler bu sistem üzerinden tanımlanmıştır. Yapılan modelleme sonucunda renkler için; "L" (lightness) parlaklık, "a" kırmızılık ve "b" sarılık kısaltmaları kullanılarak analizleri gerçekleştirilmektedir (Broadbent, 2017, s:321 ve Hunt ve King, 2012).

pH'nın yüksek olduğu durumlarda et koyu kalmakta, düşük olduğu durumlarda ise soluk renkli bir görünüm ortaya koymaktadır (Swatland, 2002, b:10). Genellikle hayvanlarda stres kaynaklı olduğu düşünülen daha düşük pH oranlarına sahip açık renk

etlerde su tutma kapasitesi oldukça düşüktür. Dolayısıyla açığa çıkan suyun etin üzerindeki ışığı yansıtmasından açık renklilik kaynaklanmaktadır. Pişirme esnasında da bu açık renkli etlerde pişirme kaybı değerleri yüksek çıkmaktadır (Miller, 2002, b:3). Kas renginin, kasın pH'sı ve etin gevrekliğiyle de korele olduğu düşünülmektedir (Wulf ve Wise, 1999).

Et kesimden hemen sonra hafif alkali olup pH değeri 7,0-7,2 arasındadır. Kesim sonrasında, karkasta meydana gelen kimyasal ve fiziksel olaylar sonucunda kas doku ete dönüşmektedir. Postmortem süreçte kan dolaşımının durması ve yeterli oksijenin bulunmaması nedeniyle, laktik asit kaslarda birikerek pH'nın 5,5 -5,0'e kadar düşmesine neden olmaktadır (Bruce ve Ball, 1990). Bu pH değerlerinin altında glikojenin ve ATP'nin parçalanması durmakta ve ölüm sertliği çözülmeye başlamaktadır. Etin bir dizi enzimatik reaksiyonlar geçirerek sertliğinin çözülmesi ve tüketicinin arzu ettiği gevreklik ile aroma ve lezzet kazanması, etin olgunlaşması olarak ifade edilmektedir (Dransfield, 1994; Fuente ve ark., 2006 ve Taşçı, 2017). Olgunlaşma dönemi, kas proteinlerinin denatürasyonu ile şekillenmektedir. Böylece, kanatmadan hemen sonra sert bir konsistense sahip olan etin, proteinlerin çözülmesi ve Z-bantlarının kırılması ile gevrekleşmesi sağlanmaktadır. Fibrillerin elektrik direncinin azalmasına ve interfibriler alanın büyümesine bağlı olarak da, etler salamura uygun bir yapı kazanmakta ve açık kırmızı rengin oluşmasına neden olmaktadır (O'Halloran ve ark., 1997). Etin olgunlaşması depolama şartlarına bağlı olmakla birlikte sığırlarda 10 – 15 gün içinde şekillenmektedir (İnal, 1995).

pH ölçümü sıklıkla kesimden 45. dakika (dk) ve 24. saat sonunda yapılmaktadır. pH değerinin etin gevreklik, renk ve su tutma kapasitesi ile dolayısıyla lezzetiyle bağlantılı olduğu düşünülmektedir (Swatland, 2002, b:10). Yüksek pH'nın normal değerler çerçevesinde etin daha gevrek olmasını sağladığı varsayılmaktadır. Bu varsayımın temelinde, glikolitik aktivitenin azalmasının erken rigor mortise sebep olduğu, buna bağlı olarak da proteaz aktivitesini uzatması yatmaktadır. Diğer yandan bazı raporlar yüksek pH'ya sahip kasların daha koyu, sert ve kuru olduğunu ayrıca gevreklik değerinin düşük olduğunu göstermektedir (Maltin ve ark., 2003).

Ette sıcaklık değeri bazı kaynaklara göre et kalitesinin belirlenmesinde önemli rol oynarken, bazı kaynaklar bir fark yaratmadığını düşündürmektedir (Hwang ve Thompson, 2001; May ve ark., 1992; Mullen, 2002, b:19 ve Jones ve Tatum, 1994). Sığır karkasında maksimum gevrekliğin elde edilebilmesi için optimum sıcaklığın kesimden hemen sonra 29-30°C ve pH 6,0; post-mortemden 90 dk sonra 5,9-6,2 pH değerlerinin iyi sonuç verdiği görülmüştür (Hwang ve Thompson, 2001). May ve ark., (1992) *m. longissimus dorsi* kasının post-mortemden 2,5 saat sonra 33°C olmasını gevreklik ile ilişkilendirmiştir. Jones ve Tatum (1994) yaptıkları bir çalışma ise sıcaklığın gevrekliğin belirlenmesinde önemli bir kriter olmadığını düşündürmektedir.

1.2.2. Mikro Analizler

1.2.2.1. Histolojik Analiz

Histoloji teknikleri, gıda alanında özellikle et ürünlerinde iç organ ve yabancı doku tespitine yönelik sıkça başvurulmuş yöntemlerdir. Ancak histolojinin esas kapsama alanına giren konu, etin kalitesi olmalıdır. Bu bağlamda sarkomer uzunluğu analizi etin kalitesi hakkında fikir verebilen bir analiz olma özelliğindedir. Sarkomer iki Z bandı arasındaki birim alan, bir kontraksiyon ünitesini ifade etmektedir. Kesim sonrasında biyokimyasal nitelikteki çok sayıda reaksiyonun bir sonucu olarak sert bir konsistense sahip olan etin, proteinlerin çözülmesi ve Z bantlarının kırılması ile gevrek bir yapıya sahip olması beklenmektedir. Bu nedenle sarkomer uzunluğu, protein denatürasyonu ile ilişkili genler ve etin gevrekliği arasında bir bağlantı olduğu düşünülebilir (Bayraktaroğlu ve Kahraman, 2011 ve Swatland, 2002, b:10).

1.2.2.2. Moleküler Analizler

Et üretimi amacıyla besiciliği yapılan hayvanlarda, et kalitesinin belirlenmesi için uygulanan hemen hemen tüm yöntemler ancak kesimden sonra uygulanabilir durumdadır. Bunun bir istisnası olarak moleküler düzeyde yapılan genetik analizler,

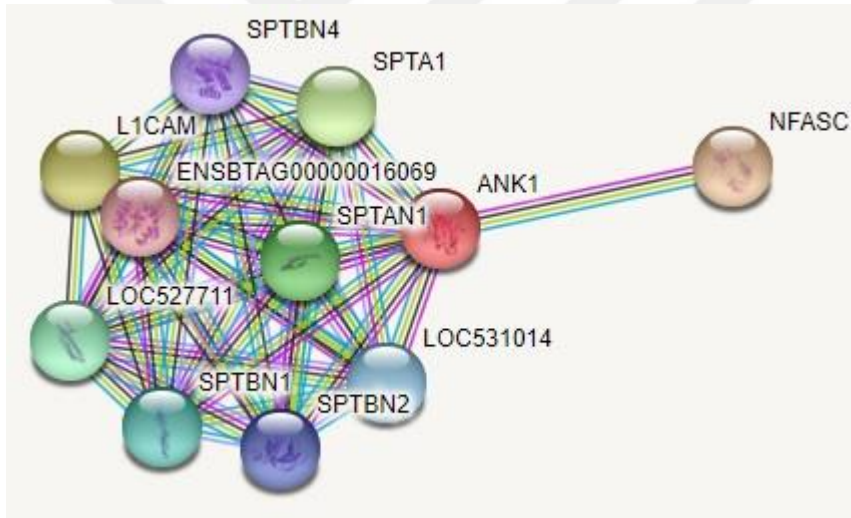
kesimden önce etin kalitesi hakkında fikir verebilmektedir. Et kalitesinin kesimden önce tahmin edilebilir olması, et üretiminin yönetilmesini, sonraki nesillere daha yüksek verimli hayvanların üretilmesini ve daha kaliteli karkas elde edilmesini kolaylaştırmaktadır (Malek ve Picard, 2016). Bu bağlamda moleküler düzeyde yapılan çalışmalarda SNP ve gen ifadesi çalışmaları ön plana çıkmaktadır. Örneğin SNP çalışmalarında asetil-CoA karboksilaz alfa (ACACA) (Shin ve ark., 2011), adiponektin (ADIPOQ), ankirin-1 (ANK1) (Horodyska ve ark., 2015), diaçilgliserol O-açıltransferaz (DGAT1) (Bal ve Akyüz, 2014 ve Aviles ve ark., 2014), yağ asidi bağlanma proteini-4 (FABP4), leptin (LEP), strearoil CoA desaturaz (SCD), RAR ilişkili reseptör C (RORC) (Aviles ve ark., 2014), Ankirin tekrar ve pH bölgesi-1 (ASAP1) (Tizioto ve ark., 2012), calpain-1 (CAPN1), calpain-3 (CAPN3), calpastatin (CAST) (Robinson ve ark., 2015 ve Savaşçı ve Atasoy, 2016), DNA Metil Transferaz (DNMT) (Guo ve ark., 2012), tiroglobulin (TG) (Savaşçı ve Atasoy, 2016 ve Sevane ve ark., 2014), kortikotropin salgılatıcı hormon (CRH), kazein kappa (CSN3), yağ asidi desaturaz-1 (FADS1), büyüme hormon reseptörü (GHR), proopiomelanokortin (POMC), ısı şok proteini (HSP) (Sevane ve ark., 2014), akirin-2 (Coşkun ve Akyüz, 2016), lipoprotein lipaz (LPL) (Oh ve ark., 2013), melanokortin-3 reseptör (MC3R) (Yang ve ark., 2015), malik enzim-1 (ME1) (Zhou ve ark., 2014), miyostatin (MSTN) (Guifen ve ark., 2014), sirtuin-1 (SIRT1) (Gui ve ark., 2014) genlerinde tespit edilen tek nükleotid polimorfizmleri et kalitesi ile ilişkilendirilmiştir. Genlerde meydana gelen polimorfizmlerden bazıları, gen ifadelerinin az veya çok olmasına sebep olabilmektedir. İfade farklılıkları, özellikle kesimden sonraki süreçte kasları dolayısı ile kaliteyi etkileyebilmektedir. Bunun bir sonucu olarak, gen ifadesi düşük veya yüksek olan bazı genler et kalitesi ile ilişkilendirilmiştir (Aslan ve ark., 2012; Giusti ve ark., 2013; Goll ve ark., 1998; Hocquette ve ark., 2012; Mullins ve ark., 2016; Sacca ve ark., 2015 ve Yu ve ark., 2009). Bu durum ilgili genlerin et kalitesi açısından birer belirteç olarak görülmesine sebep olmaktadır (Guillemin ve ark., 2011a ve Hocquette ve ark., 2009).

Et kalitesi ile ilişkilendirilen genler, sıklıkla, yapısal genler, kas yapısının parçalanmasını sağlayan genler ve stres ile ilişkili genlerden oluşturmaktadır. Hücre iskeletinin yapısını oluşturan ve korunmasını sağlayan yapısal genlerin et kalitesini

etkileyebileceği düşünülmektedir (Aslan ve ark., 2012 ve Reddy ve ark., 2017). Kas yapısının parçalanmasını sağlayan proteolitik enzimlerin ise gevrekliği direkt olarak etkileyebileceği bildirilmiştir (Giusti ve ark., 2013; Goll ve ark., 1998; Rosa ve ark., 2018 ve Sacca ve ark., 2015). Bunların yanında stres ile ilişkili genlerin apoptoz ve hücre yıkımlanması, dolayısıyla gevreklikle bağlantılı olarak et kalitesini etkiledikleri düşünülebilir (Hocquette ve ark., 2012; Mullins ve ark., 2016 ve Yu ve ark., 2009).

İskelet kası hücrelerinin aktivitelerinde, hücre iskeleti ve transmembran proteinlerin sitoplazmik alanları arasındaki etkileşimlerin önemli rolü bulunmaktadır. Bu noktada kaslarda, integral membran proteinlerine ve hücre zarının iç yüzeyine bakan hücre iskeletine (spektrin) bağlı yapıda olan intraselüler ve yapısal proteinler olan “Ankirin”ler mevcuttur (Chen ve ark., 1997; Hryniewicz-Jankowska ve ark., 2002 ve Wimmers, 2007). Ankirin proteinlerinin, hücre iskeletinin plazma membrana bağlanmasında görevleri bulunmaktadır (Aslan ve ark., 2012 ve Wimmers, 2007). Bu bağlanma protein üzerindeki; membran bağlanma bölgeleri, spektrin bağlanma bölgeleri, ölüm bölgesi ve C-terminal üzerindeki obskurin bağlanma bölgelerini içerisine alan düzenleyici bölge olmak üzere 3 farklı bölgenin birleşimini temel almaktadır (Bhardwaj ve Aggarwal, 2003; Cunha ve Mohler, 2009 ve Sorrentino, 2004). Spesifik ankirin çeşitlerinin hücre içerisinde Golgi aygıtı, lizozom gibi organeller ile bağlantılı oldukları ve dokuya spesifik izoformlarının bulunduğu tespit edilmiştir (Bagnato ve ark., 2003). Bazı ankirin çeşitlerinin kasta spesifik olarak sentezlendiği bilinmektedir (Cunha ve Mohler, 2009 ve Sorrentino, 2004). Bu ankirinlerin sarkoplazmik retikulumda Z diskleri ve M hattına spesifik bağlanma bölgeleri bulunmaktadır (Zhou ve ark., 1997). Sarkoplazmik retikulum membranı ile etkileşim halinde olan, iskelet kası dokusuna spesifik bu ankirinler, özellikle ankirin 1.5 olmak üzere ANK1 izoformlarıdır (Bagnato ve ark., 2003 ve Sorrentino, 2004). İnsanlarda kas dokusuna spesifik proteinlerde membran ve spektrin bağlanma bölgelerinin bulunmadığı, yalnızca apoptoz ile ilişkili düzenleyici bölgenin bulunduğu tespit edilmiştir (Gallagher ve ark., 1997; Gallagher ve Forget, 1998 ve Sorrentino, 2004). ANK1 geninden sentezlenen ankirin-R proteini için, Uluslararası Biyoteknoloji Bilgi Merkezi (National Center for Biotechnology Information: NCBI) verilerine göre, sığır ve insan arasında %95 homoloji bulunmaktadır.

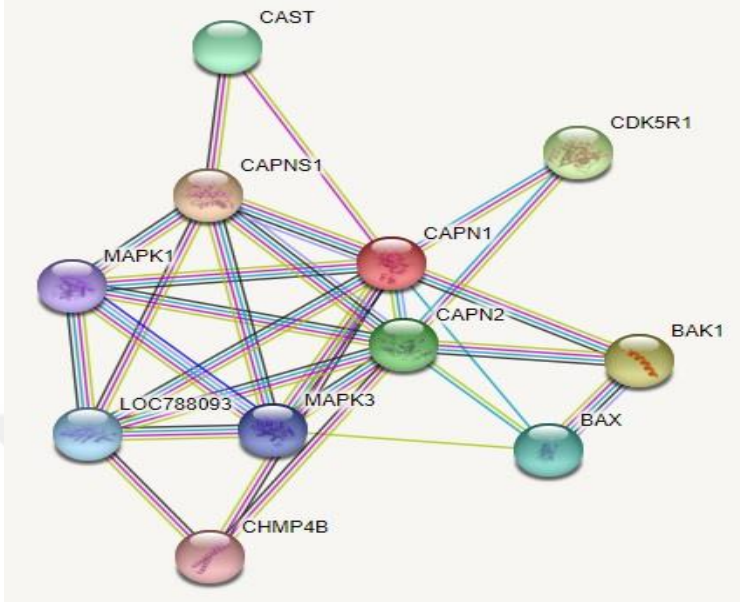
Sığırlarda ANK1 geni, 27. kromozom üzerinde bulunan 790 baz çifti uzunluğunda bir gendir ve birçok genle ilişki halindedir (Şekil 1.2). Wimmers ve ark., (2007) domuzlarda yapmış olduğu çalışma ile, ANK1 geninin et kalitesi ile ilişkili olabileceğine dair ilk kanıt ortaya konmuştur. Bu çalışmada ANK1 geni, su tutma kapasitesi ve pişirme kaybı gibi değerlerde anlamlı farklılık göstermiş ancak bu farklılığın proteinin lokasyonundan kaynaklı olarak et kalitesi ile ilişkili olmayabileceğinden bahsedilmiştir. Ancak bunu takip eden yıllarda Damon ve ark., (2013) domuzlarda yapmış oldukları çalışma da, ANK1 geninin domuzlarda et kalitesi için önemli bir belirteç olabileceği bilgisi paylaşılmıştır. Daha sonra Horodyska ve ark., (2015) tarafından yapılan çalışma, ANK1 SNP verilerinin et kalitesi ile ilişkili olduğunu göstermiştir. ANK1 proteini aynı zamanda, proteolizis açısından hassas bir proteindir ve calpain 1 proteininin ana hedeflerinden birisidir (Boivin ve ark., 1990).



Şekil 1.2. ANK1 geninin yakın ilişkili olduğu 10 gen.

Et kalitesini etkileyen en önemli faktörlerden bir diğeri kaslarda bulunan farklı miktarlardaki proteolitik enzimlerdir. Proteolitik sistemler arasında et kalitesini etkileyen ve etin gevrekliğinin, moleküler düzeyde belirlenmesinde, en etkili sistem ise calpain sistemidir (Giusti ve ark., 2013 ve Sacca ve ark., 2015). Calpain sisteminde çok sayıda proteaz ve proteaz inhibitörü bulunmaktadır (Şekil 1.3). Bunların en bilinen ve üzerinde en çok çalışılanı kalsiyum bağımlı proteazlardan olan mikro calpain (μ -calpain) diğer adı ile 28kDa'luk alt ünitesi ile birlikte CAPN1'dir. Calpain sistemine

bağlı olan ve calpain inhibitörü olarak görev yapan CAST ise en iyi karakterize edilmiş proteaz konumundadır ve çok sayıda izoformu bulunmaktadır (Goll ve ark., 2003).



Şekil 1.3. CAPN1 geninin yakın ilişkili olduğu 10 gen.

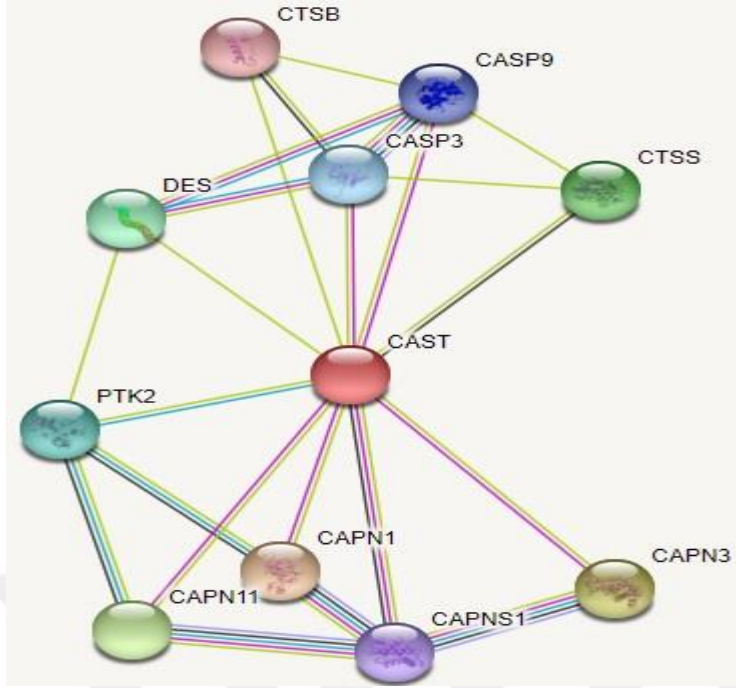
CAPN2, CAPN3 gibi diğer bazı calpainler et kalitesi ile ilişkilendirilmeye çalışılmışsa da alınan sonuçlar çelişkili görünmektedir. Bazı çalışmalar bu calpainlerin et kalitesine etki ettiğini ifade etse de (Piorkowska ve ark., 2014 ve Yang ve ark., 2012) diğer bazı çalışmalar bu genlerin post-mortem süreçte hiçbir etkisinin olmadığı hususunda sonuç bildirmiştir (Gandolfi ve ark., 2011 ve Geesink ve ark., 2005). Ancak CAPN1 ve CAST geni üzerinde yapılan SNP (Ciobanu ve ark., 2004; Corva ve ark., 2007; Meyer ve Beever 2008; Page ve ark., 2002; Ropka-Molik ve ark., 2017 ve Schenkel ve ark., 2006) ve gen ifadesi çalışmaları (Gagaoua ve ark., 2017a; Gandolfi ve ark., 2011; Muroya ve ark., 2012; Ropka-Molik ve ark., 2014; Sacca ve ark., 2015 ve Tang ve ark., 2010) bu genlerin genellikle post-mortem süreçte etkili olduğunu göstermiş ve buna bağlı olarak et kalitesi ile ilişkili olduğu düşünülmüştür (Geesink ve ark., 2006 ve Mazzucco ve ark., 2010).

Sığırlarda CAPN1 geni 24. kromozom üzerinde bulunan 2 255 baz çifti uzunluğunda bir gendir. Kas gelişiminde görevleri bulunan ve sistein proteaz μ -calpain grubuna dahil olan CAPN1, kalsiyum aktiviteli nötral proteaz olarak da bilinmektedir.

Vücutta apoptozis başta olmak üzere, koagülasyon, hücre proliferasyonu ve gelişim süreçlerinde (hücre bileşenleri ile mitokondrinin organizasyonu ve biyogenezi) görevleri bulunmaktadır (Guillemin ve ark., 2011a). Kas gelişiminde görevleri bulunmasının yanı sıra ölüm sonrası miyofibril proteinlerinin degregasyonunu da sağlamaktadır (Chung ve Davis, 2011 ve Shi ve ark., 2011). Bu genden sentezlenen proteinin, kas miyofibrillerinden desmin, spektrin, talin, vinculin, titin, troponin-T ve nebulini oldukça hızlı parçaladığı, troponin-I, filamin, C-protein, distrofin ve tropomiyozini yavaş parçaladığı, alfa-aktinin ve M proteini ise çok yavaş parçaladığı bilinmektedir. CAPN1 aynı zamanda sarkoplazmik proteinlerin parçalanmasını da sağlamaktadır (Goll ve ark., 1998).

CAPN1 proteinlerinin gevreklikle pozitif korelasyon gösterdiği düşünülmektedir (Guillemin ve ark., 2011a). Yapılan çalışmalar aynı zamanda, hem CAPN1 hem de CAST genlerinin, yalnızca gevreklik değerleri ile değil, renk değerleri ile de bağlantılı olduğunu belirtmektedir (Castro ve ark., 2016 ve Mazzucco ve ark., 2010).

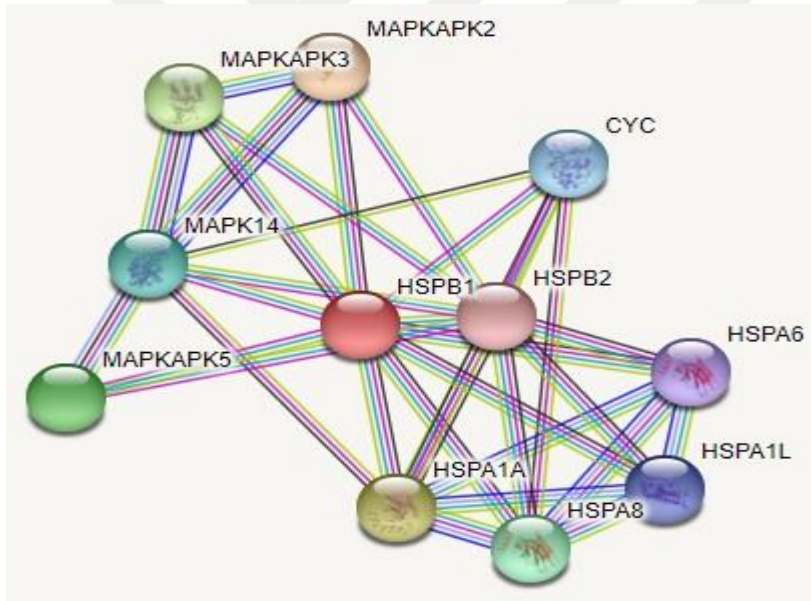
Calpain proteinlerinin inhibitörü olarak calpastatin proteinleri bulunmaktadır (Şekil 1.4). Bu protein sığırlarda 7. kromozom üzerinde bulunan 4 550 baz çifti uzunluğundaki CAST geninden ifade olmaktadır. Calpastatinin öncelikli hedefi iki proteolitik calpaini yani CAPN1 ve CAPN2'yi inhibe etmektir (Goll ve ark., 1998). Farelere gerçekleştirilen çalışma sonucunda calpastatinin aşırı seviyede ifade edilmesinin post-mortem proteolizisi yavaşlattığı bildirilmiştir. Aynı zamanda post-mortem dönemde calpainin calpastatini degrade ettiği de bildirilmiştir (Kent ve ark., 2004). Yapılmış olan çalışmalar neticesinde calpastatinin iki temel görevi olduğu söylenebilir. İlk olarak CAST, kas proteinlerindeki proteolitik aktiviteyi azaltarak kas gelişimini sağlamaktadır (Goll ve ark., 1998). İkincil olarak ise sığırlarda kesim sonrası post-mortem süreçte kaslarda calpain aktivitesini azaltmaktadır (Reardon ve ark., 2010). Bu görevleri dolayısıyla düşük gevreklik değerleriyle ilişkili olabileceği düşünülmektedir (Goll ve ark., 1998).



Şekil 1.4. CAST geninin yakın ilişkili olduğu 10 gen.

Et kalitesinin belirlenmesinde en çok incelenen diğer grup genler ise stres ilişkili genlerdir. Bu genler içerisinde de ısı şok proteinleri ön plana çıkmaktadır. HSP genleri gerek ökaryotik gerek prokaryotik organizmalarda yüksek oranda korunmuştur ve başta iskelet kasları olmak üzere çok sayıda dokuda sentezlenmektedir (Heck ve ark., 2012, b:5). Bu proteinler; protein denatürasyonu, hücre yaşlanması, oksidatif strese karşı apoptozu önleme ve proliferasyon gibi hücresel süreçlerde önemli görevleri olan şaperon proteinleridir. HSP şaperonları moleküler ağırlıklarına göre isim verilerek sınıflandırılmıştır. Bu nedenle HSP B ailesi 1. üyesi (Heat Shock Protein Family B Member 1: HSPB1) diğer adıyla HSP27 (27kDa) düşük moleküler ağırlığa sahip; HSP A ailesi 1A üyesi (Heat Shock Protein Family A Member 1A: HSPA1A) diğer adıyla HSP70 (70kDa) ise yüksek moleküler ağırlığa sahip proteinlerdir (Jeong ve ark., 2014). HSP proteinlerinin farklı izoformları olmakla birlikte, HSP27 proteininin en bilinen izoformu HSPB1 geninden, HSP70 proteini ise HSPA1A geninden sentezlenmektedir. İskelet kasında egzersize bağlı olarak ifadesi artan HSPB1 ve HSPA1A genleri, homeostazisin devamı için gerekli olan apoptozun inhibisyonunu ve hücre iskeletinin korunmasını sağlamaktadır (Gabai ve Sherman, 2002 ve Gagaoua ve ark., 2017a).

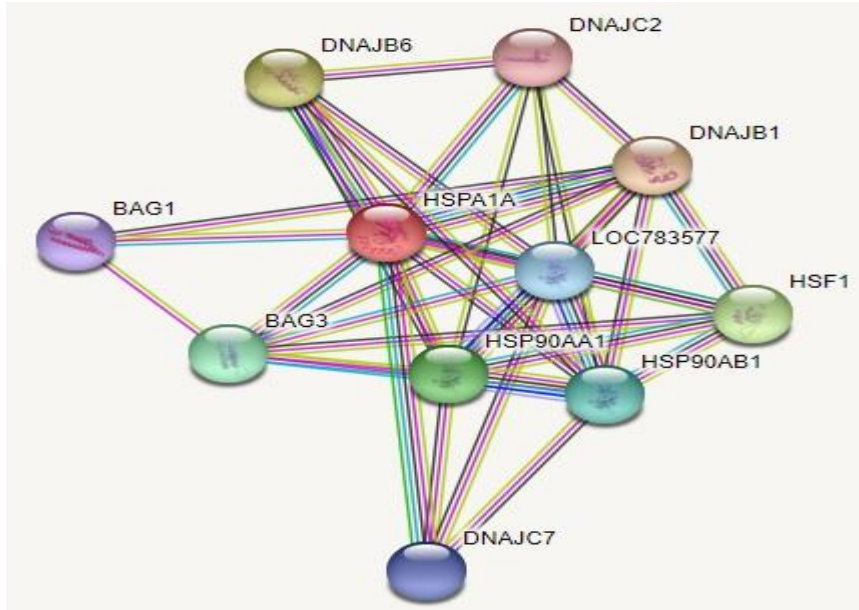
Sığırlarda HSPB1 geni, 25. kromozom üzerinde bulunan 853 baz çifti uzunluğunda bir gendir. HSP27'nin hücre içinde oldukça geniş bir görev dağılımı bulunmaktadır ve çok sayıda gen ile ilişki halindedir (Şekil 1.5). %37 oranında apoptozun regülasyonu, %14 oranında hücre içi transportun regülasyonu, %14 oranında translasyonel başlangıcın regülasyonu ve %14 oranında androjen sinyal yolağında görevleri bulunmaktadır (Guillemín ve ark., 2011a). Aynı zamanda strese karşı direnç ve aktin organizasyonunda da aktif rol aldığı bilinmektedir (Bernard ve ark., 2007 ve Carvalho ve ark., 2014). Ette HSPB1'in yüksek seviyede ifadesinin anti-apoptotik etkisi olduğu bilinmektedir. Bu nedenle yüksek seviyede HSPB1 gen ifadesinin, hücrelerin ölüm sürecine etki etmesi ile post-mortem süreçte etin gevrekliğini olumsuz yönde etkileyebileceği düşünülmektedir (Hocquette ve ark., 2009).



Şekil 1.5. HSPB1 geninin yakın ilişkili olduğu 10 gen.

HSPB1 geni için Pierzchala ve ark., (2014) domuzlarda yapmış olduğu çalışmada bu geni, su kaybı ve pH ile ilişkilendirmiş ancak gevreklikle ilişkilendirememiştir. Buna karşın sığırlarda yapılan bazı çalışmalar HSPB1'in gevreklik değerleri ile ilişkili olduğunu göstermektedir (Lim ve ark., 2012 ve Picard ve ark., 2014). Diğer yandan bu genin kasta yağ depolanması ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (Kim ve ark., 2011; Pierzchala ve ark., 2014 ve Sevane ve ark., 2014).

Sıgırlarda HSPA1A geni, 23. kromozom üzerinde bulunan 1 926 baz çifti uzunluğunda bir gendir. HSP27 proteininde olduğu gibi HSP70 proteininin de hücre içerisinde oldukça geniş bir görev dağılımı bulunmaktadır ve çok sayıda gen ile ilişki halindedir (Şekil 1.6). Bu proteinin görevlerini yüzde halinde ifade etmek gerekirse; metabolik süreçlere %15, apoptozun regülasyonunda %14, nükleik asitlerin metabolik aşamalarında %11 ve protein metabolik aşamalarında %11 şeklinde dağılmaktadır (Guillemín ve ark., 2011a). Protein taşınmasını kolaylaştırmak, yeni sentezlenen protein zincirlerinin yanlış katlanmasını önlemek ve protein denatürasyonuna karşı koruma, deoksiribonükleik asit (DNA) hasarına yanıt verme, genlerin posttranskripsiyonal regülasyonlarını sağlama ve apoptozun inhibisyonu da bu görevler arasındadır (Guillemín ve ark., 2011a ve Heck ve ark., 2012, b:5). HSP70 aynı zamanda, DnaJ HSP40 A1 üyesi [DnaJ Heat Shock Protein Family (Hsp40) Member A1: DNAJA1] tarafından sentezlenen ko-şaperon HSP40 tarafından regüle edildiğinden, DNAJA1'in HSPA1A ile paralel sonuçlar vermesi beklenmekteyse de, HSP40 hem HSP27 hem de HSP70'ten daha yüksek oranda ifade olmaktadır (Guillemín ve ark., 2011a; Jeong ve ark., 2014 ve Sacca ve ark., 2015). Bu kompleks aynı zamanda mitokondriyal translokasyonu sağlamakta ve kaslarda anti-apoptotik etkiye katkı yapmaktadır (Sacca ve ark., 2015). HSP70'in sahip olduğu bu anti-apoptotik özellikleriyle et kalitesine etki ettiği düşünülmektedir.



Şekil 1.6. HSPA1A geninin yakın ilişkili olduğu 10 gen.

HSP70'in HSPA1A gibi HSPA1B, HSPA9 gibi çeşitli izoformları da et kalitesi ile ilişkilendirilmektedir (Gagaoua ve ark., 2017a). HSP70 proteinleri stres anında çekirdekte, stresin olmadığı durumda ise sitoplazmada lokalize olmaktadır. HSP70 proteinlerinin bu karakterinin, su tutma kapasitesine etki edebileceği düşünülmektedir (Di Luca ve ark., 2011). Parkunan ve ark., (2017) domuz etindeki düşük su kaybını, yüksek HSPA1A gen ifadesini ile ilişkilendirmiştir. HSPA1A geninin, iyi gevreklik değerleri veren kaslarda düşük seviyede ifade olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Hamill ve ark., 2012 ve Zhao ve ark., 2012). Bununla birlikte Chulayo ve ark., (2016) sığırlarda, antrikot bölgesi ile çalışmış, HSPA1A gen ifadesinin tüm renk değerleri, pH ve gevreklik değerleri ile negatif korelasyon gösterdiğinden bahsetmektedir. Domuzlarda yapılan bir başka çalışmada ise HSPA1A geninin pH ile ilişkili olmadığı, yağlanma ve karkas ağırlığı ile ilişkili olduğu görülmüştür (Jin ve ark., 2006).

Kantitatif eş zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (Quantitative Real-Time Polymerase Chain Reaction: qPCR) uygulamalarında ilgilenilen genin ifade düzeyinin doğru olarak ölçülebilmesi için, çalışılan genin ifade düzeyi, değişmeyen bir diğer genin mRNA miktarı ile standardize edilmesi, diğer bir ifade ile normalize edilmesi gereklidir. Bu amaçla çeşitli doku ve hücre tiplerinde kullanılan ve ifadesi minimal farklılık gösteren referans genler kullanılmaktadır. Son yapılan çalışmalar referans genlerin bulundukları dokuya göre farklılık gösterebildiğini ortaya koymuştur (Vandesompele ve ark., 2002). Bu nedenle dokuya özgü referans genler incelenme altına alınmıştır. Perez ve ark., (2008) sığır kas dokusunda yaptıkları bir çalışmada 10 farklı referans genin kas dokusundaki stabiliteleri incelenmiştir. Bu çalışma, diğer çalışmalarda da sıklıkla kullanılmakta olan referans genlerden aktin-beta (ACTB) ve hidroksimetilbilan sentaz (HMBS) genlerinin sığır kas dokusunda oldukça stabil olduklarını ortaya koymuştur.

Bu araştırmanın ilk amacı, sığırlardaki bazı kas gruplarının neden daha kaliteli olduğu ile ilgili moleküler düzeyde verilerin ortaya konmasıdır. Hipotez; düşük seviyede ifadesi kalite ile ilişkilendirilmiş genlerin birinci kalite kaslarda diğer tüketime sunulan iskelet kaslarına oranla daha düşük seviyede ifade olmasını, yüksek

seviyede ifadesi kalite ile ilişkilendirilmiş genlerin ise birinci kalite kaslarda diğer tüketime sunulan iskelet kaslarına oranla daha fazla ifade olmasını önermektedir. Çalışmada; et kalitesi ile ilişkili olduğu düşünülen genlerden CAPN1, CAST, HSPB1 ve HSPA1A genleri çalışılmıştır. Bu genlerin, sığırlarda et kalitesinin belirlenmesinde gerçekten önemli olup olmadıklarının ortaya konulması hedeflenmektedir. Çalışmanın ikinci amacı henüz çalışmalarla desteklenmemiş ANK1 geninin, sığır karkasında farklı bölgelerdeki ifadesinin, etin kalitesi ile ilişkili olup olmadığının tespit edilmesidir. Çalışmanın üçüncü amacı, et kalitesinin belirlenmesinde hangi genlerin daha önemli olduğunu ortaya koymak ve kas bölgeleri arasındaki hem gıda parametreleri hem de gen ifadeleri yönünden farklılıkların belirlenmesini sağlamaktır. Bu farklılığın tespiti ile karşılaştırma amaçlı yapılan çalışmalarda, hangi iki karkas bölgesinin en uygun olacağı ve seçileceğine dair bilgi edinilmesi amaçlanmaktadır. Aynı zamanda, tek kas bölgesi üzerinden yürütülen et kalitesi çalışmalarında hangi kasın kullanılmasının en uygun olduğunun tespit edilmesi de amaçlanmıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Hayvan Seçiminde Kullanılan Gereç ve Yöntemler

Çalışma için etik raporu, “Ankara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu” 2016-5-41 numaralı kararı ile alınmıştır. Araştırmada Et ve Süt Kurumunun Uruguay’dan ithal etmiş olduğu, 1,5 yaşta, erkek, aynı çevrede yetişen, aynı sevkiyat numaralı, sığır etçi ırklarından 15 adet Angus (Aberden) kullanılmıştır. Hayvanlar taşıma sonrası 3 haftalık dinlenme periyodunda aynı rasyonla beslenmiş ve yapılan antemortem muayene sonucunda mezbaya sevk edilmiştir. Et ve Süt Kurumu Sincan Kombina Müdürlüğü tesislerinde, bir günlük dinlendirme sonrasında hayvanlar kesilmiştir. Örnek alımı kesimin hemen ardından gerçekleştirilmiştir. Örnekleme yapılırken hayvanların pasaportlarının fotoğrafları çekilmiş ve akrabalık derecelerinin düşük olmasına dikkat edilmiştir. Karkasın 12 farklı bölgesinden; gerdan (B1) için *m. brachiocephalicus*, antrikot (B2) için *m. longissimus thorasis*, kontrafile (B3) için *m. longissimus lumborum*, nuar (B4) için *m. semitendinosus*, bonfile (B5) için *m. psoas major*, kontranuvar (B6) için *m. biceps femoris*, arka bacak (B7) için *m. extensor digitorum*, yumurta (B8) için *m. quadriceps femoris*, pençeta (B9) için *m. rectus abdominis*, döş (B10) için *m. pectoralis profundus*, kürek (B11) için *m. infraspinalis* ve ön bacak (B12) için *m. extensor carpi* kaslarından örnekler alınmıştır (Akol ve ark., 1988 ve Kahvecioğlu ve Gökçe, 1995) (Şekil 2.1). İkinci kalite kas bölgelerinin tamamını temsilen daha önceki çalışmalarda sıklıkla kullanılan nuar, kontranuvar ve yumurta bölgelerinden örnekleme yapılmıştır. Et kalite analizleri için 230 gram (gr), moleküler analiz için 10 gr ve histolojik analizler için 10 gr olmak üzere toplam 250 gr örnek alımı gerçekleştirilmiştir. 15 hayvanın 12 farklı bölgesinden toplam 180 örnek ve beş adet deneme örneği olmak üzere toplamda 185 örnek alınmıştır.

Alınan örnekler aynı gün içerisinde Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarına ve gıda analizleri için İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Besin / Gıda Hijyeni Teknolojisi Bölümü laboratuvarlarına ulaştırılmıştır.

1. Kalite

Bölge 2 - **Antrikot**: *m. longissimus thoracis*

Bölge 3 - **Kontrafile**: *m. longissimus lumborum*

Bölge 5 - **Bonfile**: *m. psoas major*

2. Kalite

Bölge 4 - **Nuar**: *m. semitendinosus*

Bölge 6 - **Kontranuar**: *m. biceps femoris*

Bölge 8 - **Yumurta**: *m. quadriceps femoris*

3. Kalite

Bölge 1 - **Gerdan**: *m. brachiocephalicus*

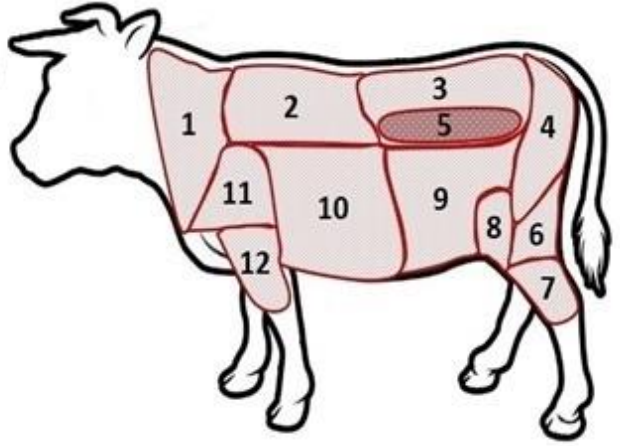
Bölge 7 - **Arka Bacak**: *m. extensor digitorum*

Bölge 9 - **Pençeta**: *m. rectus abdominis*

Bölge 10 - **Döş**: *m. pectoralis profundus*

Bölge 11 - **Kürek**: *m. infraspinatus*

Bölge 12 - **Ön Bacak**: *m. extensor carpi*



Şekil 2.1. Örneklem yapılan karkas bölümleri.

2.2. Gıda Analizlerinde Kullanılan Gereç ve Yöntemler

2.2.1. Gevreklik Analizi

Gevrekliğin tayini için kaslardan alınan numunelere yapılacak olan tekstür analizlerinde Warner-Bratzler Shear Force cihazı kullanılmıştır. Bu analiz 100°C'deki su banyosunda 10 dk pişirilen etler ile gerçekleştirilmiştir. Bu etlerden kas liflerine paralel olacak şekilde 1x1 santimetre (cm) kesitinde ve 3 cm uzunluğunda altışar örnek alınmıştır. Her bir örnek için Warner-Bratzler bıçağının kesmesi sırası uygulanan en yüksek kuvvet [kilogram (kg)/cm²] ve kuvvet x zaman grafiği bilgisayara kaydedilerek ölçümler gerçekleştirilmiştir (Vergara ve ark., 2005).

2.2.2. Pişirme Kaybı Analizi

Pişirme kaybı analizi için 50 gr kas numunesi ayrılarak 100°C'deki su banyosunda 10 dk pişirilmiştir. Pişirme işlemi sonrası kas örnekleri kurutulmuş ve tartım yapılmıştır. Daha sonra formülasyonda yerine konularak hesaplamaları gerçekleştirilmiştir. Pişirme kaybı formülasyonu “100 - 100 x pişirdikten sonra ağırlık / ham etin ağırlığı” şeklindedir (Vergara ve Gallego, 2000).

2.2.3. Su Tutma Kapasitesi Analizi

Su tutma kapasitesi ölçümü için, alınan et örnekleri kıyıldıktan sonra kurutulmuş ve süzgeç kağıdı üzerinde örnek başına yaklaşık 300 miligram (mg) olacak şekilde tartılmıştır. Daha sonra örnek ve süzgeç kağıdı pleksiglas plakalar arasına konulmuştur. Cam plakalar üzerine 1 kg'lık ağırlık yerleştirilerek 20 dk süreyle beklenmiştir. Sürenin sonunda ağırlık alınıp süzgeç kağıdı çıkarılmıştır. Süzgeç kağıdı üzerinde gözlenen dairelerin alanı milimetrik kağıtlar ile hesaplanmıştır (Vural ve Oztan, 1996). Su tutma kapasitesi her değer 100'den çıkarılarak hesaplanmıştır.

2.2.4. Et Rengi Ölçümü

Et rengi ölçümü için L, a, b sistemi ile ölçüm yapan, bilgisayar bağlantılı chromometer kullanılmıştır. Bu sistemde yapılan ölçümlerde üç temel renk parametresi (L=parlaklık, a=kırmızı, b=sarı) rakamsal olarak belirlenmiştir. Parlaklık için ölçüm aralığı 0 ile 100 arasında değişmekte olup 0 değeri siyahı, 100 değeri ise beyazı karşılamaktadır. Kırmızı ve sarı renk indeksi için ise, ölçüm aralığı -60 ile +60 arasında değişmektedir. Kırmızı renk indeksinde düşük değerler daha yeşili, yüksek değerler daha kırmızıyı ifade ederken; sarı renk indeksinde düşük değerler daha maviyi, yüksek değerler ise daha sarıyı karşılamaktadır. Her bir renk ölçümünde alınan numunenin kesit yüzeyinin yağsız bölümünden chromometer aracılığı ile beş ölçüm yapılmış ve elde edilen sonuçların ortalaması alınmıştır (Bayraktaroğlu ve Kahraman, 2011 ve Hunt ve King, 2012).

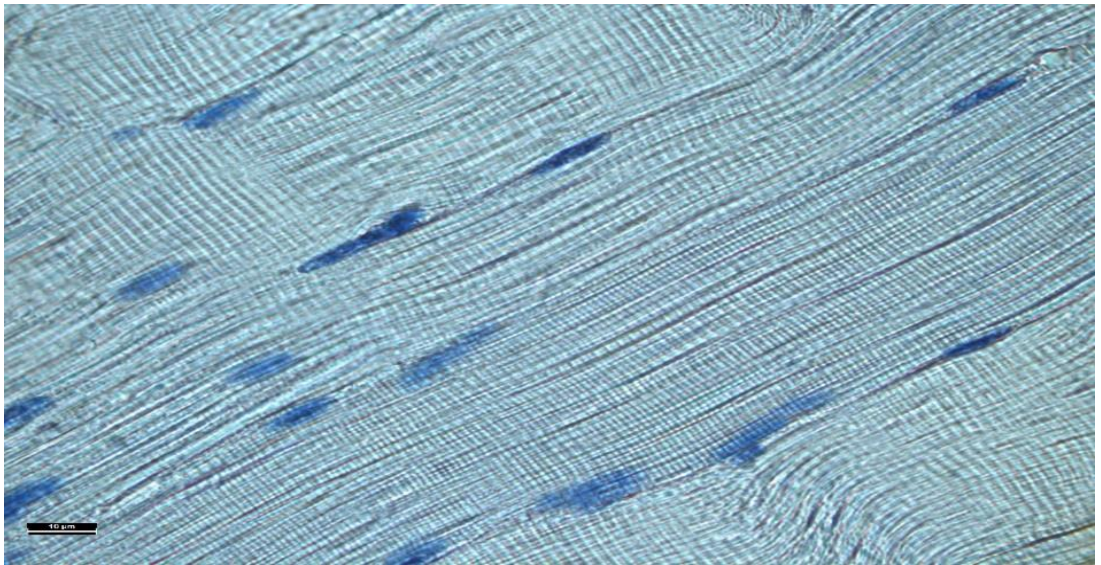
Saturasyon indeksleri $(a+b)^{1/2}$ formülü kullanılarak, renk açısı değeri $\arctan(b/a)$ formülü kullanılarak, delta E değeri ise $[(L)^2+(a)^2+(b)^2]^{1/2}$ formülü kullanılarak hesaplanmış ve ortalamaları alınarak sonuca ulaşılmıştır (Hunt ve King, 2012).

2.2.5. pH-Sıcaklık Tayini

pH-sıcaklık tayini için kasların üst yüzeyinden örnekler alınmış, 24. saatte örneklerin merkezinden pH ve sıcaklık ölçümleri yapılmıştır. Sıcaklık ölçümünde, dijital termometre (Thermolab), pH ölçümünde ise HI9321 (Hanna) elektro pH metre kullanılmıştır. Termometre ve pH metrenin elektrotları merkeze yakın üç farklı noktaya sokularak değerler tespit edilmiş ve üç değerın ortalaması alınmıştır (İnal, 1995).

2.3. Histoloji Analizinde Kullanılan Gereç ve Yöntemler

Sarkomer uzunluğunun belirlenmesi amacıyla kesimi takiben alınan 1 cm³ büyüklükte dokular %10 tamponlu formol solüsyonuna alınmış, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embrioloji Laboratuvarında rutin histolojik prosedür uygulandıktan sonra dokular parafine gömülerek bloklar elde edilmiştir. Hazırlanan bloklardan alınan kesitlere hematoksilin boyaması yapılmış (Crossmon, 1937), DFC2500 Leica araştırma mikroskobunda fotoğrafları çekilmiştir (Şekil 2.2). Örneklerden subjektif olarak 10 farklı sarkomer uzunluğu ölçümü yapılmış ve ortalamaları alınarak değerlendirilmiştir.



Şekil 2.2. Kas dokusundan çekilen fotoğraf örneği.

2.4. Genetik Analizlerde Kullanılan Gereç ve Yöntemler

2.4.1. Örneklerin Taşınması

Genetik analizlerde kullanılacak örnekler kesimi takiben steril Biopsy Punch yardımı ile 12 farklı bölgenin orta noktasından alınmış ve RNA Later solüsyonu (Qiagen) içerisine aktarılmıştır. Örneklerin muhafazası bu solüsyon içerisinde olmuştur. RNA Later içerisinde Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı laboratuvarına ulaştırılan örnekler +4°C dolaba yerleştirilmiştir.

2.4.2. RNA İzolasyonu

Tüm örneklerin izolasyonu fenol ve guanidin tiyosiyanat kullanımını temel alan Qiazol Lysis Reagent (Qiagen) protokolüne göre Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Hücre Kültürü Laboratuvarında çalışılmış, dokuların homojenizasyonunda firmadan temin edilen Tissue Lyser LT (Qiagen) cihazı ve 5 milimetre (mm) “Stainless Steel Bead”ler (Qiagen) kullanılmıştır. Alınan örneklerin izolasyonu, örnek alımından sonra bir hafta içerisinde gerçekleştiğinden, RNA Later’da saklanan örneklerin dondurulmasına gerek duyulmamıştır.

Protokole göre izolasyonu yapılacak her örnek için bir adet 2 mikrolitre (µl)’lik tüpün içerisine bir adet 5 mm “Stainless Steel Bead” ve 1 mililitre (ml) Qiazol Lysis Reagent eklenmiştir. Dokular RNA Later içerisinden lam üzerine alınarak 50 mg kesilmiş ve 2 µl’lik tüpün içerisine ilave edilmiştir. Daha sonra 2 µl’lik tüpler Tissue Lyser LT cihazı içerisine konulmuş ve 5 dk + 5 dk + 2 dk olmak üzere toplam 12 dk doku sıvı içerisinde tamamen parçalanıncaya kadar homojenize edilmiştir. Tüpler her duraklamada kontrol edilmiş örnekler tamamen parçalanıncaya kadar homojenizasyona devam edilmiştir. Homojenizasyon işlemi 50 salınım değerinde

yapılmıştır. Homojenizasyon sonrası örnekler 5 dk oda sıcaklığında bekletilmiş ardından her örneğe 200 µl kloroform eklenmiş ve 15 saniye (s) elle altüst edilmiştir. Oda sıcaklığında 3 dk beklendikten sonra +4°C ve 12 000 g kuvvetinde (G Force: g) 15 dk santrifüj uygulanmıştır. Üstte ortaya çıkan ve RNA'yı da içeren saydam kısım yeni 1,5 ml'lik tüplere aktarılmıştır. Bu aşamada ortadaki beyaz fazın alınması DNA ve alttaki kırmızı fazın alınması organik madde kontaminasyonuna sebep olabileceğinden sadece üst fazın alınmasına dikkat edilmiştir. Yeni 1,5 µl'lik tüplerin her birinin içerisine 500 µl izopropil alkol eklenmiş ve vorteks spin uygulanarak 10 dk oda sıcaklığında beklenmiştir. Daha sonra +4°C ve 12 000 g'de 10 dk santrifüj uygulanmıştır. Dipte kalan peletin hareket ettirilmemesine dikkat dikkat edilerek tüm süpernatant faz çekilmiştir. Her tüpün içerisine 1 ml %75 alkol pipetaj yapılarak ilave edilmiş daha sonra +4°C ve 7 500 g'de 5 dk santrifüj uygulanmıştır. Son olarak tüplerin içerisindeki alkol tamamen çekilmiş ve tüpler 15 dk kapağı açık şekilde kurumaya bırakılmıştır. Dipte kalan peletin sadece RNA içerdiği bilindiğinden üzerine 50 µl RNase Free Water pipetaj yapılarak ilave edilmiş ve RNA stokları hazır hale getirilmiştir.

RNA stokları izolasyonu takiben komplementer DNA (complementary DNA: cDNA) eldesine kadar hemen - 80°C dolaba alınmıştır. Kalan doku parçaları da tekrar ihtiyaç duyulması durumunda kullanılabilmek üzere RNA Later içerisinde -80°C'de saklanmıştır.

2.4.3. Total RNA Kalite ve Kantite Analizi

İzole edilen örneklerin, total RNA kalite ve kantitesi Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Genetik Anabilim Dalında bulunan NanoDrop ND2000 spektrofotometri cihazı ile 230, 260 ve 280 nanometre dalga boylarındaki oranlarına bakılarak değerlendirilmiştir. Ölçümler her örnek için 2 µl RNA kullanılarak yapılmıştır. Analizlerde 260/280 oranının 1,8 ile 2 aralığında olmasına dikkat edilmiştir.

RNA bütünlükleri bazı örneklerin %1'lik agaroz jel elektroforez görüntüleri ile ortaya konmuştur. Bunun için; 1 gr agaroz tartılarak 100 ml 1X Tris Asetat Etilendiamin tetra asetik asit (TAE) içinde homojen bir görünüm alması beklenerek mikrodalga fırında eritilmiştir. Agaroz TAE karışımı, ılık su altında yaklaşık olarak 60°C'ye kadar soğutulmuş daha sonra 15 µl Etidyum Bromür (EtBr) (5mg/ml) eklenerek, köpürtmeden karıştırılmıştır. Agaroz jel tarak içeren jel kasedine dökülmüş ve 30 dk donması beklenmiştir. Süre sonunda tarak jelden çıkartılmış ve jel, TAE içeren elektroforez tankı içerisine alınmıştır. Yükleme de 5 µl RNA, 5 µl yükleme boyası kullanılmıştır. Elektroforez 100 voltta 30-45 dk içerisinde tamamlanmıştır. Agaroz jellerin hazırlanmasında 100 ml TAE içerisinde %1'lik jel için 1 gr, %2'lik jel için 2 gr agaroz çözündürülmüştür.

2.4.4. DNase Uygulaması

Çalışmada kullanılmış olan ACTB ve tek ekzonlu HSPA1A geninin ekzon-ekzon bağlantısı bulunmadığından örneklerin çalışılabilmesi ve olası DNA kontaminasyonundan arındırılabilmesi amacıyla bu genler için ikinci bir cDNA eldesi ve öncesinde DNase uygulaması gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla DNase-I kiti (Thermo Scientific) protokole uygun olarak kullanılmıştır. Her bir örnek için 16 µl RNA, 2 µl DNase-I enzimi ve 2 µl MgCl₂ içerikli 10X Reaction Buffer, 200 µl'lik tüplerin içerisine konulmuştur. Örnekler 37°C'de 30 dk süreyle inkübe edilmiş daha sonra her bir örneğin üzerine 2 µl 50 mM etilendiamin tetra asetik asit (EDTA) ilave edilerek 65°C'de 10 dk daha inkübe edilmiştir. Bu işlem sonrası örneklerin cDNA eldesine geçilmeden önce tekrar spektrofotometrik ölçümler yapılmıştır. Bu sayede DNase uygulamasının sebep olduğu dilüsyona bağlı, değişen oranlara uygun olarak, RNA sulandırması gerçekleştirilebilmiştir.

2.4.5. cDNA Eldesi

cDNA eldesi için iScript cDNA sentez kiti (BioRad) kullanılmış ve protokole uygun olarak cDNA eldesi gerçekleştirilmiştir. Total hacim DNase uygulanan örnekler için 20 µl, DNase uygulanmayan örnekler için 40 µl olarak belirlenmiştir. Elde edilen RNA örnekleri 250 nanogram (ng) / 1 µl yoğunluğunda nükleaz içermeyen su ile sulandırılmış veyahut cDNA karışımı hazırlanırken 500 ng/µl için 2 µl RNA, 200 µl'lik tüplere eklenmiştir. Total hacmin 20 µl olduğu örneklerde 4 µl 5x iScript Reaction Mix, 1 µl iScript Reverse Transcriptase kullanılmış nükleaz içermeyen su ve RNA oranları uygun olarak ayarlanarak 20 µl'ye tamamlanmıştır. Total hacmin 40 µl olduğu örneklerde 8 µl 5x iScript Reaction Mix, 2 µl iScript Reverse Transcriptase kullanılmış, nükleaz içermeyen su ve RNA oranları uygun olarak ayarlanarak 40 µl'ye tamamlanmıştır.

Hazırlanan karışımlar Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Genetik Anabilim Dalında bulunan, C1000 ısı döngü cihazına (BioRad) konulmuş ve protokole uygun olarak sırasıyla 25°C'de 5 dk, 42°C'de 30 dk, 85°C'de 5 dk bekletilerek cDNA eldesi gerçekleştirilmiştir. Deneme örneklerinden elde edilen cDNA'lar çalışmada kullanılacak olan primerler ile test edilmiştir. Ekzon-ekzon bağlantısına sahip genlerin %2'lik agaroz jellerdeki görüntülerinin pozitif sonuç vermesi cDNA kitinin başarı ile çalıştığını ortaya koymuştur.

2.4.6. Primerler

Optimizasyonlar Ankara Etlik Veteriner Kontrol Araştırma Enstitüsü laboratuvarlarında bulunan, gradient özelliğe sahip ısı döngü cihazında (BioRad) yapılmıştır. Primerlerin uygun bağlanma sıcaklık değerleri bulunduktan sonra her gen için deneme qPCR'ı kurulmuş örnekler %2'lik jelde görüntülerek doğru bölgelerin yükseltgendiği belirlenmiştir.

Tasarlanmış olan primerlerin dizaynında pearl primer (Marshall, 2004), NCBI Primer Blast ve idtDNA (Idtdna, 2018) programlarından yararlanılmıştır. Geçmiş literatürlerden alınan ve tasarlanan primerler ile birlikte yedi genin her biri için başarıyla çalışan primer çiftleri elde edilmiştir (Çizelge 2.1; Çizelge 2.2). Primerlerin spesifiteleri ve amplikon bilgileri NCBI GenBank’tan alınan veriler üzerinden değerlendirilmiştir. Primer sentezi ticari şirketler aracılığıyla yapılmıştır. Referans gen olarak ACTB ve HMBS genleri kullanılmıştır (Perez ve ark., 2008).

Çizelge 2.1. Çalışmada kullanılan primerlere ait diziler.

Gen	İleri Primer	Geri Primer	Referans
ANK1	TGACAGAGGAGCATTTACAG	GACTTTGCGAACGATCTTCTTGG	Tasarlandı
CAPN1	CATCAGCAAACACAAAGACCT	CCATCCGCATTTCATAGGCA	Tasarlandı
CAST	CACAGAAGCCAAGGCTATTCC	TTTACAGCCTGTTTTTGTGTCTTTTC	Sacca ve ark., 2015
HSPB1 (HSP27)	CGTTGCTTCACTCGCAAATA	TACTTGTTTCCGGCTGTTTCG	Sacca ve ark., 2015
HSPA1A (HSP70)	AACAAGATCACCATCACCAACG	TCCTTCTCCGCCAAGGTGTTG	Sacca ve ark., 2015
ACTB	ACTTGCGCAGAAAACGAGAT	CACCTTCACCGTCCAGTTT	Lin-Giang ve ark., 2011
HMBS	GTTTCGAGCCAAAGACCAGGA	CCAGTCAGGTACAGTTGCC	Ashish ve ark., 2017

Çizelge 2.2. Çalışmada kullanılan primer çiftlerinin verileri.

Gen	Bağlanma Sıcaklığı	Amplikon Uzunluğu	NCBI GenBank Kodu	Ekzon Bağı
ANK1	63°C	65	XM_010820355	Var
CAPN1	64°C	209	NM_174259	Var
CAST	60°C	87	NM_001030318	Var
HSPB1 (HSP27)	60°C	211	NM_001025569	Var
HSPA1A (HSP70)	63°C	275	NM_203322	Yok
ACTB	60°C	121	NM_173979	Yok
HMBS	64°C	170	NM_001046207	Var

2.4.7. qPCR Analizleri

İncelenecek olan genlerin ifade seviyeleri SYBR Green bazlı qPCR tekniği kullanılarak belirlenmiştir. Tüm primerler optimize edildikten sonra elde edilmiş olan cDNA'ların qPCR analizleri Bilkent Üniversitesi THOR laboratuvarlarında bulunan Stratagene Mx3005P (Agilent) qPCR cihazı ile, DyNamo ColorFlash SYBR Green qPCR Kit (Thermo Scientific) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Tüm genlerde beklenen ampikon uzunluklarının olduğu tespit edildikten sonra ilgili genler için sentezlenen primerler, mesajcı RNA (mRNA) seviyelerinin incelenmesi, dolayısı ile gen ifadesinin tespiti amacıyla 12 farklı kas bölgesinde tüm örneklerle uygulanmıştır.

Kit protokolü her örnek için 5 µl Master Mix, 3,5 µl nükleaz içermeyen su, 0,25 µl İleri primer, 0,25 µl Geri primer ve 1 µl cDNA kullanılarak total hacim 10 µl'ye optimize edilmiş ve çalışılmıştır.

Hazırlanan karışımlar qPCR cihazında sırasıyla 95°C'de 15 dk, 40 döngü tekrarlamak üzere 95°C'de 15 s, 60-64°C'de 20 s ve süre sonunda eş zamanlı görüntüleme, 72°C'de 15 s, döngü tamamlandıktan sonra 95°C'de 60 s, 60°C'de 30 s, süre sonunda 20 dk içerisinde 0,5°C arttırılarak 95°C'ye ulaşana kadar eş zamanlı görüntüleme ile erime eğrisi analizi ve 95°C'de 30 s ile protokol tamamlanmıştır (Çizelge 2.3).

Çizelge 2.3. qPCR çalışma protokolü.

Sıcaklık	Süre	
95°C	15 dk	
95°C	15 s	X 40 Döngü
60-64°C	20 s	
72°C	15 s	
95°C	60 s	
60°C	30 s	
60°C → 95°C 0,5°C arttırılarak		Erime Eğrisi
95°C	30 s	
4°C	∞	

Erime eğrisi analizleri sonucunda örneklerde, primer-dimerleri ve non-spesifik yükseltelerin oluşmadığı yalnızca tek bir yükselti olduğu gözlemlenmiştir. Her örnek ve her gen için üç teknik replika uygulanmıştır. Bu bağlamda 180 örnek ve yedi gen için toplamda 3 780 qPCR analizi gerçekleştirilmiştir.

2.5. İstatistiksel Analizler

Gıda analizleri ve genlerin tamamı Shapiro-Wilk ve Kolmogorov-Smirnov normalite testleri ile, Levene istatistikleri uygulanarak varyansların homojenliği testlerine tabi tutulmuştur (SPSS, 2006).

Gıda ve histoloji analizlerinde bölgelere göre değerlerin ortalamaları alınmış ve standart hataları hesaplanmıştır. Kas bölgeleri arasında ve kalite grupları arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığı ise tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile ortaya konmuştur. Farklılığın anlamlı olduğu gruplarda ileri aşama (post-hoc) testlerden Tukey HSD uygulanmıştır (SPSS, 2006). Verilere ilişkin tanımlayıcı istatistikler ise aritmetik ortalama $\pm$ standart hata (SH) şeklinde tablo içerisinde gösterilmiştir.

Genetik analizlerde, relatif gen ifadesi farklılıkları Livak ve Schmittgen (2001) tarafından tasarlanan metod uyarınca $2^{-\Delta\Delta C_t}$ formülü ile hesaplanmıştır. Referans genlerin normalizasyonda kullanılmaları için geometrik ortalamaları hesaplanmıştır (Vandesompele ve ark., 2002). Relatif gen ifadesi farklılığının hesaplanması amacı ile referans genler için en yüksek Ct (threshold cycle) yani en düşük gen ifadesi değerine sahip olan bir numaralı bölge kalibratör olarak seçilmiştir (Giusti ve ark., 2013; Wang ve ark., 2016 ve Zheng ve ark., 2011). Et kalitesi ile ilişkili olduğu düşünülen beş gen için normalizasyon işlemi gerçekleştirilmiştir (Livak ve Schmittgen, 2001). Kas bölgeleri arasında ve kalite grupları arasında gen ifadesi yönünden anlamlı farklar olup oluşmadığı ANOVA ile tespit edilmiştir (SPSS, 2006). Farklılığın anlamlı bulunduğu grupların analizinde, post-hoc testlerden Tukey HSD yönteminden

faýdalanılmıştır (Aslan ve ark., 2012 ve Muroya ve ark., 2012). Verilere ilişkin tanımlayıcı veriler $2^{-\Delta\Delta C_t} \pm$ standart hata (SH) şeklinde tablo içerisinde gösterilmiştir.

Kas grupları arasında, gen ifadesi ve gıda parametleri yönünden gerçekleştirilen korelasyon analizlerinde Pearson korelasyon katsayısı yöntemi kullanılmıştır (SPSS, 2006). İstatistiksel analizlerin gerçekleştirilmesinde SPSS 14.01 (Lisans No: 9869264) programı kullanılmıştır.

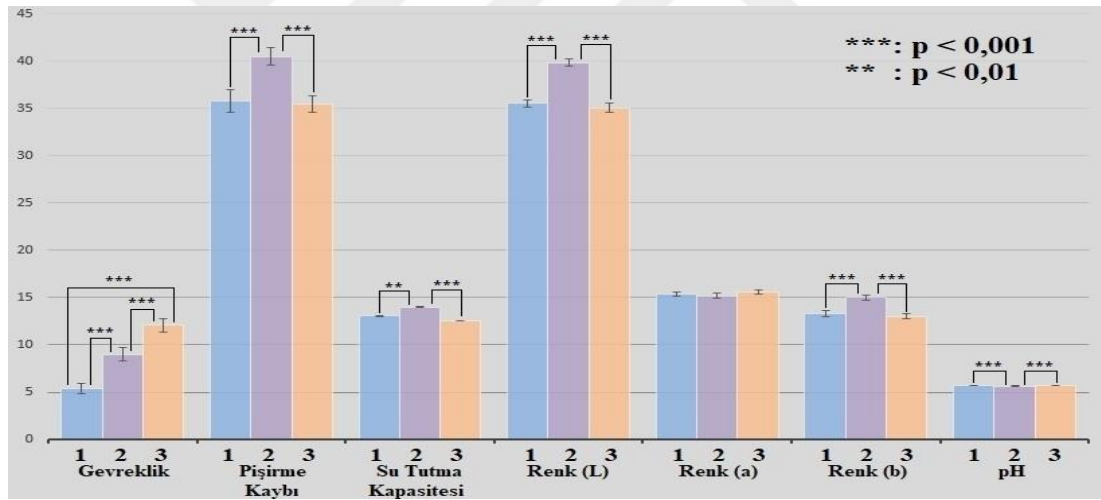


3. BULGULAR

3.1. Gıda Analiz Bulguları

Sıcaklık ve renk (a) değeri hariç tüm gıda analizlerinde, kaliteye dayalı grup ortalamaları arasında anlamlı farklılıklar bulunmuştur. Sıcaklık tüm bölgelerde 18°C-19,5°C olarak ölçülmüştür.

Piştirme kaybı, su tutma kapasitesi, pH, renk (L), ve renk (b) değerleri arasındaki farklılıklar birinci ve üçüncü kalite kaslar arasında gözlemlenmemiştir (Şekil 3.1; Çizelge 3.1). Gıda analizlerinde hiçbir değer, kaliteye göre sınıflandırılmış üç kas grubunda, diğer gıda analiz sonuçları ile korele olmadığı görülmektedir (Çizelge 3.2; Çizelge 3.3; Çizelge 3.4).



Şekil 3.1. Birinci, ikinci ve üçüncü kalite kas grupları arasındaki gıda analiz değerleri farklılıkları.

Çizelge 3.1. Kalite gruplarına göre gıda analiz değerleri farklılıkları (ortalama±SH).

Kalite	Gevreklik	Piştirme Kaybı	Su Tutma Kapasitesi	Renk (L)	Renk (a)	Renk (b)	pH
1	5,340±0,54 ^a	35,765±1,18 ^a	13,071±0,04 ^a	35,532±0,36 ^a	15,353±0,22	13,329±0,31 ^a	5,728±0,014 ^b
2	9,020±0,69 ^b	40,504±0,95 ^b	13,967±0,05 ^b	39,835±0,36 ^b	15,205±0,29	14,995±0,22 ^b	5,651±0,009 ^a
3	12,106±0,70 ^c	35,444±0,83 ^a	12,532±0,03 ^a	35,080±0,50 ^a	15,602±0,24	13,032±0,26 ^a	5,740±0,009 ^b

^{a,b,c}: Aynı sütunda farklı harfler taşıyan değerler arasında istatistiksel anlamda farklılık bulunmaktadır (p < 0,05).

Çizelge 3.2. Birinci kalite kaslarda gıda analizlerinin gıda analizleri ile korelasyonları.

	SF	CL	WHC	Renk (L)	Renk (a)	Renk (b)	pH	SL
SF	1	-0,290	-0,010	0,538**	0,030	0,125	-0,260	-0,060
CL		1	0,582*	-0,168	0,220	-0,076	-0,366*	-0,541*
WHC			1	0,195	0,415	0,094	-0,803**	-0,806**
Renk (L)				1	0,176	0,451**	-0,037	-0,497
Renk (a)					1	0,509**	-0,507**	-0,363
Renk (b)						1	-0,066	-0,089
pH							1	0,613*
SL								1

SF: Gevreklik; CL: Pişirme Kaybı, WHC: Su Tutma Kapasitesi; SL: Sarkomer Uzunluğu, ifade etmektedir.

***: $p < 0,01$; *: $p < 0,05$ ifade etmektedir.

Çizelge 3.3. İkinci kalite kaslarda gıda analizlerinin gıda analizleri ile korelasyonları.

	SF	CL	WHC	Renk (L)	Renk (a)	Renk (b)	pH	SL
SF	1	-0,322	0,316	0,045	0,198	0,006	0,125	-0,121
CL		1	0,523	0,334*	-0,092	0,195	-0,218	0,179
WHC			1	0,830**	-0,128	0,410	-0,482	-0,238
Renk (L)				1	-0,473**	0,538**	-0,456**	0,079
Renk (a)					1	0,168	0,329*	-0,360
Renk (b)						1	-0,419*	-0,112
pH							1	-0,109
SL								1

SF: Gevreklik; CL: Pişirme Kaybı, WHC: Su Tutma Kapasitesi; SL: Sarkomer Uzunluğu, ifade etmektedir.

***: $p < 0,01$; *: $p < 0,05$ ifade etmektedir.

Çizelge 3.4. Üçüncü kalite kaslarda gıda analizlerinin gıda analizleri ile korelasyonları.

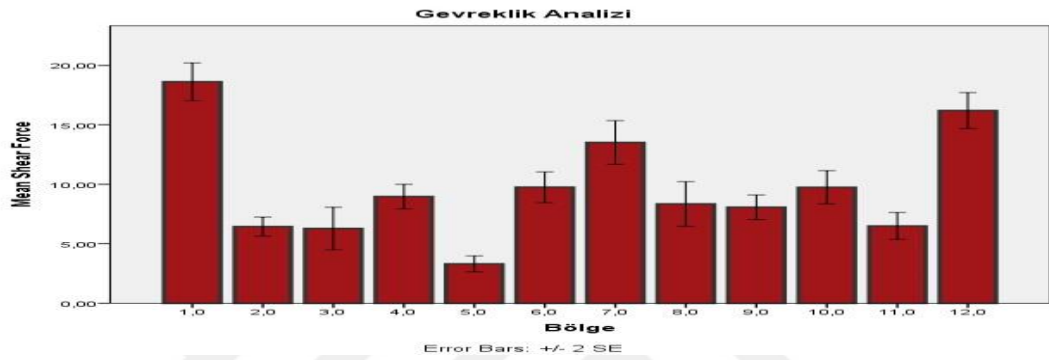
	SF	CL	WHC	Renk (L)	Renk (a)	Renk (b)	pH	SL
SF	1	-0,107	0,461*	-0,105	0,342**	0,061	0,623**	-0,183
CL		1	0,361	0,072	-0,109	0,154	-0,151	0,095
WHC			1	0,371	0,200	0,126	0,087	0,367
Renk (L)				1	-0,137	0,222	-0,272*	0,450**
Renk (a)					1	0,387**	0,024	-0,047
Renk (b)						1	-0,273*	0,056
pH							1	-0,093
SL								1

SF: Gevreklik; CL: Pişirme Kaybı, WHC: Su Tutma Kapasitesi; SL: Sarkomer Uzunluğu, ifade etmektedir.

***: $p < 0,01$; *: $p < 0,05$ ifade etmektedir.

3.1.1. Gevreklik Analizi

Gevreklik (SF) analizinin sonucunda gruplar arasında anlamlı farklılıklara rastlanmıştır, bu farklılıkların birinci kalite ve üçüncü kalite kas grupları arasında olduğu ortaya konmuştur (Çizelge 3.1; Şekil 3.1; Şekil 3.2; Şekil 3.3). Kas bölgeleri arasında, istatistiksel anlamda en büyük farklılığın gerdan (B1) ve bonfile (B5) bölgeleri arasında olduğu görülmektedir (Çizelge 3.5).



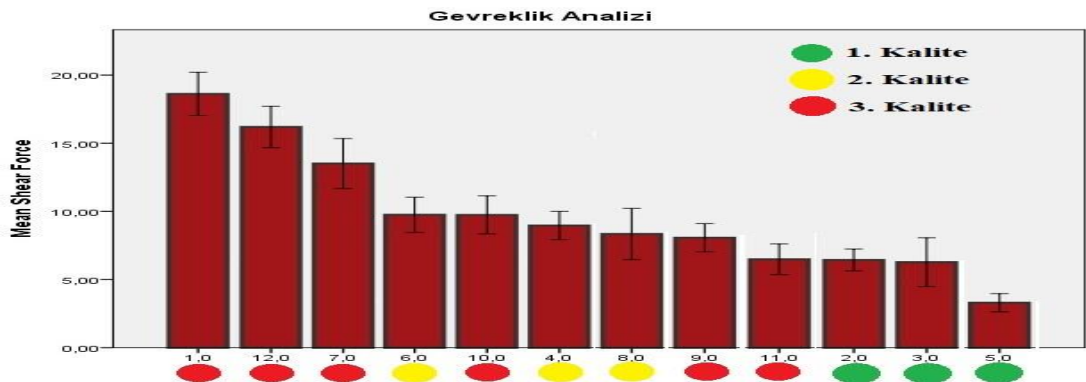
Şekil 3.2. Kas bölgelerinin gevreklik değerleri.

Çizelge 3.5. Kas bölgelerine göre gevreklik değerleri (ortalama±SH).

Bölge	B1	B2	B3	B4	B5	B6
SF (kg/cm ²)	18,62±0,79 ^e	6,43±0,40 ^{ab}	6,27±0,89 ^{ab}	8,96±0,51 ^{bc}	3,30±0,33 ^a	9,75±0,64 ^c
Bölge	B7	B8	B9	B10	B11	B12
SF (kg/cm ²)	13,51±0,91 ^d	8,34±0,93 ^{bc}	8,07±0,51 ^{bc}	9,74±0,69 ^c	6,48±0,56 ^{abc}	16,19±0,75 ^{de}

SF: Gevreklik değerini ifade etmektedir.

a,b,c,d,e; Farklı harfler taşıyan değerler arasında istatistiksel anlamda farklılık bulunmaktadır (p < 0,05).



Şekil 3.3. Gevrekliğin kas gruplarına göre sıralı değerleri.

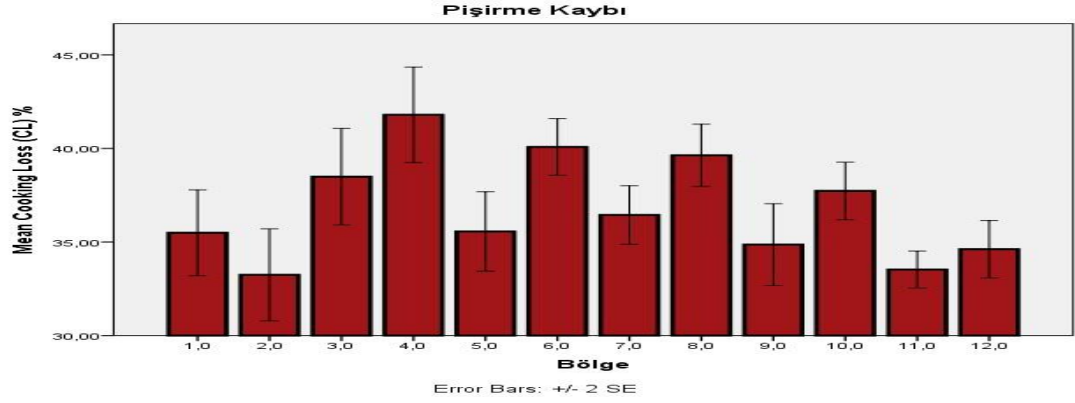
Sonuçlara göre bonfile (B5) en gevrek kas grubu olarak öne çıkmaktadır. Bonfile (B5); antrikot (B2), kontrafile (B3) ve kürek (B11) hariç tüm kas gruplarından istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir. Bonfileyi (B5) sırasıyla, kontrafile (B3) ve antrikot (B2) kas grupları, gevreklik açısından diğer kas gruplarına nazaran daha iyi sonuçlar vermiştir. Gevreklik değerlerinde birinci kalite kaslar ilk üç sırayı almaktadır.

İkinci kalite kaslardan nuar (B4), kontranuar (B6), yumurta (B8) ile üçüncü kalite kaslardan kürek (B11), pençeta (B9) ve döşün (B10) benzer gevreklik değerine sahip oldukları tespit edilmiştir. Bu grubun kas bölgeleri kendi aralarında değerlendirildiğinde istatistiksel olarak da anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır.

Üçüncü kalite kaslardan gerdan (B1), arka bacak (B7) ve ön bacak (B12) arasında benzer gevreklik değerleri bulunmaktadır ve bu grup en düşük gevreklik değerine sahiptir. Ayrıca istatistiksel olarak diğer tüm bölgelerden ayrılmaktadır. Grup içi değerlendirmede arka bacak (B7) ve ön bacak (B12) istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermemektedir. Ön bacak (B12) ve gerdan (B1) bölgesi de istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermemiştir. Ancak arka bacak (B7) ve gerdan (B1) bölgesi arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu görülmüştür.

3.1.2. Pişirme Kaybı Analizi

Pişirme kaybı analizinde istatistiksel olarak gruplar arasında anlamlı farklılıklara rastlanmıştır (Şekil 3.1). Ancak pişirme kaybı değerleri arasındaki farklılıklar sıralı bir şekilde birinci, ikinci ve üçüncü kalite kaslar arasında gözlemlenmemiştir (Çizelge 3.6; Şekil 3.4; Şekil 3.5). Kas bölgeleri arasında, istatistiksel anlamda en büyük farklılığın antrikot (B2) ve kürek (B11) ile nuar (B4) bölgeleri arasında olduğu görülmektedir (Çizelge 3.6).



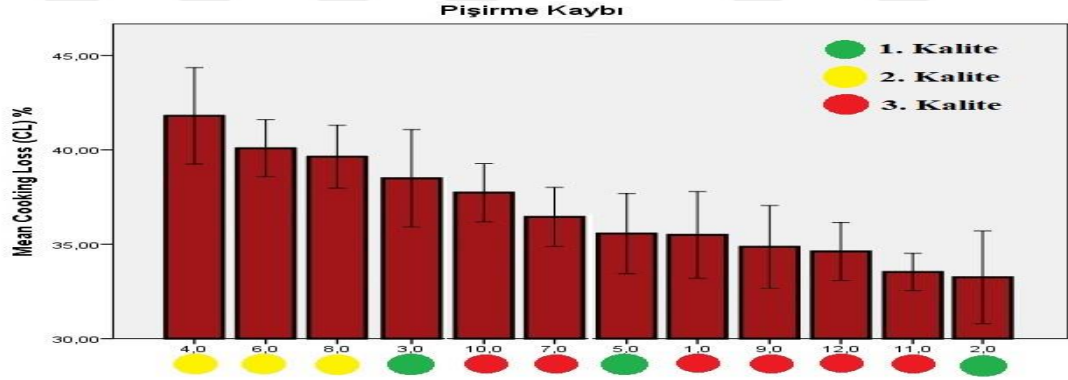
Şekil 3.4. Kas bölgelerinin pişirme kaybı değerleri.

Çizelge 3.6. Kas bölgelerine göre pişirme kaybı değerleri (ortalama±SH).

Bölge	B1	B2	B3	B4	B5	B6
CL (%)	35,49±1,14 ^{abc}	33,24±1,22 ^a	38,48±1,28 ^{bcd}	41,79±1,27 ^d	35,56±1,06 ^{abc}	40,08±0,75 ^{cd}
Bölge	B7	B8	B9	B10	B11	B12
CL (%)	36,44±0,78 ^{abc}	39,63±0,83 ^{cd}	34,85±1,09 ^{ab}	37,72±0,77 ^{abcd}	33,52±0,49 ^a	34,61±0,76 ^{ab}

CL: Pişirme kaybı değerini ifade etmektedir.

a,b,c,d: Farklı harfler taşıyan değerler arasında istatistiksel anlamda farklılık bulunmaktadır (p < 0,05).



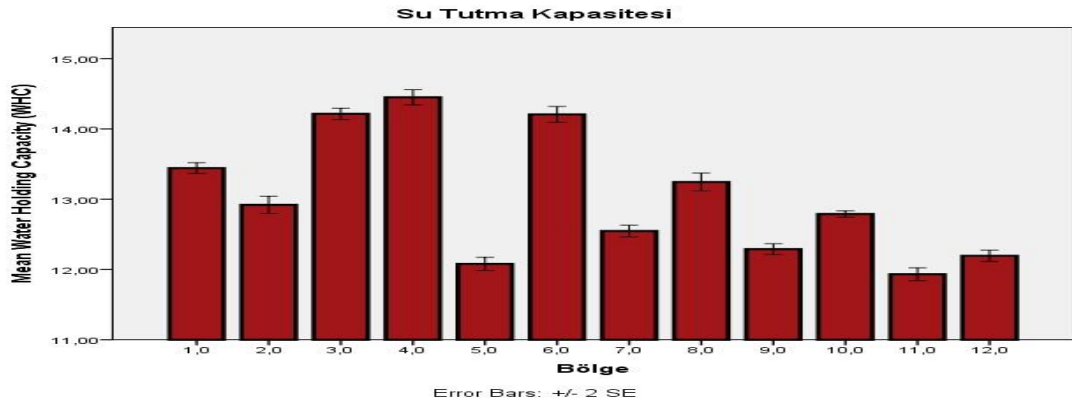
Şekil 3.5. Pişirme kaybının kas gruplarına göre sıralı değerleri.

Pişirme kaybının en düşük olduğu kas grubunun antrikot (B2) olduğu görülmüştür. Bunu kürek (B11), arka bacak (B12) izlemektedir. Nuar (B4), kontranuar (B6) ve yumurta (B8) en yüksek değerlere sahip kas gruplarıdır. Pişirme kaybının en yüksek olduğu ilk üç kas ikinci kalite kas grubunda bulunmaktadır.

Birinci kalite kaslardan antrikot (B2) ve kontrafile (B3) arasında anlamlı farklılık bulunmaktadır. Bonfile (B5); antrikot (B2) ve kontrafile (B3) ile istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermemiştir. Grup içi değerlendirmelerde istatistiki açıdan önemli bir veri bulunmamaktadır.

3.1.3. Su Tutma Kapasitesi Analizi

Su tutma kapasitesi analizinin sonucunda istatistiksel olarak gruplar arasında anlamlı farklılıklara rastlanmıştır (Şekil 3.1). Ancak su tutma kapasitesi değerleri arasındaki farklılıklar sıralı bir şekilde birinci, ikinci ve üçüncü kalite kaslar arasında gözlemlenmemiştir (Çizelge 3.7; Şekil 3.6; Şekil 3.7). Kas bölgeleri arasında, istatistiksel anlamda en büyük farklılığın kürek (B11) ve nuar (B4) bölgeleri arasında olduğu görülmektedir (Çizelge 3.7).



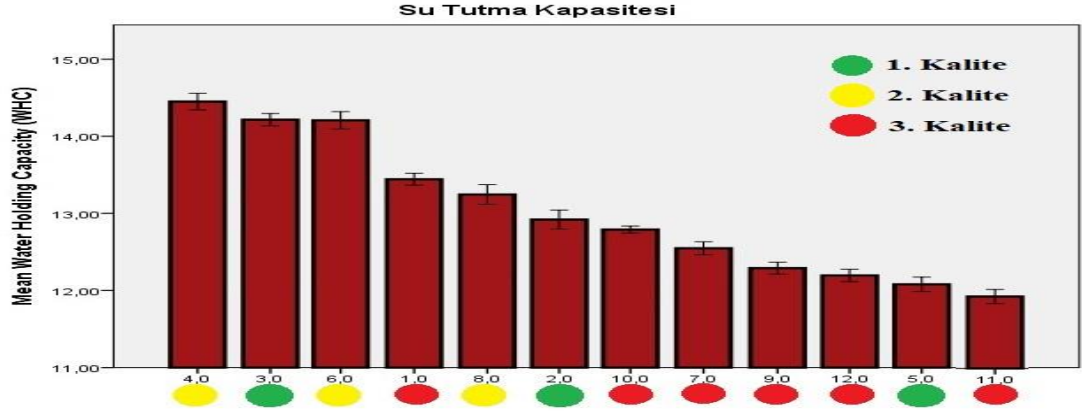
Şekil 3.6. Kas bölgelerinin su tutma kapasitesi değerleri.

Çizelge 3.7. Kas bölgelerine göre su tutma kapasitesi değerleri (ortalama±SH).

Bölge	B1	B2	B3	B4	B5	B6
WHC (%)	13,45±0,03 ^e	12,92±0,06 ^d	14,22±0,04 ^f	14,45±0,05 ^g	12,08±0,04 ^{ab}	14,21±0,05 ^f
Bölge	B7	B8	B9	B10	B11	B12
WHC (%)	12,55±0,04 ^c	13,25±0,06 ^e	12,29±0,03 ^b	12,79±0,02 ^d	11,94±0,04 ^a	12,20±0,04 ^b

WHC: Su tutma kapasitesi değerini ifade etmektedir.

a,b,c,d,e,f,g: Farklı harfler taşıyan değerler arasında istatistiksel anlamda farklılık bulunmaktadır (p < 0,05).



Şekil 3.7. Su tutma kapasitesinin kas gruplarına göre sıralı değerleri.

Su tutma kapasitesinin en yüksek olduğu kas grubunun kürek (B11) olduğu görülmüştür. Bunu bonfile (B5), arka bacak (B7) izlemektedir. Su tutma kapasitesinin en düşük olduğu kas grupları sırasıyla nuar (B4), kontrafile (B3) ve kontranuar (B6) şeklindedir.

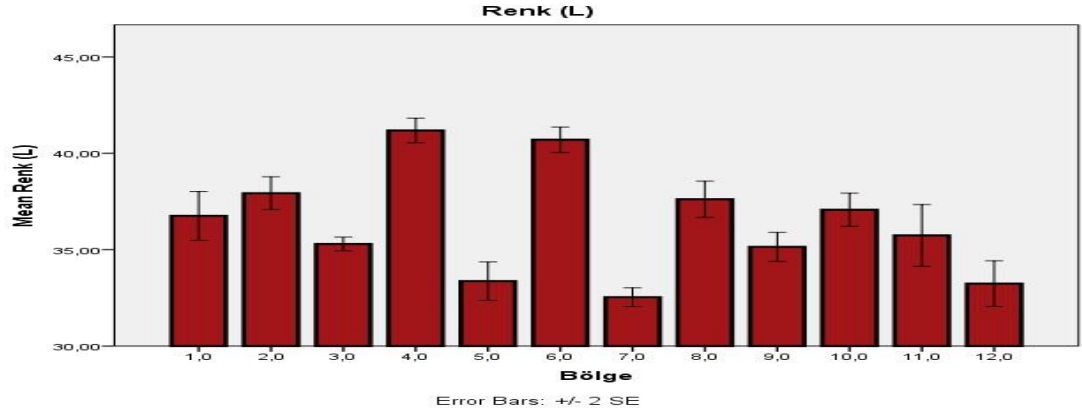
Üçüncü sınıf kaslarda arka bacak (B7) ve pençeta (B9) benzerlik göstermektedir. Bunun haricindeki tüm üçüncü sınıf kaslar kendi aralarında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar göstermiştir.

3.1.4. Renk Analizleri

Renk ölçümleri gerçekleştirildikten sonra tüm bölgeler arası değerler (Şekil 3.1), saturasyon indeksi, renk açısı ve delta E değerleri hesaplanmış ancak birinci ve üçüncü kalite kaslar arasında belirgin farklılıklara rastlanmamıştır.

3.1.4.1 Renk (L)

Renk (L) analizinde istatistiksel olarak gruplar arasında anlamlı farklılıklara rastlanmıştır (Çizelge 3.8; Şekil 3.8; Şekil 3.9). Kas bölgeleri arasında, istatistiksel anlamda en büyük farklılığın nuar (B4) ve kontranuar (B6) ile arka bacak (B7) bölgeleri arasında olduğu görülmektedir (Çizelge 3.8).

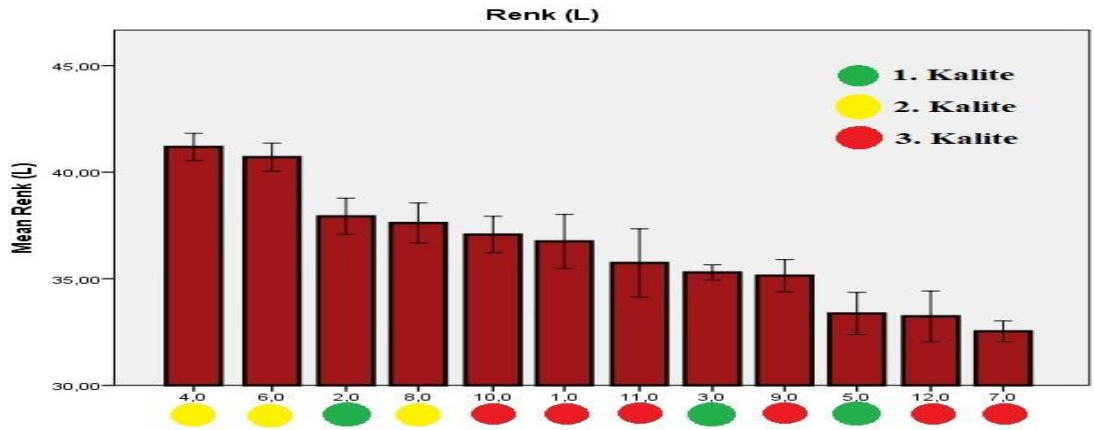


Şekil 3.8. Kas bölgelerinin renk (L) değerleri.

Çizelge 3.8. Kas bölgelerine göre renk (L) değerleri (ortalama±SH).

Bölge	B1	B2	B3	B4	B5	B6
Renk (L)	36,75±0,63 ^{cd}	37,93±0,42 ^d	35,29±0,17 ^{bc}	41,18±0,31 ^e	33,37±0,49 ^{ab}	40,70±0,32 ^e
Bölge	B7	B8	B9	B10	B11	B12
Renk (L)	32,53±0,24 ^a	37,61±0,46 ^d	35,14±0,37 ^{bc}	37,07±0,42 ^{cd}	35,74±0,80 ^{cd}	33,23±0,59 ^{ab}

a,b,c,d,e: Farklı harfler taşıyan değerler arasında istatistiksel anlamda farklılık bulunmaktadır ($p < 0,05$).



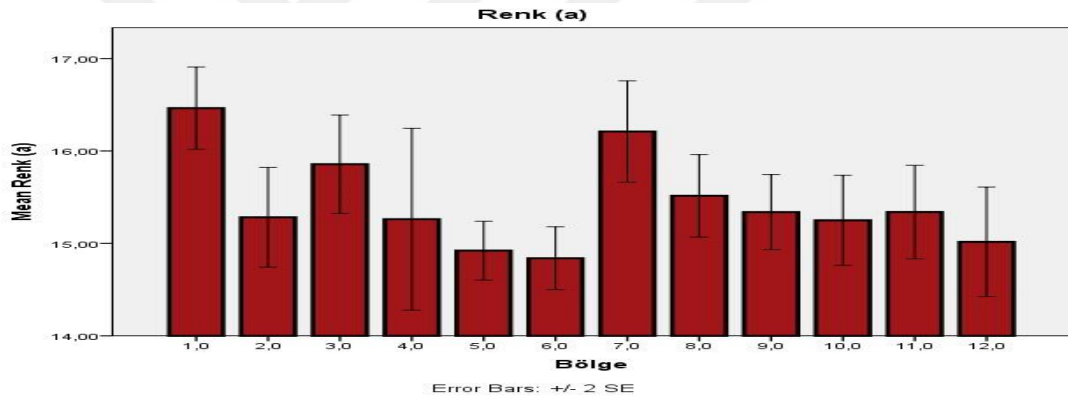
Şekil 3.9. Renk (L)'nin kas gruplarına göre sıralı değerleri.

Renk (L)'nin en yüksek olduğu kas grubu nuardır (B4). Bunu kontranuar (B6) ve antrikot (B2) izlemektedir. Nuar (B4) ve kontranuar (B6), renk (L) açısından istatistiksel olarak birbirlerine benzemekle beraber diğer tüm gruplardan ayrılmaktadırlar. Yumurta (B8), renk (L)'nin en yüksek ifade edildiği dördüncü bölge olurken, nuar (B4) ve kontranuardan (B6) istatistiksel olarak farklıdır. Buna karşın ilk dört sıranın üçünün ikinci kalite kas grubundan oluştuğu göze çarpmaktadır.

Renk (L)'nin en düşük olduğu kas grubu arka bacak (B7). Bunu ön bacak (B12) ve bonfile (B5) izlemektedir. Üçüncü kalite kas gruplarından arka bacak (B7) ve ön bacak (B12) renk (L) değerleri, birinci kalite kas grubundan bonfile (B5) ile benzer bir karakter ortaya koymuştur.

3.1.4.2. Renk (a)

Renk (a) analizinde istatistiksel olarak gruplar arasında anlamlı farklılıklara rastlanmıştır (Çizelge 3.9; Şekil 3.1; Şekil 3.10; Şekil 3.11). Kas bölgeleri arasında, istatistiksel anlamda en büyük farklılığın kontranuar (B6) ve bonfile (B5) ile gerdan (B1) bölgeleri arasında olduğu görülmektedir (Çizelge 3.9).

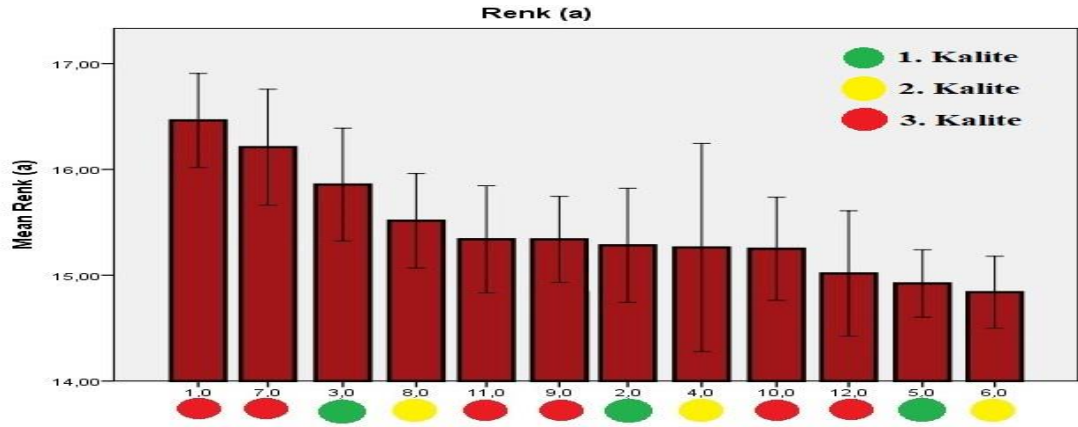


Şekil 3.10. Kas bölgelerinin renk (a) değerleri.

Çizelge 3.9. Kas bölgelerine göre renk (a) değerleri (ortalama±SH).

Bölge	B1	B2	B3	B4	B5	B6
Renk (a)	16,46±0,22 ^c	15,28±0,26 ^{abc}	15,85±0,26 ^{abc}	15,26±0,49 ^{abc}	14,92±0,15 ^a	14,83±0,16 ^a
Bölge	B7	B8	B9	B10	B11	B12
Renk (a)	16,21±0,27 ^{bc}	15,51±0,22 ^{abc}	15,33±0,20 ^{abc}	15,25±0,24 ^{abc}	15,33±0,25 ^{abc}	15,01±0,29 ^{ab}

^{a,b,c}: Farklı harfler taşıyan değerler arasında istatistiksel anlamda farklılık bulunmaktadır (p < 0,05).



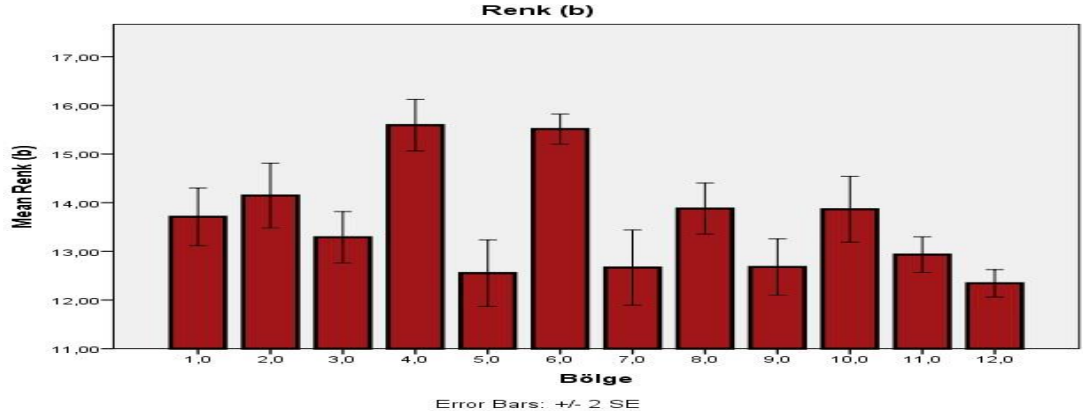
Şekil 3.11. Renk (a)'nın kas gruplarına göre sıralı değerleri.

Renk (a)'nın en yüksek olduğu kas grubu gerdandır (B1). Bunu arka bacak (B7) ve kontrafile (B3) izlemektedir. Renk (a) değerinin en düşük olduğu kas grubu ise kontranuardır (B6). Bunu bonfile (B5) ve ön bacak (B12) izlemektedir.

Kontranuar (B6) ve bonfile (B5) birbirlerine benzer, arka bacak (B7) ve gerdan (B1) bölgesinden ise farklı sonuçlar vermiştir, ancak diğer tüm gruplar ile istatistiksel olarak aynıdır. Ön bacak (B7) ise yalnızca gerdan (B1) bölgesinden anlamlı farklılık göstermiştir.

3.1.4.3. Renk (b)

Renk (b) analizinde istatistiksel olarak gruplar arasında anlamlı farklılıklara rastlanmıştır (Çizelge 3.10; Şekil 3.12; Şekil 3.13). Kas bölgeleri arasında, istatistiksel anlamda en büyük farklılığın nuar (B4) ve kontranuar (B6) ile ön bacak (B12) bölgeleri arasında olduğu görülmektedir (Çizelge 3.10).

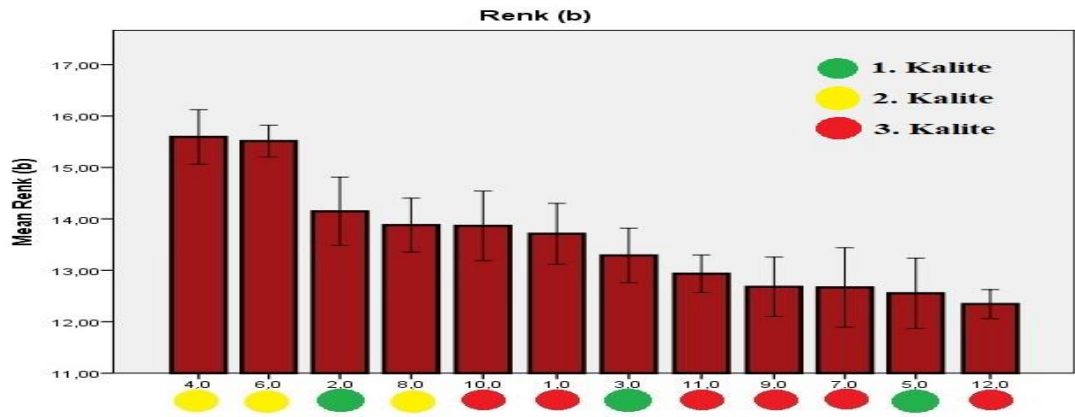


Şekil 3.12. Kas bölgelerinin renk (b) değerleri.

Çizelge 3.10. Kas bölgelerine göre renk (b) değerleri (ortalama±SH).

Bölge	B1	B2	B3	B4	B5	B6
Renk (b)	13,71±0,29 ^{bcd}	14,14±0,33 ^d	13,28±0,26 ^{abcd}	15,59±0,26 ^e	12,55±0,34 ^{ab}	15,51±0,15 ^e
Bölge	B7	B8	B9	B10	B11	B12
Renk (b)	12,66±0,38 ^{abc}	13,87±0,26 ^{cd}	12,67±0,28 ^{abc}	13,86±0,33 ^{bcd}	12,93±0,18 ^{abcd}	12,34±0,14 ^a

a,b,c,d,e: Farklı harfler taşıyan değerler arasında istatistiksel anlamda farklılık bulunmaktadır ($p < 0,05$).



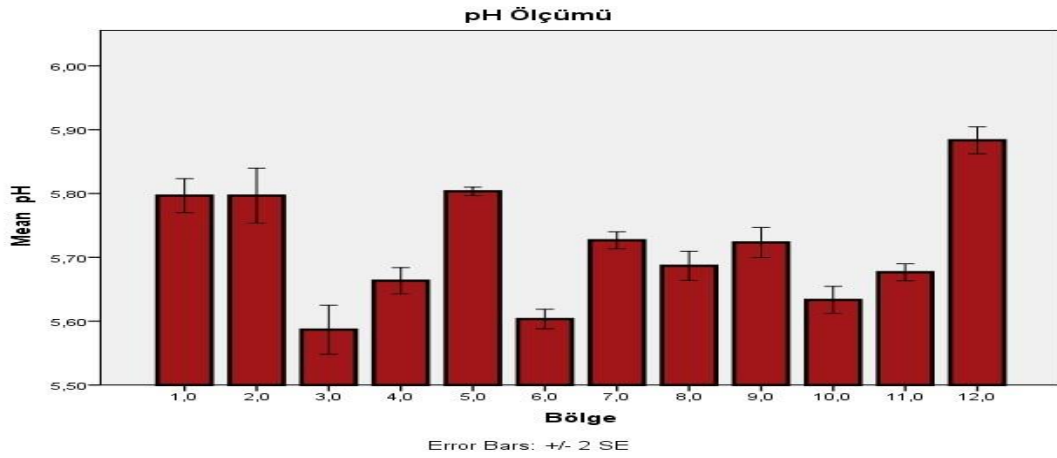
Şekil 3.13. Renk (b)'nin kas gruplarına göre sıralı değerleri.

Renk (b)'nin en yüksek olduğu kas grubu ikinci kalite kas grubundan nuardır (B4). Bunu yine ikinci kalite olan kontranuar (B6) ve birinci kalite antrikot (B2) takip etmektedir. Nuar (B4) ve kontranuarın (B6) istatistiksel olarak birbirlerine benzer ve diğer tüm gruplardan farklı oldukları görülmektedir.

Renk (b)'nin en düşük olduğu kas grubu ön bacadır (B12). Bunu bonfile (B5) ve arka bacak (B7) izlemektedir. Üçüncü kalite kas gruplarından arka bacak (B7) ve ön bacak (B12) renk (b) değerleri, birinci kalite kas grubundan bonfile (B5) ile benzer bir karakter ortaya koymuştur.

3.1.5. pH

pH analizinde istatistiksel olarak gruplar arasında anlamlı farklılıklara rastlanmıştır (Şekil 3.1). Ancak pH değerleri arasındaki farklılıklar sıralı bir şekilde birinci, ikinci ve üçüncü kalite kaslar arasında gözlemlenmemiştir (Çizelge 3.11; Şekil 3.14; Şekil 3.15). Kas bölgeleri arasında, istatistiksel anlamda en büyük farklılığın kontrafile (B3) ve kontranuar (B6) ile ön bacak (B12) bölgeleri arasında olduğu görülmektedir (Çizelge 3.11).

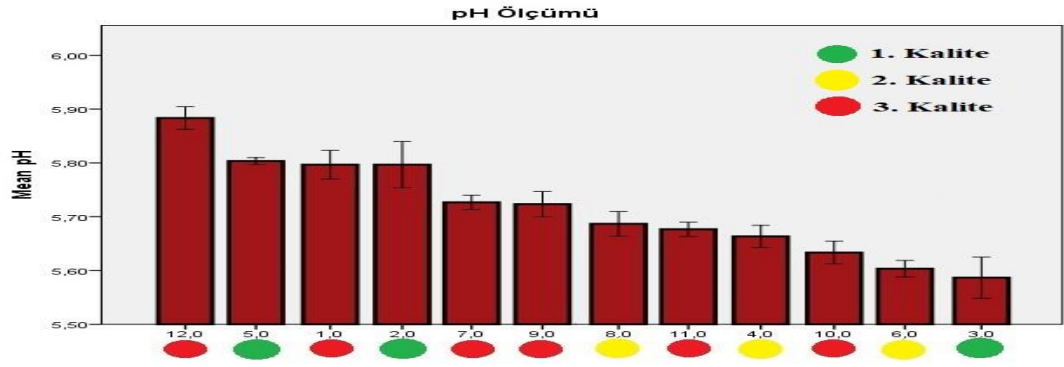


Şekil 3.14. Kas bölgelerinin pH değerleri.

Çizelge 3.11. Kas bölgelerine göre pH değerleri (ortalama±SH).

Bölge	B1	B2	B3	B4	B5	B6
pH	5,79±0,013 ^d	5,79±0,021 ^d	5,58±0,019 ^a	5,66±0,010 ^b	5,80±0,003 ^d	5,60±0,007 ^a
Bölge	B7	B8	B9	B10	B11	B12
pH	5,72±0,006 ^c	5,68±0,011 ^{bc}	5,72±0,011 ^c	5,63±0,010 ^{ab}	5,67±0,006 ^{bc}	5,88±0,010 ^e

^{a,b,c,d,e}: Farklı harfler taşıyan değerler arasında istatistiksel anlamda farklılık bulunmaktadır (p < 0,05).



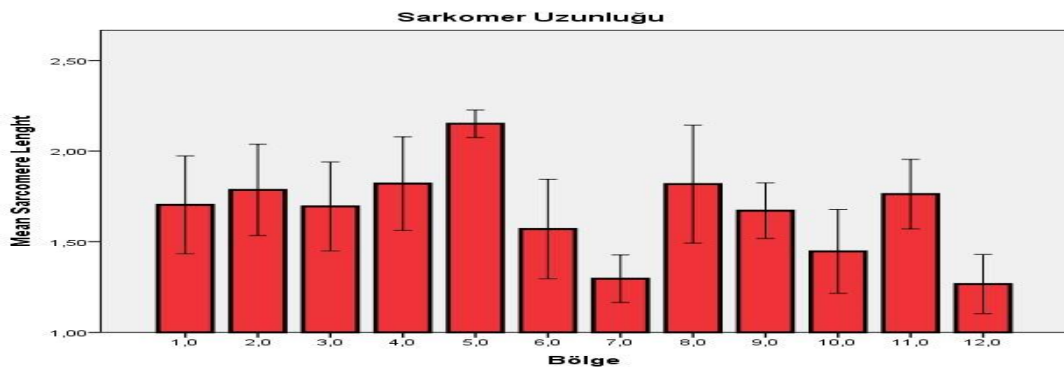
Şekil 3.15. pH'nin kas gruplarına göre sıralı değerleri.

pH analizlerinde kontrafile (B3), kontranuar (B6) ve döşün (B10) en düşük pH'ya sahip olduğu görülmüştür. Kontrafile (B3) ve kontranuar (B6) düşük pH değerleri ile diğer tüm kas gruplarından istatistiksel olarak ayrılmaktadır.

Ön bacak (B12) kası en yüksek pH değerine sahiptir ve diğer tüm bölgelerden anlamlı farklılık göstermektedir. Bunu bonfile (B5) ve gerdan (B1) izlemektedir. Bonfile (B5) ve gerdan (B1) ile birlikte antrikotta (B2) yüksek pH değerine sahiptir ve diğer bölgelerden anlamlı farklılıkları bulunmaktadır.

3.2. Histolojik Analiz Bulguları

Analiz sonucunda gruplar arasında anlamlı farklılıklara rastlanmıştır (Çizelge 3.12; Şekil 3.16). Ancak bu farklılıklar sıralı bir şekilde birinci, ikinci ve üçüncü kalite kaslar arasında gözlemlenmemiştir (Çizelge 3.12; Şekil 3.17).



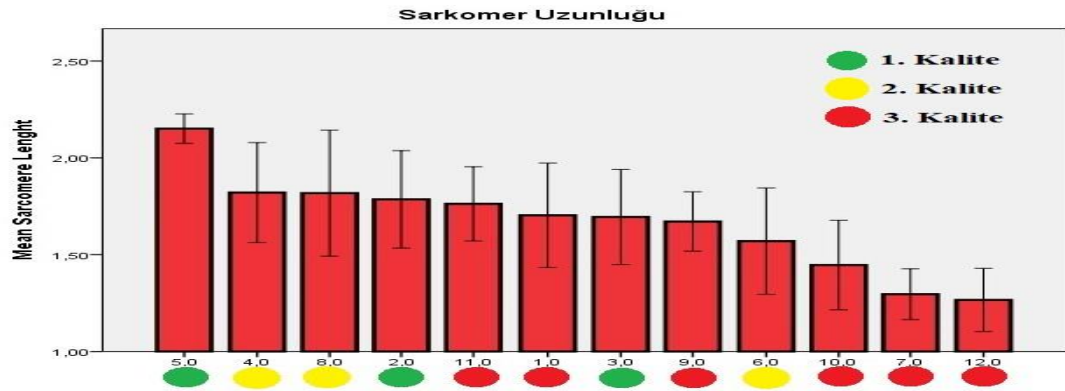
Şekil 3.16. Kas bölgelerinin sarkomer uzunluk değerleri.

Çizelge 3.12. Sarkomer uzunlukları kas bölgeleri değerleri (ortalama±SH).

Bölge	B1	B2	B3	B4	B5	B6
SL (µm)	1,703±0,13 ^{ab}	1,785±0,12 ^{ab}	1,694±0,12 ^{ab}	1,820±0,12 ^{ab}	2,150±0,03 ^b	1,570±0,13 ^a
Bölge	B7	B8	B9	B10	B11	B12
SL (µm)	1,296±0,06 ^a	1,818±0,16 ^{ab}	1,671±0,07 ^{ab}	1,446±0,11 ^a	1,762±0,09 ^{ab}	1,266±0,08 ^a

SL: Sarkomer Uzunluğu, µm: Mikrometre, ifade etmektedir. Subjektif olarak farklı kas tellerinden 10 adet ölçüm yapılarak veriler elde edilmiştir.

^{a,b}: Farklı harfler taşıyan değerler arasında istatistiksel anlamda farklılık bulunmaktadır (p < 0,05).



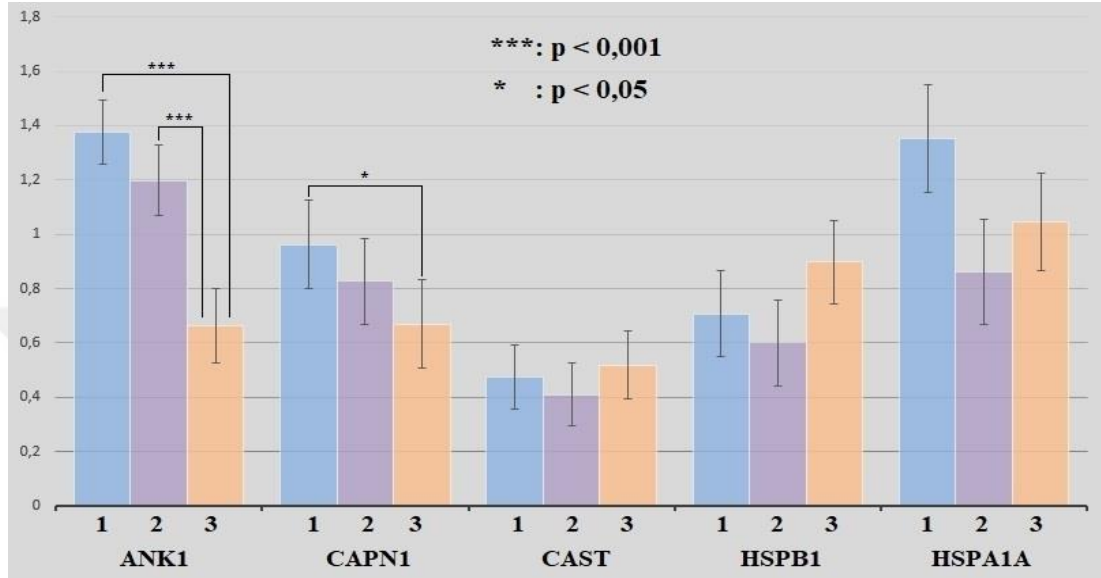
Şekil 3.17. Sarkomer uzunluğunun kas gruplarına göre sıralı değerleri.

Sarkomer uzunluğu en yüksek bonfile (B5) bölgesinde tespit edilmiştir. Bunu nuar (B4) ve yumurta (B8) izlemektedir. Sarkomer uzunluğunu en düşük olduğu kas grupları ise sırasıyla arka bacak (B7), ön bacak (B12) ve döş (B10) bölgeleridir. İstatistiksel analiz sonuçları bonfile (B5) sarkomer uzunluğunun ön bacak (B12), arka bacak (B7), döş (B10) ve kontranuardan (B6) anlamlı farklılık gösterdiğini ortaya koymaktadır (Çizelge 3.12).

3.3. Genetik Analiz Bulguları

Genetik analizler, Shapiro-Wilk ve Kolmogorov-Smirnov normalite testleri ile Levene istatistiklerinde olumlu sonuçlar vermiştir. ANK1, CAPN1, CAST, HSPA1A genleri için kas bölgeleri arası gen ifadelerinde anlamlı farklılıklar bulunmuştur. HSPB1 geni için ise bölgeler arası istatistiksel olarak anlamlı farklılıkların olmadığı tespit edilmiştir.

ANK1 ve CAPN1 gen ifadelerinin birinci ve üçüncü kalite kas grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar ortaya koyduğu görülmektedir. CAST, HSPB1 ve HSPA1A değerleri arasındaki mevcut farklılıklar ise sıralı bir şekilde birinci, ikinci ve üçüncü kalite kas grupları arasında şekillenmemiştir (Çizelge 3.13; Şekil 3.18).



Şekil 3.18. Birinci, ikinci ve üçüncü kalite kas grupları arasındaki relatif gen ifadesi farklılıkları.

Çizelge 3.13. Kalite gruplarına göre gen ifadesi değerleri ($2^{-\Delta\Delta C_t} \pm SH$).

Kalite	ANK1	CAPN1	CAST	HSPB1	HSPA1A
1	1,377±0,11 ^a	0,962±0,13 ^a	0,476±0,11	0,707±0,15	1,353±0,19
2	1,196±0,12 ^a	0,827±0,15 ^{ab}	0,409±0,11	0,601±0,15	0,862±0,19
3	0,664±0,13 ^b	0,670±0,16 ^b	0,518±0,12	0,897±0,15	1,045±0,17

^{a,b}: Aynı sütunda farklı harfler taşıyan değerler arasında istatistiksel anlamda farklılık bulunmaktadır ($p < 0,05$).

Korelasyon analizi sonuçları ANK1 gen ifadesinin, CAPN1 ve CAST gen ifadeleri ile üç farklı kalite için de pozitif yönlü, kuvvetli ve istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gösterdiğini ortaya koymaktadır. CAPN1 gen ifadesinin CAST ile, CAST gen ifadesinin ise HSPB1 ile üç farklı kalite grubunda pozitif yönlü, kuvvetli ve istatistiksel olarak anlamlı korelasyon gösterdiği görülmektedir. Genetik analizlerde HSPA1A gen ifadesinin üç farklı kalitede, ANK1, CAPN1, CAST ve HSPB1 ile korele olmadığı görülmüştür (Çizelge 3.14; Çizelge 3.15; Çizelge 3.16).

Çizelge 3.14. Birinci kalite kaslarda gen ifadelerinin diğer gen ifadeleri ile korelasyonları.

	ANK1	CAPN1	CAST	HSPB1	HSPA1A
ANK1	1	0,510**	0,728**	0,205	-0,328*
CAPN1		1	0,566**	0,627**	-0,115
CAST			1	0,513**	-0,251
HSPB1				1	0,179
HSPA1A					1

** $p < 0,01$; * $p < 0,05$ ifade etmektedir.

Çizelge 3.15. İkinci kalite kaslarda gen ifadelerinin diğer gen ifadeleri ile korelasyonları.

	ANK1	CAPN1	CAST	HSPB1	HSPA1A
ANK1	1	0,461**	0,832**	0,500**	0,024
CAPN1		1	0,537**	0,271	-0,059
CAST			1	0,570**	-0,315
HSPB1				1	-0,157
HSPA1A					1

** $p < 0,01$ ifade etmektedir.

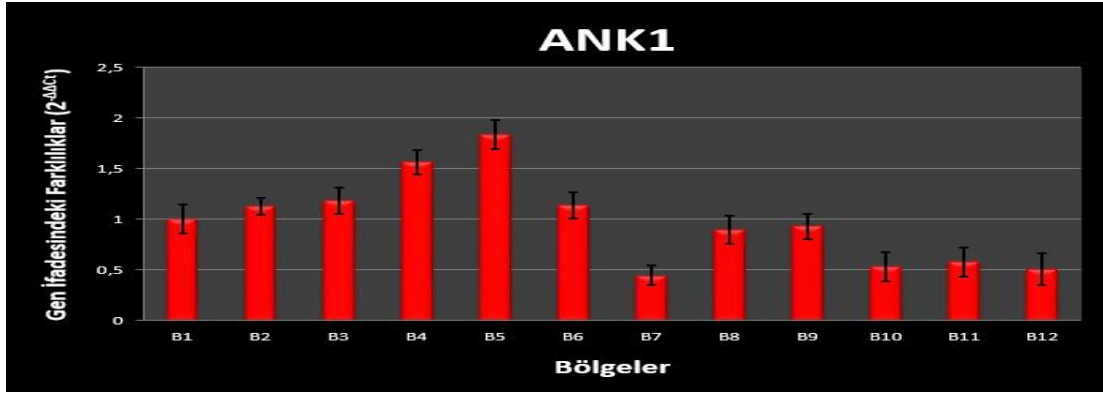
Çizelge 3.16. Üçüncü kalite kaslarda gen ifadelerinin diğer gen ifadeleri ile korelasyonları.

	ANK1	CAPN1	CAST	HSPB1	HSPA1A
ANK1	1	0,705**	0,639**	0,546**	0,309**
CAPN1		1	0,365**	0,363**	0,242*
CAST			1	0,409**	-0,043
HSPB1				1	0,133
HSPA1A					1

** $p < 0,01$; * $p < 0,05$ ifade etmektedir.

3.3.1. ANK1

ANK1 gen ifadeleri için bölgeler arasında anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir (Şekil 3.18). Bu farklılıkların birinci, ikinci ve üçüncü kalite kas grupları arasında olduğu ortaya konmuştur (Çizelge 3.17; Şekil 3.18; Şekil 3.19; Şekil 3.20). Kas bölgeleri arasında, istatistiksel anlamda en büyük farklılığın nuar (B4) ve bonfile (B5) ile arka bacak (B7) bölgeleri arasında olduğu görülmektedir (Çizelge 3.17).

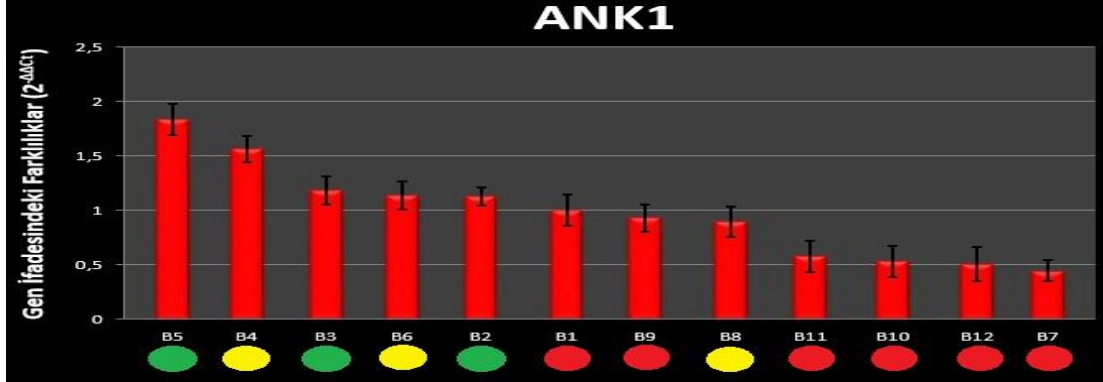


Şekil 3.19. ANK1 geninin kaslara göre değişen ifade farklılıkları.

Çizelge 3.17. Kas bölgelerine göre ANK1 gen ifadesi değerleri (2^{-ΔΔCt}±SH).

Bölge	B1	B2	B3	B4	B5	B6
ANK1	1,000±0,14 ^{abcd}	1,123±0,08 ^{abc}	1,179±0,12 ^{ab}	1,562±0,12 ^a	1,830±0,14 ^a	1,133±0,13 ^{abc}
Bölge	B7	B8	B9	B10	B11	B12
ANK1	0,444±0,09 ^d	0,894±0,13 ^{abcd}	0,930±0,12 ^{abcd}	0,530±0,14 ^{bcd}	0,574±0,14 ^{bcd}	0,504±0,15 ^{cd}

a,b,c,d: Farklı harfler taşıyan değerler arasında istatistiksel anlamda farklılık bulunmaktadır (p < 0,05).



Şekil 3.20. ANK1 geninin birinci (yeşil), ikinci (sarı) ve üçüncü (kırmızı) kalite kas bölgeleri arasındaki sıralı ifade farklılıkları.

Birinci kalite kaslardan bonfile (B5) de ANK1 gen ifadesi en yüksek seviyede bulunmuştur. Bunu sırasıyla nuar (B4), kontrafile (B3), kontranuar (B6) ve antrikot (B2) izlemektedir.

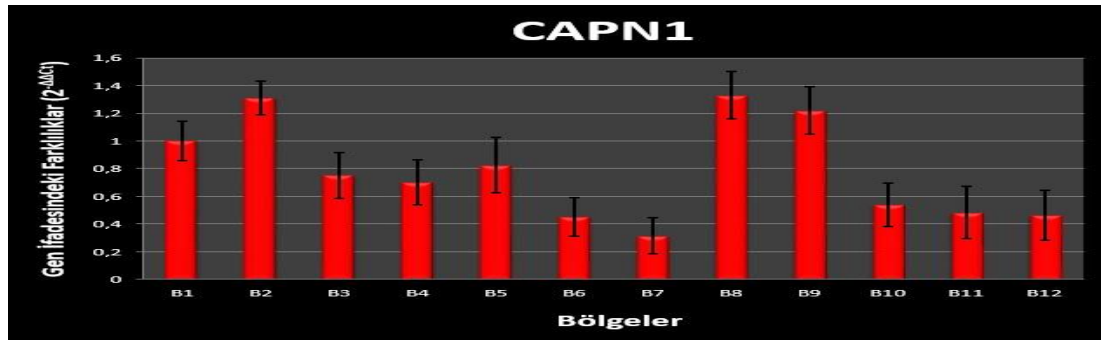
ANK1 gen ifadesinin en düşük olduğu kas arka bacak (B7). Bunu sırasıyla ön bacak (B12), döş (B10) ve kürek (B11) takip etmektedir. Bu dört kas grubunun tamamı

üçüncü kalite kas grubunda bulunmaktadır ve istatistiksel olarak bonfile (B5) ve nuardan (B4) anlamlı farklılık göstermektedir.

ANK1 gen ifadesinin en düşük olduğu yedi kas grubundan altı tanesinin üçüncü kalite kaslar olduğu dikkat çekmektedir. ANK1 gen ifadesinin en yüksek olduğu ilk beş kas grubundan üç tanesi birinci kalite, iki tanesi ise ikinci kalite kas grubunda bulunmaktadır. Üçüncü kalite kaslar kendi arasında ANK1 gen ifadesi yönünden anlamlı bir farklılık göstermiştir.

3.3.2. CAPN1

CAPN1 gen ifadeleri için bölgeler arasında anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir (Şekil 3.18). Bu farklılıkların birinci ve üçüncü kalite kas grupları arasında olduğu ortaya konmuştur (Çizelge 3.18; Şekil 3.18; Şekil 3.21; Şekil 3.22). Kas bölgeleri arasında, istatistiksel anlamda en büyük farklılığın antrikot (B2) ve yumurta (B8) ile arka bacak (B7) bölgeleri arasında olduğu görülmektedir (Çizelge 3.18).

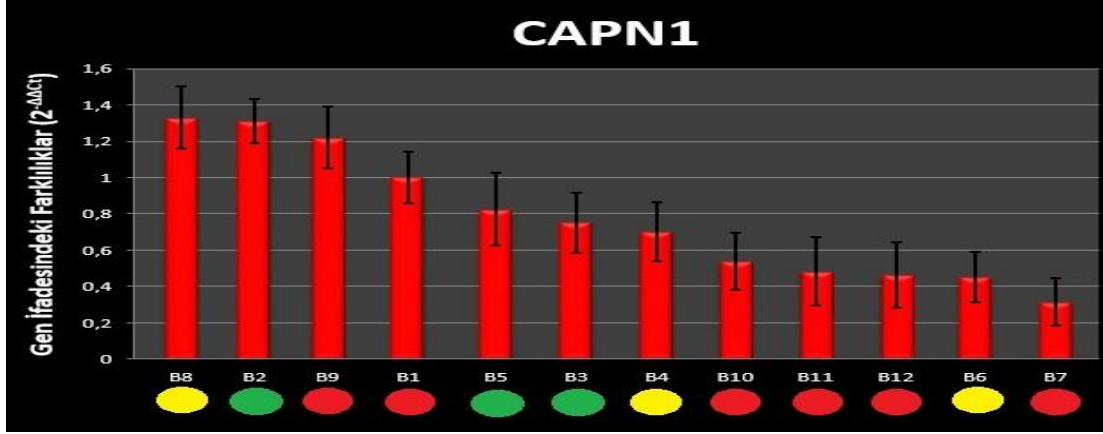


Şekil 3.21. CAPN1 geninin kaslara göre değişen ifade farklılıkları.

Çizelge 3.18. Kas bölgelerine göre CAPN1 gen ifadesi değerleri (2^{-ΔΔCt}±SH).

Bölge	B1	B2	B3	B4	B5	B6
CAPN1	1,000±0,14 ^{abc}	1,309±0,12 ^a	0,751±0,16 ^{abcd}	0,700±0,16 ^{abcd}	0,825±0,20 ^{abc}	0,451±0,13 ^{cd}
Bölge	B7	B8	B9	B10	B11	B12
CAPN1	0,313±0,13 ^d	1,330±0,16 ^a	1,218±0,17 ^{ab}	0,539±0,15 ^{abcd}	0,483±0,18 ^{bcd}	0,465±0,17 ^{bcd}

a,b,c,d: Farklı harfler taşıyan değerler arasında istatistiksel anlamda farklılık bulunmaktadır (p < 0,05).



Şekil 3.22. CAPN1 geninin birinci (yeşil), ikinci (sarı) ve üçüncü (kırmızı) kalite kas bölgeleri arasındaki sıralı ifade farklılıkları.

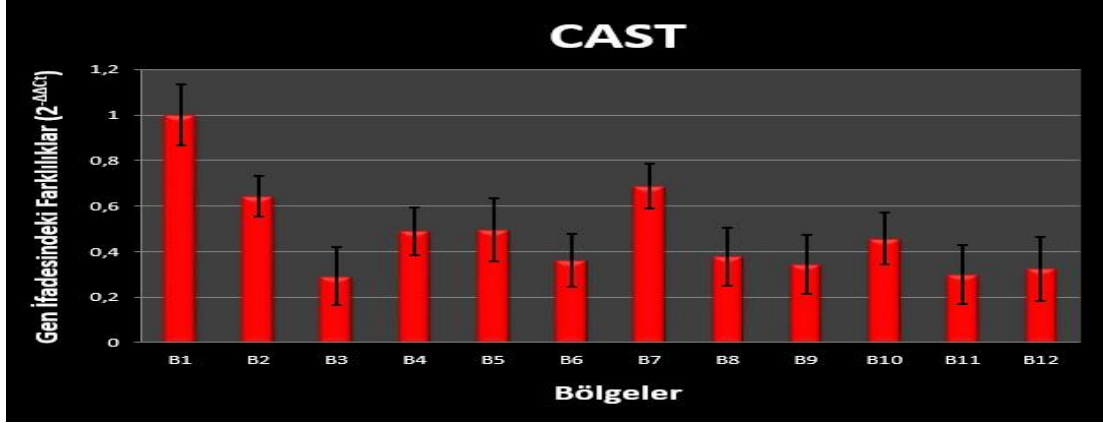
İkinci kalite kaslardan yumurta (B8) bölgesinde CAPN1 en ifadesi en yüksek seviyede bulunmuştur. Bunu sırasıyla antrikot (B2) ve pençeta (B9) izlemektedir. CAPN1'in en yüksek seviyede ifade edildiği ilk üç kas grubunun her biri farklı bir kalite grubundan gelmektedir.

CAPN1 gen ifadesinin en düşük bulunduğu kas grubu arka bacaktır (B7). Bunu sırasıyla kontranuar (B6), ön bacak (B12), kürek (B11) ve döş (B10) izlemektedir. Bu durum CAPN1 gen ifadesinin en düşük olduğu beş kas grubundan dört tanesinin üçüncü kalite kaslardan oluştuğunu ortaya koymaktadır.

Yumurta (B8) ve antrikot (B2) istatistiksel olarak arka bacak (B7), kontranuar (B6), ön bacak (B12) ve kürekten (B11) anlamlı farklılık göstermektedir.

3.3.3. CAST

CAST gen ifadeleri için bölgeler arasında anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir (Çizelge 3.19; Şekil 3.23; Şekil 3.24). Kas bölgeleri arasında, istatistiksel anlamda en büyük farklılığın gerdan (B1) ve kontrafile (B3) bölgeleri arasında olduğu görülmektedir (Çizelge 3.19).

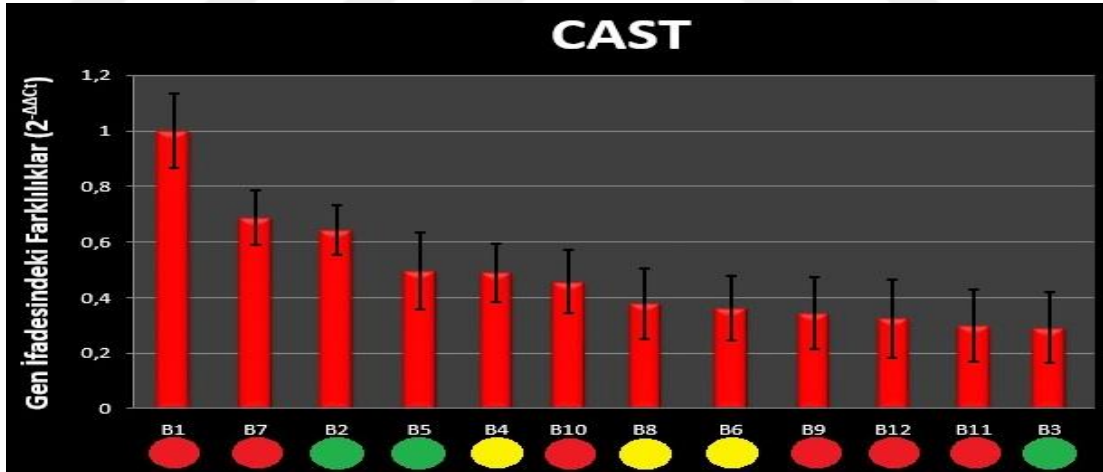


Şekil 3.23. CAST geninin kaslara göre değişen ifade farklılıkları.

Çizelge 3.19. Kas bölgelerine göre CAST gen ifadesi değerleri ($2^{-\Delta\Delta C_t} \pm SH$).

Bölge	B1	B2	B3	B4	B5	B6
CAST	1,000±0,13 ^a	0,642±0,09 ^{abc}	0,291±0,12 ^c	0,489±0,10 ^{abc}	0,495±0,13 ^{abc}	0,361±0,11 ^{bc}
Bölge	B7	B8	B9	B10	B11	B12
CAST	0,686±0,09 ^{ab}	0,377±0,12 ^{bc}	0,345±0,12 ^{bc}	0,456±0,11 ^{abc}	0,300±0,12 ^{bc}	0,324±0,14 ^{bc}

a,b,c: Farklı harfler taşıyan değerler arasında istatistiksel anlamda farklılık bulunmaktadır ($p < 0,05$).



Şekil 3.24. CAST geninin birinci (yeşil), ikinci (sarı) ve üçüncü (kırmızı) kalite kas bölgeleri arasındaki sıralı ifade farklılıkları.

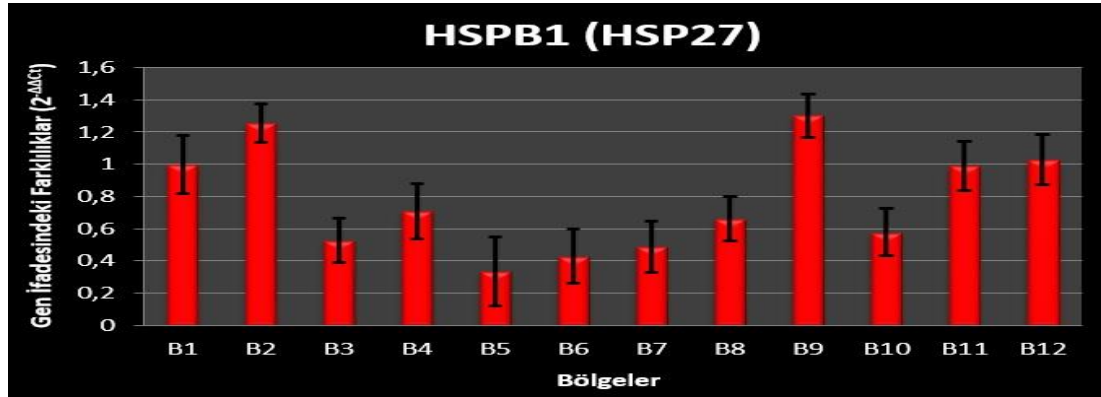
CAST gen ifadesinin en yüksek olduğu kas grubu gerdan (B1) bölgesidir. Bunu sırasıyla arka bacak (B7) ve antrikot (B2) izlemektedir. CAST gen ifadesinin en düşük ifade olduğu kas grubu kontrafile (B3) bölgesidir. Bunu sırasıyla kürek (B11) ve ön

bacak (B12) izlemektedir. En düşük seviyede ifade olan ilk üç kas grubunda birinci ve üçüncü sınıf kaslar yer almaktadır.

Gerdan (B1) bölgesi istatistiksel olarak yumurta (B8), kontranuar (B6), pençeta (B9), arka bacak (B7), ön bacak (B12) ve kontrafileden (B3) istatistiki farklılık göstermektedir. Buna ilaveten arka bacakta (B7) kontrafileden (B3) anlamlı farklılık göstermektedir. Bu gruplar hariç diğer bölgeler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamaktadır.

3.3.4. HSPB1

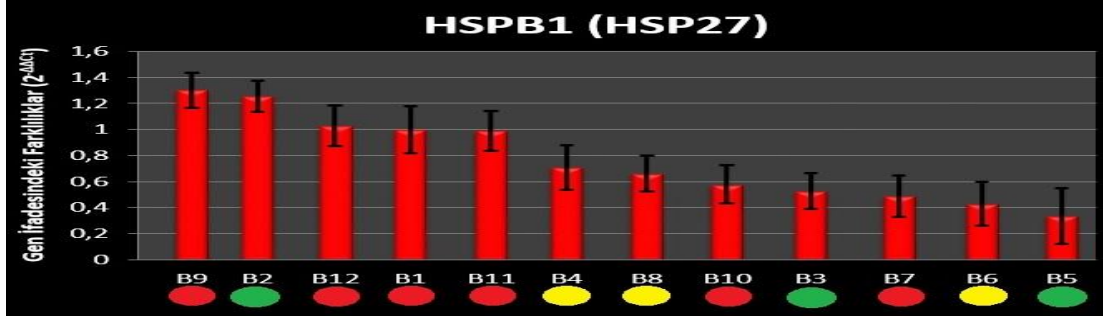
HSPB1 gen ifadeleri için bölgeler arasında anlamlı farklılıklar tespit edilememiştir (Çizelge 3.20; Şekil 3.18). Bölgeler arasında bir takım gen ifadesi farklılıkları görülse de (Şekil 3.25; Şekil 3.26), istatistiksel sonuçlar tüm kas bölgelerinin, HSPB1 gen ifadesi yönünden aynı olduğunu ortaya koymaktadır (Çizelge 3.20).



Şekil 3.25. HSPB1 geninin kaslara göre değişen ifade farklılıkları.

Çizelge 3.20. Kas bölgelerine göre HSPB1 gen ifadesi değerleri ($2^{-\Delta\Delta C_t} \pm SH$).

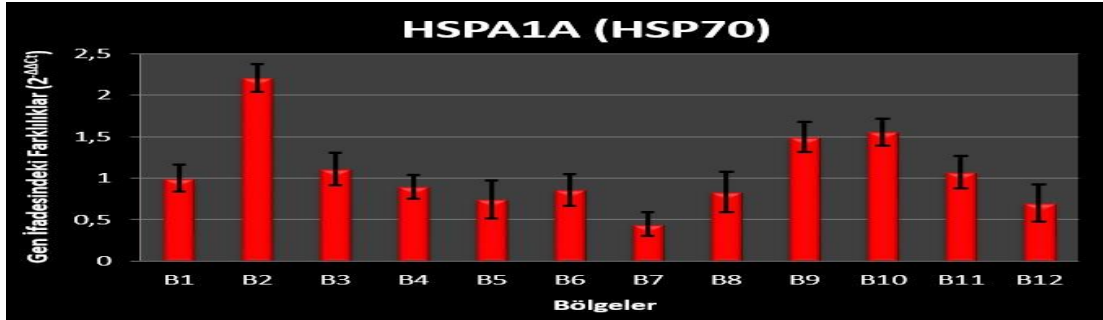
Bölge	B1	B2	B3	B4	B5	B6
HSPB1	1,000±0,18	1,256±0,11	0,529±0,13	0,710±0,17	0,336±0,21	0,430±0,16
Bölge	B7	B8	B9	B10	B11	B12
HSPB1	0,487±0,15	0,662±0,13	1,301±0,13	0,578±0,14	0,989±0,15	1,027±0,15



Şekil 3.26. HSPB1 geninin birinci (yeşil), ikinci (sarı) ve üçüncü (kırmızı) kalite kas bölgeleri arasındaki sıralı ifade farklılıkları.

3.3.5. HSPA1A

HSPA1A gen ifadeleri için bölgeler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir (Çizelge 3.21). Ancak bu farklılıklar sıralı bir şekilde birinci, ikinci ve üçüncü kalite kaslar arasında gözlemlenmemiştir (Şekil 3.18; Şekil 3.27; Şekil 3.28). Kas bölgeleri arasında, istatistiksel anlamda en büyük farklılığın antrikot (B2) ve döş (B10) ile arka bacak (B7) bölgeleri arasında olduğu görülmektedir (Çizelge 3.21).

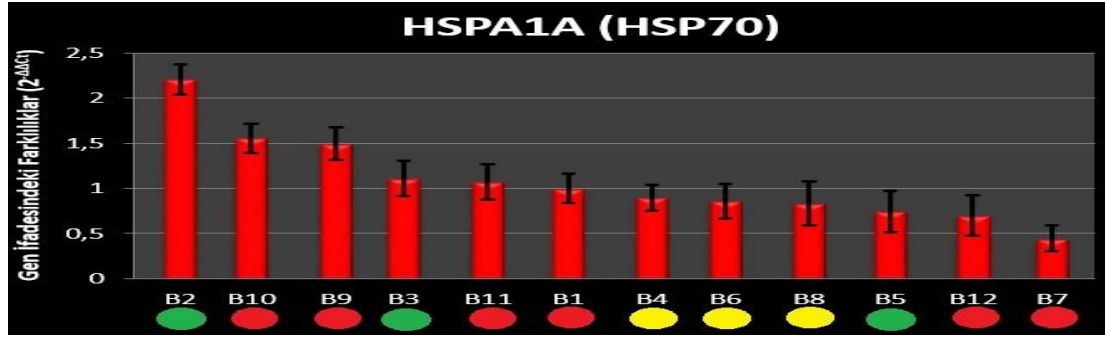


Şekil 3.27. HSPA1A geninin kaslara göre değişen ifade farklılıkları.

Çizelge 3.21. Kas bölgelerine göre HSPA1A gen ifadesi değerleri ($2^{-\Delta\Delta C_t} \pm SH$).

Bölge	B1	B2	B3	B4	B5	B6
HSPA1A	1,000±0,16 ^{ab}	2,206±0,16 ^a	1,110±0,19 ^{ab}	0,896±0,14 ^{ab}	0,743±0,23 ^{ab}	0,857±0,19 ^{ab}
Bölge	B7	B8	B9	B10	B11	B12
HSPA1A	0,445±0,14 ^b	0,834±0,24 ^{ab}	1,494±0,18 ^{ab}	1,556±0,16 ^a	1,074±0,19 ^{ab}	0,699±0,22 ^{ab}

^{a,b}: Farklı harfler taşıyan değerler arasında istatistiksel anlamda farklılık bulunmaktadır ($p < 0,05$).



Şekil 3.28. HSPA1A geninin birinci (yeşil), ikinci (sarı) ve üçüncü (kırmızı) kalite kas bölgeleri arasındaki sıralı ifade farklılıkları.

HSPA1A gen ifadesinin en yüksek olduğu kas grubu antrikottur (B2). Bunu sırasıyla döş (B10) ve pençeta (B9) izlemektedir. Bu genin ifadesinin en düşük olduğu kas grubu ise arka bacak (B7). Bunu sırasıyla ön bacak (B12) ve bonfile (B5) izlemektedir.

3.4. İstatistiksel Bulgular

Gıda analiz sonuçları ve gen ifadeleri arasındaki değerlerin, üç kas grubunun üçünde de korelasyon gösterdiği bir veri bulunmamaktadır (Çizelge 3.22; Çizelge 3.23; Çizelge 3.24).

Çizelge 3.22. Birinci kalite kaslarda gen ifadelerinin gıda analizleri ile korelasyonları.

	ANK1	CAPN1	CAST	HSPB1	HSPA1A
Gevreklik	0,135	0,113	0,113	-0,183	-0,312
Piştirme Kaybı	-0,025	-0,079	0,109	0,047	0,315
Su Tutma Kapasitesi	0,437	0,080	0,472	0,003	-0,139
Renk (L)	0,178	-0,300	-0,194	-0,441**	-0,359*
Renk (a)	0,080	-0,227	0,010	-0,310	0,039
Renk (b)	0,220	-0,226	-0,068	-0,239	-0,067
pH	-0,126	-0,081	-0,338*	-0,013	-0,090
Sarkomer Uzunluğu	-0,241	0,381	-0,169	-0,304	-0,168

**: p < 0,01; *: p < 0,05 ifade etmektedir.

Çizelge 3.23. İkinci kalite kaslarda gen ifadelerinin gıda analizleri ile korelasyonları.

	ANK1	CAPN1	CAST	HSPB1	HSPA1A
Gevreklik	-0,142	0,250	0,153	-0,204	0,012
Piştirme Kaybı	-0,077	0,026	0,083	-0,010	-0,208
Su Tutma Kapasitesi	-0,333	-0,132	-0,107	-0,281	0,002
Renk (L)	-0,391*	0,164	-0,224	-0,166	0,043
Renk (a)	0,016	-0,038	0,015	-0,167	-0,146
Renk (b)	-0,217	0,330	-0,193	-0,090	-0,037
pH	0,106	-0,132	0,000	-0,287	0,009
Sarkomer Uzunluğu	-0,421	-0,670*	-0,358	-0,140	-0,213

*: $p < 0,05$ ifade etmektedir.

Çizelge 3.24. Üçüncü kalite kaslarda gen ifadelerinin gıda analizleri ile korelasyonları.

	ANK1	CAPN1	CAST	HSPB1	HSPA1A
Gevreklik	0,030	0,105	-0,313**	0,059	0,136
Piştirme Kaybı	-0,051	-0,103	-0,185	0,028	0,058
Su Tutma Kapasitesi	-0,158	-0,143	-0,362	0,002	0,331
Renk (L)	-0,280*	-0,190	-0,051	-0,055	-0,247*
Renk (a)	-0,011	0,076	-0,218	0,234*	-0,005
Renk (b)	-0,026	-0,056	-0,182	0,235*	-0,045
pH	-0,072	-0,064	-0,109	-0,162	0,145
Sarkomer Uzunluğu	-0,079	-0,344*	0,299	-0,180	0,122

** : $p < 0,01$; *: $p < 0,05$ ifade etmektedir.

Birinci ve üçüncü kalite kaslar arasında; gevreklik değerleri, ANK1 ve CAPN1 genleri için anlamlı farklılıklar bulunmaktadır (Çizelge 3.1; Çizelge 3.13; Çizelge 3.25). CAST geni için yalnızca kontrafile ve arka bacak, HSPA1A geni için ise yalnızca antrikot ve arka bacak bölgeleri arasında anlamlı farklılıklar olduğu gözlemlenmiştir (Çizelge 3.25). Histoloji (SL) ve gıda analizleri (SF) ile desteklenen gevreklik değerlerinde, bonfile kasının en büyük farkı ortaya koyduğu görülmüştür.

Ancak istatistiksel sonuçlar bonfile kasındaki bu farklılığın, antrikot ve kontrafile bölgesinden anlamlı olarak farklılık göstermediği dikkat çekmektedir.

Çizelge 3.25. Birinci ve üçüncü kalite kas bölgeleri arasındaki istatistiksel farklılıklar.

Karkas Bölgeleri	SF (Gevreklik)	ANK1	CAPN1	CAST	HSPB1 (HSP27)	HSPA1A (HSP70)
B2 – B1	***	ns	ns	ns	ns	ns
B2 – B7	***	**	***	ns	ns	**
B2 – B9	ns	ns	ns	ns	ns	ns
B2 – B10	*	ns	ns	ns	ns	ns
B2 – B11	ns	ns	*	ns	ns	ns
B2 – B12	***	ns	*	ns	ns	ns
B3 – B1	***	ns	ns	ns	ns	ns
B3 – B7	***	***	ns	*	ns	ns
B3 – B9	ns	ns	ns	ns	ns	ns
B3 – B10	*	ns	ns	ns	ns	ns
B3 – B11	ns	ns	ns	ns	ns	ns
B3 – B12	***	*	ns	ns	ns	ns
B5 – B1	***	ns	ns	ns	ns	ns
B5 – B7	***	***	*	ns	ns	ns
B5 – B9	***	ns	ns	ns	ns	ns
B5 – B10	***	***	ns	ns	ns	ns
B5 – B11	ns	***	ns	ns	ns	ns
B5 – B12	***	***	ns	ns	ns	ns

***: $p < 0,001$; **: $p < 0,01$; *: $p < 0,05$; ns: anlamlı değil, ifade etmektedir.

4. TARTIŞMA

Tüketime sunulan et kalitesinin arttırılması besleme (Gagaoua ve ark., 2017b ve Wang ve ark., 2015), ırk (Bradford ve ark., 2016; Gandolfi ve ark., 2011; Giusti ve ark., 2013 ve Mullins ve ark., 2016), seleksiyon (Goll ve ark., 1998) ve kesim teknikleri (Bayraktaroğlu ve Kahraman, 2011) çalışmalarıyla desteklenmektedir. Et kalitesinin belirlenmesinde gıda analizleri önemli yer tutmaktadır (Kahraman ve ark., 2010; Mullen, 2002, b:19 ve Taşçı, 2017). Warner-Bratzler bıçağı ile (Vergara ve ark., 2005) belirlenen, gevreklik değerleri bu analizlerin en önemlilerinden biridir. Araştırmamızda et kalitesinin belirlenmesi amacıyla yapılan gıda analizlerinde, gruplar arasında en belirgin farkların tespit edildiği değer gevreklik olarak göze çarpmaktadır (Çizelge 3.1; Çizelge 3.25; Şekil 3.1). Bu analizde birinci kaliteli kaslar en iyi gevreklik değerini vermiş, üçüncü kalite kaslar ise daha düşük seviyede kalmıştır. Veiseth-Kent ve ark., (2018) sığır karkasının dört farklı bölgesi üzerine yaptıkları gevreklik (SF) analizine dayalı çalışmada kontrafile, bonfile, kontranuar ve kürek kasları değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonucunda kontrafile kasının en düşük gevreklik değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar çalışmamız ile kısmen uyushmaktadır. Çalışmadaki bonfile, kontranuar ve kürek kaslarının gevrek olduğu bilgisi yapmış olduğumuz çalışma ile paralellik göstermiştir. Ancak sonuçlarımız kontrafile kasının da gevrek olduğunu ortaya koymaktadır. Elde ettiğimiz sonuçlar gevreklik değerlerinin incelendiği diğer çalışmalar ile büyük ölçüde benzerlik göstermektedir (Belew ve ark., 2003; Hildrum ve ark., 2009). Çalışmamızda bonfile kasının en gevrek, kontrafile ve antrikot kaslarının gevrek olduğu görülmüştür. Öte yandan yukarıdaki literatürlerde öne çıkarılan kürek kas bölgesi verileri çalışmamızda da dikkat çekici sonuçlar vermiştir. Konum olarak antrikota yakın konumundan ve en kaliteli kıymalık et olarak değerlendirilmesinden dolayı kürek bölgesinin gevrek olduğu düşünülmektedir. Birinci ve üçüncü kalite kaslar arasındaki istatistiksel olarak anlamlı olan farklar sebebi ile gevreklik değerinin et kalitesinin belirlenmesinde en önemli değer olduğu sonucuna varılabilir.

Genetik analizlerde, yüksek kaliteye sahip olduğu düşünülen kaslarda, yüksek seviyede ifadesi et kalitesi ile ilişkilendirilme potansiyeli olan ANK1 ve

ilişkilendirilmiş CAPN1 genlerinin yüksek, düşük seviyede ifadesi et kalitesi ile ilişkilendirilmiş CAST, HSPB1 (HSP27), HSPA1A (HSP70) genlerinin düşük seviyede ifade olması beklenmiştir. Tahmin edilen sonuç yüksek kalite etlerden düşük kalite etlere doğru, gen ifadelerinin kademeli olarak artması veya azalmasıdır.

Aslan ve ark., (2010) sığırlarda yapmış olduğu polimorfizm çalışmasında, ANK1 geninin gevreklik değerleri ile ilişkili olabileceği bilgisi, Wimmers ve ark., (2007) yapmış oldukları çalışmayı desteklemiştir. Aslan ve ark., (2012) domuzlar üzerinde gerçekleştirmiş oldukları çalışmada, ANK1 gen ifadesi ve pişirme kaybı arasında pozitif korelasyon olduğu gözlemlenmiştir. Bu durum ANK1 genlerinin calpainlerin hedefi olması ve proteolizis derecesinin kasın su tutma kapasitesine etkisi ile ilişkilendirilmiştir. Reddy ve ark., (2017) Hanwoo sığırlarında yapmış oldukları çalışma, ANK1 geninin et kalitesi ile ilişkili olabileceğinden bahsetmektedir. Bu çalışmada farklı rasyon programları uygulanan hayvanlarda ANK1 geninin etin sululuk değerlerine yaptığı etki dikkat çekici bulunmuştur. Yapmış olduğumuz çalışmada, su tutma kapasitesi daha iyi olduğu bilinen birinci sınıf kaslarda ANK1 gen ifadesinin yüksek olması Aslan ve ark., (2012) yapmış olduğu çalışma ile uyuşmamaktadır.

Çalışmamızda kalite sınıflandırması yapılan kaslar arasında, istatistiksel olarak en anlamlı sonuçlar ANK1 genine aittir (Çizelge 3.13; Çizelge 3.25; Şekil 3.18). ANK1 gen ifadesi yüksek kaliteye sahip kaslarda yüksek, düşük kaliteye sahip kaslarda düşük seviyede bulunmuştur. Buna iki durumun sebep olabileceği düşünülmüştür. İlk olarak; çok çalışan kaslarda miyozin filamanları genişlemektedir. Miyozin filamanları birbirine bağlayan M hattı ise Ankirin-R proteinlerinin spesifik bağlantı bölgelerindendir (Sorrentino, 2004 ve Zhou ve ark., 1997). Kasların genişlemesi ile miyozin filamanlar ve hücre iskeleti arasındaki bağlantılar azalacağından ankirin bağlantılarına daha az ihtiyaç olabileceği ve bu nedenle çok çalışan kaslarda daha düşük seviyede ANK1 gen ifadesi olabileceği düşünülmüştür. Buna ek olarak; Ankirin-R proteinlerinin yalnızca apoptozla ilişkili ölüm ve obskurin bağlanma bölgelerini içerdiği bilinmektedir (Gallagher ve ark., 1997; Gallagher ve Forget, 1998 ve Sorrentino, 2004). Ölüm bölgesinin apoptozu indükleyici

karakterinden dolayı, yüksek kaliteye sahip kas gruplarında bu genin varlığının, apoptozu kolaylaştırarak etin gevrekliğini sağlayacağı çıkarımı yapılabilir. Her iki durumun birleşiminin olası bir sonucu olarak, elimizdeki veriler, ANK1 gen ifadesinin et kalitesinin belirlenmesi açısından oldukça önemli olduğunu açıkça göstermektedir. Bu çalışma ile ANK1 gen ifadesinin, sığırlarda et kalitesi ile olan pozitif yönlü ilişkisi ilk kez ortaya konmuştur. Aynı zamanda bu genin, et kalitesinin belirlenmesinde CAPN1, CAST, HSPB1, HSPA1A gibi et kalitesi ile ilişkilendirilmiş ve üzerinde onlarca çalışma yapılmış birçok genden çok daha önemli ve güvenilir bir belirteç olabileceği düşünülmektedir.

Muroya ve ark., (2012) sığırlarda, 10 farklı kas grubunda, calpain ve calpastatin genlerinin ifade seviyelerini araştırmıştır. Ancak çalışmada kullanılan kaslardan yalnızca yedi tanesi tüketime sunulan karkas bölgelerine aittir ve döş hariç tamamı birinci ve ikinci kalite kaslardan oluşmaktadır. Bu çalışmada CAPN1 geninin kaslar arasında anlamlı bir fark göstermediği ileri sürülmüştür. Ancak CAPN1/CAST oranının önemli olduğu belirtilmiştir. Aynı zamanda CAST gen ifadesi için de tüketime sunulan kas bölgeleri arasında bir farklılık olmadığı bildirilmiş yalnızca nuar bazı kas gruplarından ayrılmıştır. Bu bilgi yapmış olduğumuz çalışma ile çelişmektedir. Çalışmamız; CAPN1 gen ifadesinin, ANK1 ve CAST gen ifadeleri arasında pozitif korelasyon bulunduğunu, farklı kalite kas bölgeleri arasında farklılıklar gösterdiğini ve et kalitesini CAST'a bağlı olmaksızın etkileyebileceğini düşündürmektedir.

Domuzlarda yapılan bir çalışmada, CAPN1 geninin *m. longissimus dorsi* (antrikot ve kontrafile) kasından alınan örneklerde *m. semimembranosus* (tranç) kasına oranla daha fazla ifade olduğu görülmüştür (Ropka-Molik ve ark., 2014). Benzer bir başka çalışmada Sacca ve ark., (2015) sığır karkasında, kontrafile (*m. longissimus lumborum*) ve kürek (*m. infraspinatus*) kaslarında çalışmış; CAPN1 geninin kontrafile bölgesinde kürek bölgesine göre daha yüksek, CAST geninin ise kürek bölgesinde kontrafile bölgesine göre daha yüksek ifade olduğu görülmüştür. Yapmış olduğumuz çalışmada elde edilen bilgiler bu çalışmayla da paralellik göstermektedir. Ancak

CAST geni için elde ettiğimiz verilere göre, iki bölge arasındaki farkın oldukça küçük olduğu dikkat çekmektedir.

Gagaoua ve ark., (2017a) yaptığı çalışmada CAPN1 gen ifadesinin antrikot (*m. longissimus thoracis*) bölgesinde, pençeta (*m. rectus abdominis*) bölgesine kıyasla daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Yapmış olduğumuz çalışma bu verilerle benzer olmakla beraber ilginç sonuçlar ortaya koymuştur. Çalışmamızda benzer şekilde CAPN1 gen ifadesi antrikotta pençetadan yüksek çıkmıştır ancak bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık değildir. Üçüncü kalite kaslardan yalnızca pençeta bölgesinde beklenen değerden çok yüksek seviyede ifade olmuştur. Bu nedenle kas bölgelerinin karşılaştırmalı analizlerinde pençeta bölgesinin arka bacak yada ön bacak kadar güvenilir olmayabileceği düşünülmektedir.

Gandolfi ve ark., (2011) yaptıkları çalışma da CAPN1 gevreklik değerleri yüksek ve düşük değer veren iki domuz ırkı arasında incelenmiş, çok gevrek kaslara sahip domuzlarda CAPN1 gen ifadesinin daha yüksek olduğu bulunsa da, bu farkın istatistiki açıdan önemli olmadığı görülmüştür ($p > 0,05$). Öte yandan CAST gen ifadesinin çok gevrek kaslara sahip domuzlarda düşük, az gevrek kaslara sahip domuzlarda yüksek olduğu görülmüş ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,2$). Giusti ve ark., (2013) farklı sığır ırklarının antrikot ve kontrafile bölgelerinde yapılan bir başka çalışmada, CAPN1, domuzlardaki veriler ile benzer sonuçlar vermiştir. Bu sonuç, CAPN1 geninin yüksek kaliteye sahip kaslarda düşük seviyede ifade edildiğini ortaya koymuş olsa da gevreklik değerlerindeki farklılığın CAST geninden kaynaklandığı ileri sürülmüştür. Aynı çalışmada CAST geninin düşük gevreklik değerlerine sahip ırkta daha yüksek, yüksek gevreklik değerlerine sahip ırkta ise düşük seviyede ifade edildiğinden söz edilmektedir. Yapmış olduğumuz çalışma CAPN1 geni için benzerlik göstermekle birlikte, CAST geni için farklı sonuçlar vermektedir.

Tang ve ark., (2010) gerçekleştirmiş oldukları çalışmada, CAPN1 gen ifadesinin, metabolik enerji seviyesi rasyonla beslenen domuzlarda daha yüksek seviyede olduğunu gözlemlemiştir. Yüksek CAPN1 seviyesinin gevrekliği arttıracak

hipotezi ile bu çalışma kurgulanmıştır. Ayrıca aynı çalışmada, beslenme farklılıklarının CAST gen ifadesinde herhangi bir değişiklik meydana getirmediği ortaya konmuştur. Yapmış olduğumuz çalışma bu çalışma ile paralel bir durumu ortaya koymaktadır. CAPN1 gen ifadesi yüksek kalite kas gruplarında düşük kas gruplarına kıyasla daha yüksek seviyede ifade olmaktadır. Birinci ve ikinci kalite kaslar arasında anlamlı bir farklılık bulunmamakla beraber, birinci kalite kaslar, üçüncü kalite kaslardan istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir. Bu nedenle, CAPN1 geninin et kalitesinin belirlenmesinde önemli bir belirteç olabileceği kanaatine varılmıştır.

Sığırlarda yapılan bazı çalışmalar CAST geninin gevreklik değerleri ile herhangi bir ilişkisi olmadığını ileri sürmektedir (Li ve ark., 2013; Reardon ve ark., 2010). Yapmış olduğumuz çalışma yukarıda belirtilen çalışmalarla benzer sonuçlar vermektedir. CAST geninin yüksek kaliteli kaslardan düşük kalite kaslara doğru belirgin bir trendi bulunmamakla birlikte, birinci ve üçüncü kalite kaslar arasında yakın sonuçlar verdiği görülmektedir. CAST geni için anlamlı farklılık yalnızca kontrafile ve arka bacak bölgeleri arasında tespit edilmiştir. CAST aynı zamanda ANK1 ve CAPN1 ile pozitif korelasyon göstermektedir. CAPN1 inhibitörü olmasından dolayı, CAPN1 gen ifadesine bağlı CAST gen ifadesi artışı beklenen bir sonuçtur. Ayrıca ANK1 ve CAPN1 genlerinin et kalitesinin belirlenmesinde etkili oldukları düşünüldüğünden, bu iki genin birbiri ile ve dolayısıyla CAST ile korelasyon gösterdiği tahmin edilmektedir. Ancak CAPN1 geninden elde edilen veriler bu bilgiler ile birleştirildiğinde, calpain / calpastatin proteolitik sisteminde, CAPN1 geninin CAST'tan daha efektif olabileceği ve et kalitesinin belirlenmesinde daha etkin rol oynayabileceğini düşünülmektedir. Buna ek olarak, HSPB1 ve CAST genleri arasında pozitif korelasyon bulunduğu görülmüştür. Yapmış olduğumuz çalışma her iki geninde et kalitesinin belirlenmesinde düşük etkili veya etkisiz olabileceğini göstermektedir. Bu nedenle, bu iki gen arasındaki korelasyonun, et kalitesini belirlemeye bir etkisinin olmayacağı düşünülmektedir.

Malheiros ve ark., (2018) sığırlarda CAPN1, CAST ve HSPB1 genlerinin gevreklik değerleri ile olan ilişkilerini incelenmiştir. Bu çalışma bulguları, CAPN1 ve

CAST genlerinin gevreklik değeri ile ilişkili olmadığını, ancak HSPB1 geninin gevreklik değerlerini etkilediğini göstermektedir. Çalışmamız; CAST geni ile ilgili bulgular için paralellik göstermekte, CAPN1 geni bulguları için kısmen doğrulanmakta, HSPB1 geni içinse farklı sonuçlar vermektedir.

Charlois sığırlarının, *m. longissimus thoracis* (antrikot) kasında gerçekleştirilen bir çalışmada, HSPB1 gen ifadesindeki azalmanın aktin organizasyonunun bozulmasına neden olduğu, bu nedenle etin kalitesine etki etmesi gerektiği hipotezi ortaya konmuştur (Bernard ve ark., 2007). Çalışma sonucunda HSPB1 gen ifadesindeki azalmanın gevreklik (Bernard ve ark., 2007; Rosa ve ark., 2018; Sacca ve ark., 2015) ve sululuğu arttırdığı görülmüştür (Bernard ve ark., 2007). HSP27 proteinleri ile gerçekleştirilen çalışmalarda, bu proteinin düşük gevreklik değerleriyle ilişkili olduğunu saptanmıştır (Carvalho ve ark., 2014; Morzel ve ark., 2008). Pulford ve ark., (2009) HSPB1 seviyesinin pH'ya bağlı olarak farklılık gösterebileceğini ve HSPB1 konsantrasyonunun etin kalitesine etki edebileceğini ifade etmiştir. Yapılan çalışmalardan anlaşıldığı üzere, et kalitesi ile ilişkilendirilen genler genellikle kasların ete dönüşümü üzerine etkili genlerdir. HSPB1 geni üzerinde yapılan çalışmalar, bu genin ifadesinin et kalitesinin belirlenmesinde etkili olması gerektiğini ve bu nedenle belirteç olarak kullanılabileceğini savunmaktadır. Teorik olarak, bir genin et kalitesinin belirlenmesinde etkili olması için, farklı kas gruplarında farklı seviyelerde ifade olması gerekmektedir. Aksi durumda, tüm kaslarda eşit seviyede ifade edilen genler, tüm kasların ete dönüşmesine eşit seviyede katkıda bulunacaktır. Bu nedenle kalite ile ilişkilendirilen gen ifadeleri için, kas bölgeleri arasında farklılıklar bulunması beklenmektedir. Yapmış olduğumuz çalışmada HSPB1 geninin kaslar arasında ifade farklılığı varmış gibi görülse de, bu farklılık istatistiksel olarak anlamsızdır ($p > 0,05$) ve ilgili gen, et kalitesine tüm bölgelerde eşit seviyede etki etmektedir. Bu nedenle HSPB1 gen ifadesinin, et kalitesine bir etkisinin olmadığı düşüncesindeyiz.

Gagaoua ve ark., (2017a) yapmış oldukları çalışmada, sığırlarda HSPA1A proteininin pençetada (*m. rectus abdominis*), antrikottan (*m. longissimus thoracis*) daha fazla bulunduğu, ancak HSP70'in diğer izoformları olan HSPA1B ve HSPA9 proteinlerinin her iki bölgede de eşit olduğu tespit edilmiştir. Aynı çalışmada HSPA1A

geninden sentezlenen proteinin pH, renk “a” ve renk “b” ile negatif korelasyon gösterdiği görülmüştür. Domuz antrikot (*m.longissimus thoracis*) ve kontrafile (*m.longissimus lumborum*) kaslarında yapılan başka bir çalışmada, HSPA1A geninin yüksek seviyelerde ifade olmasının düşük protein denatürasyonuna sebep olması ve buna bağlı olarak su kaybını azaltacağı öne sürülmüş, sonuç olarak yüksek seviyede HSPA1A gen ifadesi su kaybında azalma ile ilişkilendirilmiştir (Di Luca ve ark., 2011). Diğer yandan Sacca ve ark., (2015) ise HSPA1A geninin düşük seviyede ifadesinin gevreklik değerlerini arttırdığını ve et kalitesine etki ettiğini belirtmiştir. Zhao ve ark., (2012) ise Angus sığırlarında yaptığı çalışmada stressiz ve stresli iki grup oluşturmuştur. Kötü gevreklik değerine sahip stresli grupta HSPA1A gen ifadesi düşük, iyi gevreklik değeri veren stressiz kas grubunda HSPA1A gen ifadesi yüksek bulunmuştur. Sığırlarda, antrikot bölgesi ile yapılan bir başka çalışmada, HSPA1A gen ifadesinin tüm renk değerleri, pH ve gevreklik değerleri ile negatif korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir (Chulayo ve ark., 2016). Aynı zamanda HSPA1A geninin antrikot (*m.longissimus thoracis*) bölgesinde nuar (*m. semitendinosus*) bölgesine oranla daha fazla ifade edildiğinden bahsedilmiştir (Guillemin ve ark., 2011a). Başka bir çalışmada, HSPA1A gen ifadesinin antrikot bölgesinde gevreklikle pozitif, nuar bölgesinde ise gevreklikle negatif korelasyon gösterdiği belirlenmiştir (Guillemin ve ark., 2011a ve Guillemin ve ark., 2011b). Yapılan çalışmalarda görüldüğü üzere; bazı çalışmalar HSPA1A gen ifadesinin düşük, bazı çalışmalar ise yüksek olmasının et kalitesini olumlu etkilediğini göstermektedir. Yapmış olduğumuz çalışma bu çalışmalar ile örtüşmemektedir. Çünkü sonuçlarımız, HSPA1A gen ifadesinin, yüksek kaliteye sahip kaslar ile düşük kaliteye sahip kaslar arasında önemli bir farklılık göstermediğini ortaya koymaktadır.

HSPA1A geni için Gagaoua ve ark., (2017b) yapmış oldukları çalışmada, bu genin üç farklı besi standardında analizi gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonucunda, bu genin sadece bir beside pH ile ilişkili olduğu, bunun haricindeki gevreklikte dahil olmak üzere hiçbir analizde kalite ile ilişkilendirilemediği ortaya konmuştur. Elde etmiş olduğumuz veriler bu çalışma ile paralellik göstermektedir. Analiz sonuçlarımız; HSPA1A gen ifadesinin yalnızca antrikot ve arka bacakta anlamlı farklılık gösterdiğini karkasın diğer bölgelerinde eşit seviyede sentezlendiğini ortaya koymaktadır. HSPB1

geninde olduğu gibi bir genin, et kalitesinin belirlenmesinde etkili olması için, farklı kas gruplarında farklı seviyelerde ifade olması gerekmektedir. Aynı zamanda HSPA1A geninin yüksek ve düşük seviyede ifade olmasının et kalitesine olan etkisi için çelişkili sonuçlar bulunmaktadır (Di Luca ve ark., 2011 ve Sacca ve ark., 2015). Mevcut sonuçlar ve literatür bilgileri, HSPA1A geninin, et kalitesinin belirlenmesinde güvenilir bir belirteç olamayabileceğini düşündürmektedir.

Sığır ırkları arasında gen ifade seviyelerinin değişebileceğini daha önce yapılan çalışmalarda belirtilmiştir (Giusti ve ark., 2013 ve Mullins ve ark., 2016). Bazı çalışmalar ise farklı besi şartlarında, gen ifadelerinin farklılık gösterebileceği ve et kalitesi karakterlerine farklı şekillerde etki edebileceğini ortaya koymuştur (Gagaoua ve ark., 2017b ve Wang ve ark., 2015). Epigenetik mekanizmalarda et kalitesini etkileyebilmektedir (Zhao ve ark., 2012). Bu bağlamda, HSPB1 ve HSPA1A genlerinin et kalitesi ile olan ilişkisinin de, ırktan ırka veya besi şartına bağlı olmak üzere farklılık gösterebileceği düşünülmüştür. Aynı zamanda gelişim aşamasında kas içi yağlanma değerlerine etki ederek yine et kalitesine etki etme ihtimalleri bulunmaktadır.

Sonuçlarımız gevreklik değerinin, gıda analizleri açısından, et kalitesinin belirlenmesinde en önemli değer olduğunu bilgisini desteklemektedir. ANK1 geninin sığırlarda et kalitesi ile olan pozitif yönlü ilişkisi ilk kez bu çalışmada ortaya konmuştur. Yapısal bir gen olan ANK1 geninin, miyozin filamaları ile olan etkileşimi ve apoptozu indüklemesinin bir sonucu olarak, et kalitesinin belirlenmesinde CAPN1, CAST, HSPB1, HSPA1A genlerinden daha etkili olabileceği düşünülmektedir. Bununla birlikte CAPN1 gen ifadesinin, kaslar arasında farklılıklar gösterdiğini ve et kalitesini CAST'a bağlı olmaksızın etkileyebileceğini düşünülmüş, CAPN1 geninin et kalitesinin belirlenmesinde ANK1 ile birlikte iyi bir belirteç olabileceği sonucuna varılmıştır. Ayrıca CAST, HSPB1 ve HSPA1A genlerinin, et kalitesini belirlemede, uygun belirteç olmayabileceklerini düşündürmektedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışma sonucunda bazı kasların neden daha kaliteli olduğu ile ilgili gerek gıda analizleri gerekse moleküler düzeyde veriler ortaya konmuştur. Sığır karkasının 12 farklı bölgesinde ANK1, CAPN1, CAST, HSPB1 (HSP27) ve HSPA1A (HSP70) genlerinin et kalitesi ile olan ilişkileri ve kasların gevreklik değerleri karşılaştırmalı olarak incelenmiştir.

Yapısal genlerin et kalitesini etkileyebileceği düşünülse de proteolitik faktörler ve stres faktörlerinin, et kalitesi üzerindeki etkisi üzerine daha fazla çalışma yapılmıştır. Çalışmamızın sonucunda yapısal bir gen olan ANK1 gen ifadesi, sığırlarda ilk kez et kalitesi ilişkilendirilmiş ve et kalitesinin belirlenmesinde daha önce üzerinde çok sayıda çalışma yapılmış olan CAPN1, CAST, HSPB1 (HSP27) ve HSPA1A (HSP70) genlerinden çok daha anlamlı sonuçlar verdiğini ortaya koymuştur. Bu genin sığır karkasının kaliteli bölgelerinde daha fazla ifade olduğu gözlemlenmiştir. Bu nedenle de ANK1 geninin et kalitesinin belirlenmesinde iyi bir belirteç olabileceği sonucuna varılmıştır. ANK1 geninin et kalitesi ile olan ilişkisinin kapsamlandırılması ve üzerinde daha çok durulması önerilmektedir.

Et kalitesinin belirlenmesinde proteolitik sistemlerden calpain / calpastatin sisteminin önemi bilinmektedir. Elde etmiş olduğumuz veriler CAPN1 geninin et kalitesi ile olan ilişkisini destekler niteliktedir. CAPN1 geninin yüksek kaliteye sahip kaslarda daha fazla ifade olduğu ve yüksek kalite kaslardan düşük kalite kaslara doğru bir trendinin olduğu gözlemlenmiştir. Bu durum CAPN1 geninin, et kalitesinin belirlenmesinde iyi bir belirteç olabileceğini ortaya koymaktadır. Diğer yandan çalışma sonuçları, CAST geninin et kalitesinin belirlenmesinde beklendiği kadar etkili olmadığını göstermektedir. CAST geni yüksek ve düşük kalite kas bölgeleri arasında belirgin bir farklılık ortaya koymamıştır. Bu durum calpain / calpastatin sisteminde, CAST geninin, et kalitesinin belirlenmesinde CAPN1 geni kadar etkili olmadığını düşündürmektedir.

Stres ile ilişkili genlerin et kalitesini etkileyebileceği düşünülmektedir. Yapmış olduğumuz çalışmada stres ile ilişkilendirilen genlerden, HSPB1 ve HSPA1A genleri incelenmiştir. Çalışma sonucunda her iki geninde yüksek kaliteye sahip kaslar ile düşük kaliteye sahip kaslar arasında kayda değer bir farklılık yaratmadığı sonucuna varılmıştır. Bu veriler HSPB1 ve HSPA1A genlerinin et kalitesi ile olan ilişkisini sorgulatmaktadır. Her iki geninde et kalitesinin belirlenmesinde belirteç olarak tercih edilmemesi önerilmektedir.

Gevreklik değerleri ve gen ifadeleri verileri bir bütün olarak incelendiğinde, farklı kas bölgeleri arasında karşılaştırmalı olarak yapılan analizlerde, en büyük farkın *m.longissimus thoracis* (antrikot) ve *m. extensor digitorum* (arka bacak) kasları arasında olduğu görülmüştür. Et kalitesinin incelendiği ve tek bir kasın kullanıldığı çalışmalarda ise *m. psoas major* (bonfile) kasının kullanılması tavsiye edilmektedir. Bazı çalışmalarda *m. longissimus lumborum* ve *m. longissimus thoracis* birlikte *m. longissimus dorsi* olarak anılmakta ve bu iki kas tek bir kas gibi çalışılmaktadır. İstatistiksel olarak bu iki kas arasında hiçbir farklılığın bulunmamış olması, bu kasların tek bir kas olarak kullanılmasının sonucu değiştirmeyecebileceğini düşündürmektedir.

ANK1 ve CAPN1 genleri için hipotez kabul edilmiş, CAST, HSPB1 ve HSPA1A genleri için hipotez reddedilmiştir. Mevcut çalışmanın sonuçları üzerinden bir kas bölgesindeki gen ifadesine bakılarak diğer karkas bölgeleri hakkında yorum yapmanın doğru olmadığı düşünülmektedir. Böyle bir yorum yapılabilmesi için diğer ırklarda da aynı genler ve benzer karakter için çalışmaların yapılması gerekmektedir. Çalışmamız, diğer çalışmalar için bir ön veri oluşturacak seviyede veriyi ortaya koymaktadır.

Yapılan çalışmada özellikle ANK1 geni başta olmak üzere CAPN1, CAST, HSPB1 ve HSPA1A genleri için ortaya koyduğu bilgilerin et sektörü açısından önem arz edebilecek bilgiler olduğu düşünülmektedir. Aynı zamanda karşılaştırmalı analizlerde kullanılacak en farklı iki kas grubu da ilk kez bu çalışma ile ortaya konmuştur. Sonuç olarak bu verilerin, bilime, özgün ve önemli katkılar sağlayacağı düşünülmektedir.

ÖZET

Sığır Karkasının Farklı Kas Bölgelerinin Et Kalitesi ile İlişkili Önemli Gen İfadeleri Açısından Karşılaştırılması

Araştırma, sığır karkasının farklı kas bölgeleri arasındaki gen ifadesi ve kalite farklılıklarının tespiti amacı ile yapılmıştır.

Çalışmada, aynı yaş ve cinsiyette 15 Angus sığırı kullanılmış ve tüketime sunulan tüm karkas bölgelerini temsilen 12 farklı kas bölgesinden örneklem gerçekleştirilmiştir. Alınan örnekler; moleküler düzeyde qPCR analizleri gerçekleştirilerek ANK1, CAPN1, CAST, HSPB1 (HSP27), HSPA1A (HSP70) gen ifadeleri yönünden, gıda analizleri için gevreklik, pişirme kaybı, su tutma kapasitesi, renk (L, a, b), pH-sıcaklık değerleri yönünden ve histolojik analizler için sarkomer uzunluğu açısından incelemeye alınmıştır.

ANK1 geninin, yüksek kaliteye sahip kaslarda düşük kaliteye sahip kaslara kıyasla daha fazla ifade olduğu görülmüş ve diğer tüm genlerden daha belirgin bir farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. CAPN1 geninin de ise yüksek kaliteye sahip kaslardan düşük kaliteye sahip kaslara doğru bir azalma trendi olduğu gözlemlenmiştir. CAST, HSPB1 ve HSPA1A genlerinin yüksek ve düşük kaliteli kaslar arasında anlamlı bir farklılık göstermediği ortaya konmuştur. Gıda analizlerinde ise değerlendirmeye en uygun sonuçların gevreklik analizi olduğu görülmüştür.

Bu araştırma ile ANK1 ve CAPN1 genlerinin et kalitesinin belirlenmesinde önemli bir belirteç olabileceği, CAST, HSPB1 ve HSPA1A genlerinin ise et kalitesinin belirlenmesinde belirteç olarak kullanılmasının uygun olmadığı sonucuna varılmıştır. Bununla birlikte aynı hayvanın farklı karkas bölgelerinde yapılabilecek çalışmalarda *m. longissimus thoracis* ve *m. extensor digitorum* kaslarının karşılaştırmalı olarak kullanılmasının diğer kas bölgelerinin kullanılmasına kıyasla daha doğru sonuçlar verebileceği ortaya konmuştur.

Anahtar Kelimeler: Et Kalitesi, Gen İfadesi, Gevreklik, Karkas Bölümleri, qPCR

SUMMARY

Comparison Different Carcass Parts of Steer with Regard to Expression of Major Genes Associated with Meat Quality

The research was carried out with the aim of detecting the expression of genes and quality differences between different muscle groups of the bovine carcass.

In the present study, 15 Angus were used in the same age and gender, and 12 different muscle groups were sampled to represent all the carcass parts that were offered for consumption. Following that qPCR analysis was performed for ANK1, CAPN1, CAST, HSPB1 (HSP27), HSPA1A (HSP70) genes and tenderness, cooking loss, water holding capacity, color (L, a, b), pH, temprature, sarcomer lenght analysis performed for meat quality traits.

Our findings reveal that ANK1 gene expression was found higher in high quality muscles comparing with low quality muscles. Also that gene shows better relation with meat quality as against the other meat quality related genes. Furthermore, the trend of CAPN1 gene expression decrease from high quality muscles to low quality muscles which indicate that the gene could be relatable with meat quality. Nevertheless CAST, HSPB1 and HSPA1A genes do not represent any significant difference between high and low quality muscles. Additionally, in meat quality analysis, it has been seen that the most appropriate outcome come up from the tenderness results.

Collectively, ANK1 and CAPN1 genes are important biomarkers for determining the meat quality and CAST, HSPB1, HSPA1A genes may not be suitable biomarkers for the determination quality of meat. Besides that our results also indicate that comparative use of *m. longissimus thoracis* and *m. extensor digitorum* muscles may give more accurate results than using other muscle groups in comparative studies.

Keywords: Carcass Class, Gene Expression, Meat Quality, qPCR, Tenderness

KAYNAKLAR

- AKOL N, UĞUR M, ÇALIŞLAR T (1988). Sığır gövde etlerinin parçalanması ve perakende et satışlarında kullanılan et preparatlarının adlandırılması. *J. Fac. Vet. Med. İstanbul Üniv.* **14(2)**: 61-66.
- ASHISH S, BHURE SK, HARIKRISHNA P, RAMTEKE SS, MUHAMMED KUTTY VH, SHRUTHI N, RAVI KUMAR GV, MANISH M, GHOSH SK, MIHIR S (2017). Identification and evaluation of reference genes for accurate gene expression normalization of fresh and frozen-thawed spermatozoa of water buffalo (*Bubalus bubalis*). *Theriogenology*. **(92)**: 6-13.
- ASLAN O, HAMILL RM, MULLEN AM, DAVEY GC, GIL M, GLADNEY CD, SWEENEY T (2012). Association between promoter polymorphisms in a key cytoskeletal gene (Ankyrin 1) and intramuscular fat and water-holding capacity in porcine muscle. *Mol. Biol. Rep.* **39**: 3903-3914.
- ASLAN O, SWEENEY T, MULLEN AM, HAMILL RM (2010). Regulatory polymorphisms in the bovine Ankyrin 1 gene promoter are associated with tenderness and intramuscular fat content. *BMC Genet.* **11**: 111.
- AVILES C, POLVILLO O, PENA F, JUAREZ M, MARTINEZ AL, MOLINA A (2014). Associations between DGAT1, FABP4, LEP, RORC and SCD1 gene polymorphisms and fat deposition in Spanish commercial beef. *J. Anim. Sci.* **91**: 4571-4577.
- BAGNATO P, BARONE V, GIACOMELLO E, ROSSI D, SORRENTINO V (2003). Binding of an ankyrin-1 isoform to obscurin suggests a molecular link between the sarcoplasmic reticulum and myofibrils in striated muscles. *J. Cell Biol.* **160(2)**: 245-253.
- BAL O, AKYÜZ B (2014). Halk Elinde Yetiştirilen Holştayn, Doğu Anadolu Kırmızısı ve Yerli Kara Sığır Irklarında Diacylglycerol O-Acyltransferase 1 (DGAT1) Gen Polimorfizminin PCR-RFLP Yöntemi ile Belirlenmesi. *Erciyes Üniv. Vet. Fak. Derg.* **11(1)**: 7-13.
- BAYRAKTAROĞLU AG, KAHRAMAN T (2011). Effect of muscle stretching on meat quality of biceps femoris from beef. *Meat Sci.* **(88)**: 580-583.
- BELEW JB, BROOKS JC, MC KENNA DR, SAVELL JW (2003). Warner-Bratzler shear evaluations of 40 bovine muscles. *Meat Sci.* **64**: 507-512.
- BERNARD C, CASSAR-MALEK I, LE CUNFF M, DUBROEUCQ H, RENAND G, HOCQUETTE JF (2007). New indicators of beef sensory quality revealed by expression of specific genes. *J. Agric. Food Chem.* **55(13)**: 5229-5237.
- BHARDWAJ A, AGGARWAL BB (2003). Receptor-Mediated Choreography of Life and Death. *J. Clin. Immunol.* **23(5)**: 317-332.
- BOIVIN P, GALAND C, DHERMY D (1990). In vitro digestion of spectrin, protein 4.1 and ankyrin by erythrocyte calcium dependent neutral protease (Calpain I). *Inter. J. of Biochem.* **22(12)**: 1479-1489.

- BRADFORD HL, FRAGOMENI BO, BERTRAND JK, LOURENCO DA, MISZTAL I (2016). Genetic evaluations for growth heat tolerance in Angus cattle. *J. Anim. Sci.* **94(10)**: 4143-4150.
- BROADBENT AD (2017). Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry. LINDON JC, TRANTER GE, KOPPENAAL DW. 3th Edition. *Elsevier*. P:321-327.
- BRUCE HL, BALL RO (1990). Postmortem interactions of muscle temperature, pH and extension on beef quality. *J. Anim. Sci.* **68**: 4167–4175.
- CARVALHO ME, GASPARIN G, POLETI MD, ROSA AF, BALIEIRO JC, LABATE CA, NASSU RT, TULLIO RR, REGITANO LC, MOURAO GB, COUTINHO LL (2014). Heat shock and structural proteins associated with meat tenderness in Nellore beef cattle, a *Bos indicus* breed. *Meat Sci.* **96(3)**: 1318-1324.
- CASSAR-MALEK I, PICARD B (2016). Expression Marker-Based Strategy to Improve Beef Quality. *The Sci. World J.* 1-11.
- CASTRO S, RIOS M, ORTIZ Y, MANRIQUE C, JIMENEZ A, ARIZA F (2016). Association of single nucleotide polymorphisms in CAPN1, CAST and MB genes with meat color of Brahman and crossbreed cattle. *Meat Sci.* **117**: 44-49.
- CHEN F, MOTTINO G, SHIN VY, FRANK JS (1997). Subcellular Distribution of Ankyrin in Developing Rabbit Heart—Relationship to the Na⁺–Ca²⁺ Exchanger. *J. Mol. Cell Cardiol.* **29**: 2621–2629.
- CHULAYO AY, BRADLEY G, MUCHENJE V (2016). Effects of transport distance, lairage time and stunning efficiency on cortisol, glucose, HSPA1A and how they relate with meat quality in cattle. *Meat Sci.* **117**: 89-96.
- CHUNG HY, DAVIS ME (2011). Effects of calpain genotypes on meat tenderness and carcass traits of Angus bulls. *Mol. Biol. Rep.* **38**: 4575-4581.
- CIOBANU DC, BASTIAANSEN JW, LONERGAN SM, THOMSEN H, DEKKERS JC, PLASTOW GS, ROTHSCILD MF (2004). New alleles in calpastatin gene are associated with meat quality traits in pigs. *J. Anim. Sci.* **82(10)**: 2829-2839.
- CORVA P, SORIA L, SCHOR A, VILLARREAL E, CENCI MP, MOTTER M, MEZZADRA C, MELUCCI L, MIQUEL C, PAVAN E, DEPETRIS G, SANTINI F, NAON JG (2007). Association of CAPN1 and CAST gene polymorphisms with meat tenderness in *Bos taurus* beef cattle from Argentina. *Genet. and Mol. Biol.* **30(4)**: 1064-1069.
- COŞKUN G, AKYÜZ B (2016). Detection of Akirin 2 Gene Polymorphism with PCR-RFLP Method in Some Cattle Breeds Reared in Turkey. *Van Vet. J.* **27(3)**: 123-127.
- CROSSMON G (1937). A modification of Mallory's connective tissue stain with a discussion of the principles involved. *Anat. Rec.* **69(1)**: 33-38.
- CUNHA SR, MOHLER PJ (2009). Ankyrin protein networks in membrane formation and stabilization. *J. Cell. Mol. Med.* **13(11-12)**: 4364–4376.

- DAMON M, DENIEUL K, VINCENT A, BONHOMME N (2013). Associations between muscle gene expression pattern and technological and sensory meat traits highlight new biomarkers for pork quality assessment. *Meat Sci.* **95**: 744-754.
- DI LUCA A, MULLEN AM, ELIA G, DAVEY G, HAMILL RM (2011). Centrifugal drip is an accessible source for protein indicators of pork ageing and water-holding capacity. *Meat Sci.* **88**(2): 261-270.
- DRANSFIELD E (1994). Optimization of tenderization, ageing, tenderness. *Meat Sci.* **36**: 105–121.
- ERGEZER H, SERDAROGLU M (2008). Et ve Et Ürünlerinde Su Tutma Kapasitesi ve Ölçüm Yöntemleri. *Türkiye 10. Gıda Kongresi.* 493-496.
- FUENTE JDL, PEREZ C, VIEIRA C, SANCHEZ M, CHAVARRI EG, GARCIA MD, ALVAREZ I, DIAZ MT (2006). The effect of transport on pH evolution of different muscles in suckling lambs. *52th International Congress of Meat Sci. and Technology.* 177-178.
- GABAI VL, SHERMAN MY (2002). Invited review: Interplay between molecular chaperones and signaling pathways in survival of heat shock. *J. Appl. Physiol.* **92**(4): 1743-1748.
- GAGAOUA M, COUVREUR S, LE BEC G, AMINOT G, PICARD B (2017a). Associations among Protein Biomarkers and pH and Color Traits in Longissimus thoracis and Rectus abdominis Muscles in Protected Designation of Origin Maine-Anjou Cull Cows. *J. Agric. Food Chem.* **65**(17): 3569-3580.
- GAGAOUA M, MONTEILS V, COUVREUR S, PICARD B (2017b). Identification of Biomarkers Associated with the Rearing Practices, Carcass Characteristics, and Beef Quality: An Integrative Approach. *J. Agric. Food Chem.* **65**(37): 8264-8278.
- GALLAGHER PG, FORGET BG (1998). An alternate promoter directs expression of a truncated, muscle-specific isoform of the human ankyrin 1 gene. *J. Biol. Chem.* **273**(3): 1339–1348.
- GALLAGHER PG, TSE WT, SCARPA AL, LUX SE, FORGET BG (1997). Structure and organization of the human ankyrin-1 gene. Basis for complexity of pre-mRNA processing. *J. Biol. Chem.* **272**(31): 19220–19228.
- GANDOLFI G, POMPONIO L, ERTBJERG P, KARLSSON AH, NANNI COSTA L, LAMETSCH R, RUSSO V, DAVOLI R (2011). Investigation on CAST, CAPN1 and CAPN3 porcine gene polymorphisms and expression in relation to post-mortem calpain activity in muscle and meat quality. *Meat Sci.* **88**(4): 694-700.
- GEESINK GH, KUCHARAY S, CHISHTI AH, KOOHMARAIE M (2006). μ -Calpain is essential for postmortem proteolysis of muscle proteins. *J. Anim. Sci.* **84**: 2834-2840.
- GEESINK GH, TAYLOR RG, KOOHMARAIE M (2005). Calpain 3/p94 is not involved in postmortem proteolysis. *J. Anim. Sci.* **83**(7): 1646-1652.
- GERRARD DE, GRANT AL (2003). Principles of Animal Growth and Development. *Kendall/Hunt Publishing.* Chapter 5.

- GIUSTI J, CASTAN E, PAI MD, ARRIGONI MB, BALDIN SR, OLIVEIRA HN (2013). Expression of genes related to quality of Longissimus dorsi muscle meat in Nellore (*Bos indicus*) and Canchim (5/8 *Bos taurus*×3/8 *Bos indicus*) cattle. *Meat Sci.* **94**: 247-252.
- GOLL DE, THOMPSON VF, LI H, WEI W, CONG J (2003). The Calpain System. *Physiol. Rev.* **83**: 731-801.
- GOLL DE, THOMPSON VF, TAYLOR RG, OUALI A (1998). The calpain system and skeletal muscle growth. *Can. J. Anim. Sci.* **78**: 503-512.
- GUI L, WANG H, WEI S, ZHANG Y, ZAN L (2014). Molecular characterization, expression profiles, and analysis of Qinchuan cattle SIRT1 gene association with meat quality and body measurement traits (*Bos taurus*). *Mol. Biol. Rep.* **41**: 5237-5246.
- GUIFEN L, FACHUN W, ENLIANG S, XIAOMU L, XIUWEN T, HAIJIAN C (2014). SNP Identification and Analysis in Part of Exon 3 of Beef Cattle MSTN Gene and Variation among Breeds. *J. Ani. and Vet. Adv.* **13**(3): 147-177.
- GUILLEMIN N, BONNET M, JURIE C, PICARD B (2011a). Functional analysis of beef tenderness. *J. Proteomics.* **75**(2): 352-365.
- GUILLEMIN N, JURIE C, CASSAR-MALEK I, HOCQUETTE JF, RENAND G, PICARD B (2011b). Variations in the abundance of 24 protein biomarkers of beef tenderness according to muscle and animal type. *Animal.* **5**(6): 885-894.
- GUO X, LIU X, XU X, WU M, ZHANG X, LI Q, LIU W, ZHANG Y, WANG Y, YU Y (2012). The expression levels of DNMT3a/3b and their relationship with meat quality in beef cattle. *Mol. Biol. Rep.* **39**: 5473-5479.
- HAMILL RM, MCBRYAN J, MCGEE C, MULLEN AM, SWEENEY T, TALBOT A, CAIRNS MT, DAVEY GC (2012). Functional analysis of muscle gene expression profiles associated with tenderness and intramuscular fat content in pork. *Meat Sci.* **92**(4): 440-450.
- HECK TG, SCOMAZZON SP, LUDWIG MS, BITTENCOURT PIH (2012). Role of Heat Shock Proteins in Skeletal Muscle. *Skeletal Muscle - From Myogenesis to Clinical Relations*. CSERI J. InTech. Chapter: 5.
- HILDRUM KI, RODBOTTEN R, HOY M, BERG J, NARUM B, WOLD JP (2009). Classification of different bovine muscles according to sensory characteristics and Warner Bratzler shear force. *Meat Sci.* **83**(2): 302-307.
- HOCQUETTE JF, BERNARD C, VIDAL V, JESSON B, LEVEZIEL H, RENAND G, CASSAR-MALEK I (2012). The Genotend chip: a new tool to analyse gene expression in muscles of beef cattle for beef quality prediction. *BMC Vet. Research.* **8**: 135.
- HOCQUETTE JF, CASSAR-MALEK I, BERNARD C, PICARD B (2009). Functional genomics and new markers for beef production. *Anim. Sci. Papers and Reports* **27**(4): 273-280.
- HORODYSKA J, SWEENEY T, RYAN M, HAMILL RM (2015). Novel SNPs in the Ankyrin 1 gene and their association with beef quality traits. *Meat Sci.* **108**: 88-96.

- HRYNIEWICZ-JANKOWSKA A, CZOGALLA A, BOK E, SIKORSK AF (2002). Ankyrins, multifunctional proteins involved in many cellular pathways. *Folia. Histochem. Cytobiol.* **40(3)**: 239-249.
- HUNT MC, KING DA (2012). Meat Color Measurment Guidelines. *The American Meat Sci. Association*. P: 15-17.
- HWANG IH, THOMPSON JM (2001). The interaction between pH and temperature decline early postmortem on the calpain system and objective tenderness in electrically stimulated beef longissimus dorsi muscle. *Meat Sci.* **58(2)**: 167–174.
- IDTDNA (2018). OligoAnalyzer 3.1. Eriřim Adresi: [<https://eu.idtdna.com/calc/analyzer>]. Eriřim Tarihi: 21/04/2018.
- İNAL T (1995). Kesim Hayvanı ve Et Muayenesi. *Saray Kitabevleri*, İstanbul.
- JEONG JY, KWON SG, HWANG JH, PARK DH, BANG WY, KIM TW, CHO HR, KO M, CHO IC, JOO YK, JEONG MA, KIM SW, KIM CW (2014). Differential expressions of HSP27 and HSP70 is induced in the longissimus dorsi muscle of fattening pigs fed a fermented carrot by-product. *J. of Appl. Anim. Research.* **42(3)**: 321-326.
- JIN HJ, PARK BY, PARK JC, HWANG IH, LEE SS, YEON SH, KIM CD, CHO CY, KIM YK, MIN KS, FENG ST, LI ZD, PARK CK, KIM CI (2006). The Effects of Stress Related Genes on Carcass Traits and Meat Quality in Pigs. *Asian-Australas J. Anim. Sci.* **19(2)**: 280-285.
- JONES BK, TATUM JD (1994). Predictors of beef tenderness among carcasses produced under commercial conditions. *J. of Anim. Sci.* **72**: 1492–1501.
- KAHRAMAN T, BAYRAKTAROĞLU AG, ISSA G, AKSU F (2010). Bazı Organik Asitlerle Yapılan Marinasyon işleminin Sığır Et Kalitesi Üzerine Etkisi. *J. Fac. Vet. Med. İstanbul Üniv.* **36(2)**: 25-31.
- KAHRAMAN T, BAYRAKTAROĞLU AG, VURAL A, ISSA G, ERGUN E (2011). Electron microscopy of contractile bands and quality characteristics in high-voltage electrical stimulation broiler breast meat. *Poultry Sci.* **(90)**: 486–490.
- KAHVECİOĞLU KO, GÖKÇE R (1995). Sığır karkaslarındaki bazı değerli et preparatlarının anatomik yapılarının ve fonksiyonlarının organoleptik kalitesine etkisi. *Y.Y.Ü. Vet. Fak. Derg.* **6(1-2)**: 68-89.
- KENT MP, SPENCER MJ, KOOHMARAIE M (2004). Postmortem proteolysis is reduced in transgenic mice overexpressing calpastatin. *J. Anim. Sci.* **82(3)**: 794-801.
- KIM NK, LIM D, LEE SH, CHO YM, PARK EW, LEE CS, SHIN BS, KIM TH, YOON D (2011). Heat shock protein B1 and its regulator genes are negatively correlated with intramuscular fat content in the longissimus thoracis muscle of Hanwoo (Korean cattle) steers. *J. Agric. Food Chem.* **59(10)**: 5657-5664.
- LAWRENCE TLJ, FOWLER VR (2002). Growth of Farm Animals. 2th Edition. *CABI Publishing*. Chapter 4-7.

- LI X, EKERLJUNG M, LUNDSTROM K, LUNDEN A (2013). Association of polymorphisms at DGAT1, leptin, SCD1, CAPN1 and CAST genes with color, marbling and water holding capacity in meat from beef cattle populations in Sweden. *Meat Sci.* **94(2)**: 153-158.
- LIM D, LEE SH, CHO YM, CHOI BH, CHOI HH, SEONG HH, HONG SK, KIM NK (2012). Association of Heat Shock Protein Beta 1 (HSPB1) Gene Expression with Tenderness in Loin Muscle of Korean Cattle (Hanwoo). *J. of Life Sci.* **22(11)**: 1523-1528.
- LIN-GIANG L, WAN-GIANG T, LIN-SEN Z (2011). Effects of Age on Quality of Beef from Qinchuan Cattle Carcass. *Agricul. Sci. In China.* **10(11)**: 1765-1771.
- LIVAK KJ, SCHMITTGEN TD (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods.* **25(4)**: 402-408.
- MALHEIROS JM, ENRIQUEZ-VALENCIA CE, DA SILVA DURAN BO, DE PAULA TG, CURI RA, DE VASCONCELOS SILVA JAI, DAL PAI SILVA M, DE OLIVEIRA HN, CHARDULO, LAL (2018). Association of CAST2, HSP90AA1, DNAJA1 and HSPB1 genes with meat tenderness in Nellore cattle. *Meat Sci.* **138**: 49-52.
- MALTIN C, BALCERZAK D, TILLEY R, DELDAY M (2003). Determinants of meat quality: tenderness. *Proc. Nutr. Soc.* **62(2)**: 337-347.
- MARSHALL OJ (2004). PerlPrimer: cross-platform, graphical primer design for standard, bisulphite and real-time PCR. *Bioinfo. Appl. Note.* **20(15)**: 2471-2472.
- MAY SG, DOLEZAL HG, GILL DR, RAY FK, BUCHANAN DS (1992). Effects of days fed, carcass grade traits, and subcutaneous fat removal on postmortem muscle characteristics and beef palatability. *J. of Anim. Sci.* **70**: 444-453.
- MAZZUCCO JP, MELUCCI LM, VILLARREAL EL, MEZZADRA CA, SORIA L, CORVA P, MOTTER MM, SCHOR A, MIQUEL MC (2010). Effect of ageing and μ -calpain markers on meat quality from Brangus steers finished on pasture. *Meat Sci.* **86(3)**: 878-882.
- MEYERS SN, BEEVER JE (2008). Investigating the genetic basis of pork tenderness: genomic analysis of porcine CAST. *Anim. Genet.* **39(5)**: 531-543.
- MILLER RK (2002). Factors affecting the quality of raw meat. *Meat Processing: Improving Quality*. KERRY JP, KERRY JF, LEDWARD DA. Woodhead Publishing Limited. Chapter 3.
- MİLLİ EĞİTİM BAKANLIĞI (2013). Et ve Ürünleri Analizleri 1. *Gıda Teknolojisi.* s.:12-14.
- MORZEL M, TERLOUW C, CHAMBON C, MICOL D, PICARD B (2008). Muscle proteome and meat eating qualities of longissimus thoracis of “Blonde d’aquitaine” young bulls: A central role of hsp27 isoforms. *Meat Sci.* **78**: 297-304.
- MULLEN AM (2002). New Techniques for Analysing Raw Meat Quality. *Meat Processing: Improving Quality*. KERRY JP, KERRY JF, LEDWARD DA. Woodhead Publishing Limited. Chapter 19.

- MULLINS CR, ZERBY HN, FITZPATRICK LA, PARKER AJ (2016). Bos indicus cattle possess greater basal concentrations of HSP27, alpha B-crystallin, and HSP70 in skeletal muscle in vivo compared with Bos taurus cattle. *J. Anim. Sci.* **94**: 424-429.
- MUROYA S, NEATH KE, NAKAJIMA I, OE M, SHIBATA M, OJIMA K, CHIKUNI K (2012). Differences in mRNA expression of calpains, calpastatin isoforms and calpain/calpastatin ratios among bovine skeletal muscles. *Anim. Sci. J.* **83**(3): 252-259.
- O'HALLORAN GR, TROY DJ, BUCKLEY DJ, REVILLER WJ (1997). The role of endogenous proteases in the tenderization of fast glycolysing muscle. *Meat Sci.* **47**: 187-210.
- OH D, LA B, LEE Y, BYUN Y, LEE J, YEO G, YEO J (2013). Identification of novel single nucleotide polymorphisms (SNPs) of the lipoprotein lipase (LPL) gene associated with fatty acid composition in Korean cattle. *Mol. Biol. Rep.* **40**: 3155-3163.
- PAGE BT, CASAS E, HEATON MP, CULLEN NG, HYNDMAN DL, MORRIS CA, CRAWFORD AM, WHEELER TL, KOOHMARAIE M, KEELE JW, SMITH TP (2002). Evaluation of single-nucleotide polymorphisms in CAPN1 for association with meat tenderness in cattle. *J. Anim. Sci.* **80**(12): 3077-3085.
- PARKUNAN T, DAS AK, BANERJEE D, MOHANTY N, PAUL A, NANDA PK, BISWAS TK, NASKAR S, BAG S, SARKAR M, MOHAN NH, DAS BC (2017). Changes in expression of monocarboxylate transporters, heat shock proteins and meat quality of Large White Yorkshire and Ghungroo pigs during hot summer period. *Asian-Australas J. Anim. Sci.* **30**(2): 246-253.
- PEARCE KL, ROSENVOLD K, ANDERSEN HJ, HOPKINS DL (2011). Water distribution and mobility in meat during the conversion of muscle to meat and ageing and the impacts on fresh meat quality attributes. *Meat Sci.* **89**(2): 111-124.
- PEREZ R, TUPAC-YUPANQUI I, SUNNER S (2008). Evaluation of suitable reference genes for gene expression studies in bovine muscular tissue. *BMC Mol. Bio.* **9**: 79.
- PICARD B, GAGAOUA M, MICOL D, CASSAR-MALEK I, HOCQUETTE JF, TERLOUW CE (2014). Inverse relationships between biomarkers and beef tenderness according to contractile and metabolic properties of the muscle. *J. Agric. Food Chem.* **62**(40): 9808-9818.
- PIERZCHALA M, HOEKMAN AJ, URBANSKI P, KRUIJT L, KRISTENSEN L, YOUNG JF, OKSBJERG N, GOLUCH D, TE PAS MF (2014). Validation of biomarkers for loin meat quality (M. longissimus) of pigs. *J. Anim. Breed Genet.* **131**(4): 258-270.
- PIORKOWSKA K, NOWAK J, POLTOWICZ K, ROPKA-MOLIK K (2014). New polymorphisms in regulatory region of CAPN3 gene with no effect on gene expression in breast muscle of broiler chickens. *Ann. Anim. Sci.* **14**(3): 511-524.
- PULFORD DJ, DOBBIE P, FRAGA VAZQUEZ S, FRASER-SMITH E, FROST DA, MORRIS CA (2009). Variation in bull beef quality due to ultimate muscle pH is correlated to endopeptidase and small heat shock protein levels. *Meat Sci.* **83**(1): 1-9.
- REARDON W, MULLEN AM, SWEENEY T, HAMILL RM (2010). Association of polymorphisms in candidate genes with colour, water-holding capacity, and composition traits in bovine m. longissimus and m. semimembranosus. *Meat Sci.* **86**(2): 270-275.

- REDDY KE, JEONG JY, LEE SD, BAEK YC, OH YK, KIM M, SO KM, KIM DW, KIM JH, PARK S, LEE HJ (2017). Effect of different early weaning regimens for calves on adipogenic gene expression in Hanwoo loin at the fattening stage. *Livestock Sci.* **195**: 87-98.
- ROBINSON DL, CAFE LM, MCINTYRE BL, GEESINK GH, BARENDSE W, PETHICK DW, THOMPSON JM, POLKINGHORNE J, GREENWOOD PL (2015). Production and processing studies on calpain-system gene markers for beef tenderness: Consumer assessments of eating quality. *J. Anim. Sci.* **90**: 2850-2860.
- ROPKA-MOLIK K, ECKERT R, PIORKOWSKA K (2014). New polymorphisms in regulatory regions of porcine μ -calpain gene and their association with CAPN1 transcript abundance. *Ann. Anim. Sci.* **(14)3**: 525-535.
- ROPKA-MOLIK K, ROBERT E, TYRA M, PIORKOWSKA K OCZKOWICZ M, SZYNDLER-NEDZA M, BERETA A (2017). CAPN1 gene as a potential marker for growth performance and carcass characteristics in pigs. *Anim. Produc. Sci.* **57**: 1014-1021.
- ROSA AF, MONCAU CT, POLETI MD, FONSECA LD, BALIEIRO JC, SILVA SL, ELER, JP (2018). Proteome changes of beef in nellore cattle with different genotypes for tenderness. *Meat Sci.* **138**: 1-9.
- SACCA E, CORAZZIN M, PIZZUTTI N, LIPPE G, PIASSENTIER E (2015). Early post mortem expression of genes related to tenderization in two Italian Simmental young bulls' skeletal muscles differing in contractile type. *Anim. Sci. J.* **86**: 992-999.
- SAVAŞCI M, ATASOY F (2016). The investigation of calpastatin and thyroglobulin gene polymorphisms in some native cattle breeds. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.* **63**: 53-59.
- SCHENKEL FS, MILLER SP, JIANG Z, MANDELL IB, YE X, LI H, WILTON JW. (2006). Association of a single nucleotide polymorphism in the calpastatin gene with carcass and meat quality traits of beef cattle. *J. Anim. Sci.* **84(2)**: 291-299.
- SEVANE N, ARMSTRONG E, WIENER P, PONG WONG R, DUNNER S (2014). Polymorphisms in twelve candidate genes are associated with growth, muscle lipid profile and meat quality traits in eleven European cattle breeds. *Mol. Biol. Rep.* **41(7)**: 4721-4731.
- SHI M, GAO X, REN H, YUAN Z, WU H, LI J, ZHANG L, GAO H, LI J, XU S (2011). Association analysis of CAPN1 gene variants with carcass and meat quality traits in Chinese native cattle. *African J. of Biotech.* **10(75)**: 17367-17371.
- SHIN S, HEO J, CHUNG E (2011). Effect of Single Nucleotide Polymorphisms of Acetyl-CoA Carboxylase α (ACACA) Gene on Carcass Traits in Hanwoo (Korean Cattle). *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* **24(6)**: 744-751.
- SORRENTINO V (2004). Molecular determinants of the structural and functional organization of the sarcoplasmic reticulum. *Biochim. Biophys. Acta.* **1742(1-3)**: 113-118.
- SPSS Inc (2006). SPSS for Windows, Version 14.01. Chicago, SPSS Inc.
- SWATLAND (2002). On-Line Monitoring of Meat Quality. *Meat Processing: Improving Quality*. KERRY JP, KERRY JF, LEDWARD DA. Woodhead Publishing Limited. Chapter 10.

- TANG R, YU B, ZHANG K, GUO X, TIAN G, HUANG Z, CHEN X, CHEN D (2010). Effects of nutritional level on pork quality and gene expression of micro-calpain and calpastatin in muscle of finishing pigs. *Meat Sci.* **85(4)**: 768-771.
- TAŞÇI, F (2017). Etlerde meydana gelen renk değişikliği. *Göller Bölgesi Ekonomi ve Kültür Dergisi.* **4(47)**: 53-58.
- THU DTN (2006). Meat Quality: Understanding Of Meat Tenderness And Influence Of Fat Content On Meat Flavor. *Sci. & Tech. Dev.* **9(12)**: 65-70.
- TIZIOTO PC, MEIRELLES SL, VENERONI GB, TULLIO R, ROSA AN, ALENCAR MM, MEDEIROS SR, SIQUEIRA F, FEIJO GLD, SILVA LOD, TORRES RAA, REGITANO LCA (2012). A SNP in ASAP1 gene is associated with meat quality and production traits in Nelore breed. *Meat Sci.* **92**: 855-857.
- VANDESOMPELE J, DE PRETER K, PATTYN F, POPPE B, VAN ROY N, DE PAEPE A, SPELEMAN F (2002). Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. *Genome Biol.* **3(7)**: 0034.1-0034.11.
- VEISETH-KENT E, PEDERSEN ME, RONNING SB, RODBOTTEN R (2018). Can postmortem proteolysis explain tenderness differences in various bovine muscles?. *Meat Sci.* **137**: 114-122.
- VERGARA H, GALLEGO L (2000). Effect of electrical stunning on meat quality of lamb. *Meat Sci.* **(56)**: 345-349.
- VERGARA H, LINARES MB, BERRUGA MI, GALLEGO L (2005). Meat quality in suckling lambs: effect of preslaughter handling. *Meat Sci.* **(69)**: 473-478.
- VURAL H, OZTAN A (1996). Et ve Ürünleri Kalite Kontrol Laboratuvarı Uygulama Kılavuzu. *H. Ü. Müh. Fak. Yay.* **36(1)**: Ankara
- WANG D, ZHOU L, ZHOU H, HOU G, SHI L, LI M, HUANG X, GUAN S (2015). Effects of nutritional level of concentrate-based diets on meat quality and expression levels of genes related to meat quality in Hainan black goats. *Anim. Sci. J.* **86(2)**: 166-173.
- WANG LL, LU XP, MENG LW, HUANG Y, WEI D, JIANG HB, SMAGGHE G, WANG JJ (2016). Functional characterization of an α -esterase gene involving malathion detoxification in *Bactrocera dorsalis* (Hendel). *Pestic. Biochem. Physiol.* **(130)**: 44-51.
- WIMMERS K, MURANI E, TE PAS MF, CHANG KC, DAVOLI R, MERKS JW, HENNE H, MURANIOVA M, DA COSTA N, HARLIZIUS B, SCHELLANDER K, BÖLL I, BRAGLIA S, DE WIT AA, CAGNAZZO M, FONTANESI L, PRINS D, PONSUKSILI S (2007). Associations of functional candidate genes derived from gene-expression profiles of prenatal porcine muscle tissue with meat quality and muscle deposition. *Anim. Genet.* **38**: 474-484.
- WULF DM, WISE JW (1999). Measuring Muscle Color on Beef Carcasses Using the L*a*b* Color Space. *J. Anim. Sci.* **77**: 2418-2427.
- YANG WC, WANG YN, CUI A, ZAN LS (2015). Polymorphisms of the bovine MC3R gene and their associations with body measurement traits and meat quality traits in Qinchuan cattle. *Genet. Mol. Res.* **14(4)**: 11876-11883.

- YANG X, CHEN J, JIA C, ZHAO R (2012). Gene expression of calpain 3 and PGC-1 α is correlated with meat tenderness in the longissimus dorsi muscle of Sutan pigs. *Livestock Sci.* **147**: 119-125.
- YU J, TANG S, BAO E, ZHANG M, HAO Q, YUE Z (2009). The effect of transportation on the expression of heat shock proteins and meat quality of M. longissimus dorsi in pigs. *Meat Sci.* **83**: 474-478.
- ZHAO C, TIAN F, YU Y, LUO J, MITRA A, ZHAN F, HOU Y, LIU G, ZAN L, UPDIKE MS, SONG J (2012). Functional Genomic Analysis of Variation on Beef Tenderness Induced by Acute Stress in Angus Cattle. *Comp. Funct. Genomics.* **2012**: 756284.
- ZHENG YC, LIN YQ, YUE Y, XU YO, JIN SY (2011). Expression profiles of myostatin and calpastatin genes and analysis of shear force and intramuscular fat content of yak longissimus muscle. *Czech J. Anim. Sci.* **(12)**: 544–550.
- ZHOUD, BIRKENMEIER CS, WILLIAMS MW, SHARP JJ, BARKER JE, BLOCH RJ (1997). Small, membrane-bound, alternatively spliced forms of ankyrin 1 associated with the sarcoplasmic reticulum of mammalian skeletal muscle. *J. Cell Biol.* **136(3)**: 621–631.
- ZHOU GL, CAO Y, JIN HG (2014). Identification of SNPs in ME1 gene and association analysis with meat quality traits in Chinese Red cattle. *Czech J. Anim. Sci.* **59(7)**: 297-301.

EKLER

Ek 1. Etik Kurul Raporu



**T.C.
ANKARA ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ**
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARI

TOPLANTI TARİHİ : 24/02/2016
TOPLANTI NO : 2016-5
DOSYA NO : 2016-34
KARAR NO : 2016-5-41

Yürütücülüğünü Üniversitemiz Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Doç.Dr.Alev Gürol Bayrakturoğlu'nun yaptığı, araştırmacı olarak Doç.Dr.Tolga Kahramanoğlu ve Cevat Temizkan'ın katıldığı "Sığır Karkasının Farklı Kas Bölgelerinin Et Kalitesi ile İlişkili Önemli Gen İfadeleri Açısından Karşılaştırılması" başlıklı araştırma projesinin içeriği Kurulumuzca incelenmiştir.Söz konusu çalışma, 15 Şubat 2014 tarihli Hayvan Deneyleri Etik Kurullarının Çalışma Usul ve Esaslarına Dair Yönetmeliğinin, 8 inci maddesinin sekizinci fıkrasının (k) bendi kapsamında ele alınmış olup, çalışma Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu iznine tabi değildir.

ETİK KURUL ÜYELERİ				
Ünvanı / Adı / Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İmza
Prof.Dr.M.Taner KARAOĞLU (Başkan)	Viropoloji Anabilim Dalı	Veteriner Fakültesi	E	
Prof.Dr.Tanju ÖZÇELİKAY (Başkan Vekili)	Farmakoloji Anabilim Dalı	Eczacılık Fakültesi	E	
Prof.Dr.Nuri YİĞİT (Üye)	Zooloji Anabilim Dalı	Fen Fakültesi	E	
Prof.Dr.Fatin CEDDEN (Üye)	Hayvan Yetiştirme Anabilim Dalı	Ziraat Fakültesi	E	
Prof.Dr.Aydın YAĞMURLU (Üye)	Çocuk Cerrahisi Anabilim Dalı	Tıp Fakültesi	E	
Prof.Dr.Mine KIRKAĞAÇ (Üye)	Su Ürünleri Anabilim Dalı	Ziraat Fakültesi	K	
Prof.Dr.Emine DEMİREL YILMAZ (Üye)	Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı	Tıp Fakültesi	K	
Yrd.Doç.Dr.Mehmet SAĞLAM (Üye)	Cerrahi Anabilim Dalı	Veteriner Fakültesi	E	
Yrd.Doç.Dr.Atilla ÖZGÜR (Üye)	Veteriner Hekimliği Tarihi ve	Veteriner Fakültesi	E	

	Deontoloji Anabilim Dalı			
Uzm.Vet.Hek.Atilla İŞGÖREN (Üye)	Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Laboratuvarı	Tıp Fakültesi	E	
Vet.Hek.Dr.Akife KAYA (Üye)	Referans Veteriner Kliniği	Serbest	K	
Uzm. Vet.Hek.Hüseyin DEDE (Üye)	Veteriner Hekimler Derneği	Serbest	E	
Fatma Aysun ÇOSKUN (Üye)	İktisat	Serbest	K	

Ek 2. İzole Edilen Örneklerin Kalite ve Kantitesi (H: Hayvan; B: Bölge)

Örnek	Konsantrasyon	Birim	A260	A280	260/280	260/230
H1B1	380,2	ng/µl	7,604	3,95	1,92	1,86
H1B2	686,7	ng/µl	13,73	7,15	1,92	2,02
H1B3	602,7	ng/µl	12,05	6,25	1,93	1,73
H1B4	785,5	ng/µl	15,71	8,08	1,94	1,66
H1B5	382,5	ng/µl	7,649	4,01	1,91	1,97
H1B6	454,9	ng/µl	9,097	4,72	1,93	1,85
H1B7	471	ng/µl	9,42	4,86	1,94	1,77
H1B8	451,6	ng/µl	9,033	4,7	1,92	1,95
H1B9	397,5	ng/µl	7,95	4,15	1,92	1,95
H1B10	443,2	ng/µl	8,864	4,58	1,93	1,79
H1B11	746,4	ng/µl	14,93	7,75	1,93	1,76
H1B12	728,3	ng/µl	14,57	7,48	1,95	1,76

Örnek	Konsantrasyon	Birim	A260	A280	260/280	260/230
H2B1	345,1	ng/µl	6,902	3,66	1,88	1,99
H2B2	372,4	ng/µl	7,447	3,94	1,89	2,08
H2B3	291,8	ng/µl	5,836	3,09	1,89	1,84
H2B4	571,7	ng/µl	11,44	5,98	1,91	1,83
H2B5	205,3	ng/µl	4,106	2,28	1,8	2,18
H2B6	322,8	ng/µl	6,455	3,39	1,91	0,91
H2B7	397,4	ng/µl	7,948	4,16	1,91	1,72
H2B8	432,5	ng/µl	8,65	4,55	1,9	2,01
H2B9	371,1	ng/µl	7,423	3,9	1,9	1,95
H2B10	757,8	ng/µl	15,16	8	1,9	1,8
H2B11	411,4	ng/µl	8,228	4,29	1,92	1,83
H2B12	508,2	ng/µl	10,16	5,33	1,91	1,79

Örnek	Konsantrasyon	Birim	A260	A280	260/280	260/230
H3B1	252,4	ng/µl	6,309	3,32	1,9	2
H3B2	317	ng/µl	7,925	4,12	1,92	1,85
H3B3	294,7	ng/µl	7,367	3,86	1,91	1,81
H3B4	240,4	ng/µl	6,01	3,17	1,89	1,91
H3B5	280,6	ng/µl	7,016	3,63	1,93	1,9
H3B6	328,5	ng/µl	8,212	4,26	1,93	1,92
H3B7	208,7	ng/µl	5,217	2,78	1,88	1,99
H3B8	331	ng/µl	8,274	4,35	1,9	2,02
H3B9	411,2	ng/µl	10,28	5,35	1,92	1,94
H3B10	205	ng/µl	5,124	2,68	1,91	1,77
H3B11	288,4	ng/µl	7,21	3,71	1,95	1,48
H3B12	299,7	ng/µl	7,493	3,95	1,9	2,04

Ek 2. Devam

Örnek	Konsantrasyon	Birim	A260	A280	260/280	260/230
H4B1	175,7	ng/µl	4,391	2,39	1,84	2,13
H4B2	220,2	ng/µl	5,506	3,03	1,82	2,3
H4B3	602	ng/µl	15,05	7,81	1,93	1,84
H4B4	493	ng/µl	12,33	6,37	1,94	1,74
H4B5	187,7	ng/µl	4,692	2,49	1,88	2,16
H4B6	483,3	ng/µl	12,08	6,31	1,92	1,77
H4B7	584,7	ng/µl	14,62	7,64	1,91	1,86
H4B8	279,5	ng/µl	6,986	3,7	1,89	2
H4B9	455,5	ng/µl	11,39	5,99	1,9	2,16
H4B10	384,8	ng/µl	9,62	5,07	1,9	2,02
H4B11	290,7	ng/µl	7,267	3,84	1,89	2,03
H4B12	668,9	ng/µl	16,72	8,69	1,92	1,77

Örnek	Konsantrasyon	Birim	A260	A280	260/280	260/230
H5B1	236,3	ng/µl	5,906	3,11	1,9	1,99
H5B2	239,4	ng/µl	5,985	3,22	1,86	2,24
H5B3	346,1	ng/µl	8,652	4,42	1,96	1,21
H5B4	254,4	ng/µl	6,359	3,38	1,88	2,07
H5B5	148	ng/µl	3,699	2,06	1,8	1,96
H5B6	376,9	ng/µl	9,423	4,85	1,94	1,89
H5B7	373,2	ng/µl	9,331	4,85	1,92	2,05
H5B8	398,7	ng/µl	9,968	5,15	1,94	1,75
H5B9	227,9	ng/µl	5,699	3,07	1,86	2,16
H5B10	650,7	ng/µl	16,27	8,26	1,97	1,76
H5B11	347,2	ng/µl	8,68	4,61	1,88	2,16
H5B12	434,5	ng/µl	10,86	5,61	1,94	2,06

Örnek	Konsantrasyon	Birim	A260	A280	260/280	260/230
H6B1	334,3	ng/µl	8,358	4,33	1,93	1,86
H6B2	302,9	ng/µl	7,573	3,95	1,92	2
H6B3	390,3	ng/µl	9,758	5,04	1,94	1,92
H6B4	348,8	ng/µl	8,719	4,49	1,94	1,8
H6B5	258,8	ng/µl	6,469	3,5	1,85	2,21
H6B6	308,8	ng/µl	7,721	3,97	1,94	1,68
H6B7	368,4	ng/µl	9,211	4,71	1,95	1,81
H6B8	643	ng/µl	16,07	8,13	1,98	1,81
H6B9	392,1	ng/µl	9,803	5,01	1,96	1,87
H6B10	386,6	ng/µl	9,666	4,96	1,95	1,6
H6B11	360	ng/µl	9,001	4,67	1,93	1,84
H6B12	394	ng/µl	9,851	5,11	1,93	1,98

Ek 2. Devam

Örnek	Konsantrasyon	Birim	A260	A280	260/280	260/230
H7B1	427,3	ng/µl	10,68	5,5	1,94	1,96
H7B2	434,5	ng/µl	10,86	5,68	1,91	2,1
H7B3	555,9	ng/µl	13,9	7,23	1,92	1,7
H7B4	516,5	ng/µl	12,91	6,66	1,94	1,69
H7B5	355	ng/µl	8,874	4,65	1,91	2,13
H7B6	522,5	ng/µl	13,06	6,74	1,94	1,78
H7B7	487	ng/µl	12,18	6,31	1,93	2,03
H7B8	258,4	ng/µl	6,46	3,25	1,99	2,16
H7B9	548,8	ng/µl	13,72	7,16	1,92	2,03
H7B10	590,1	ng/µl	14,75	7,73	1,91	1,81
H7B11	331,3	ng/µl	8,283	4,34	1,91	2,1
H7B12	304,2	ng/µl	7,606	3,87	1,97	2,13

Örnek	Konsantrasyon	Birim	A260	A280	260/280	260/230
H8B1	263	ng/µl	6,574	3,37	1,95	1,92
H8B2	406,9	ng/µl	10,17	5,22	1,95	1,91
H8B3	293,8	ng/µl	7,345	3,56	2,06	1,95
H8B4	395,2	ng/µl	9,881	5,06	1,95	1,82
H8B5	449,5	ng/µl	11,24	5,64	1,99	1,93
H8B6	414,7	ng/µl	10,37	5,33	1,95	1,84
H8B7	673,4	ng/µl	16,84	8,57	1,96	1,61
H8B8	386,1	ng/µl	9,653	4,97	1,94	1,95
H8B9	597,4	ng/µl	14,94	7,67	1,95	1,92
H8B10	822,4	ng/µl	20,56	10,5	1,97	1,52
H8B11	344	ng/µl	8,601	4,4	1,95	1,93
H8B12	467,3	ng/µl	11,68	6,05	1,93	1,97

Örnek	Konsantrasyon	Birim	A260	A280	260/280	260/230
H9B1	386,6	ng/µl	9,665	5,06	1,91	2,11
H9B2	463,6	ng/µl	11,59	6,03	1,92	1,91
H9B3	409,2	ng/µl	10,23	5,23	1,96	1,86
H9B4	459,3	ng/µl	11,48	5,87	1,96	1,72
H9B5	204,5	ng/µl	5,113	2,54	2,01	2,11
H9B6	356,9	ng/µl	8,921	4,48	1,99	1,79
H9B7	898,4	ng/µl	22,46	11,7	1,93	1,67
H9B8	271,5	ng/µl	6,788	3,53	1,92	1,95
H9B9	484,6	ng/µl	12,12	6,13	1,98	1,88
H9B10	70,3	ng/µl	1,757	0,87	2,03	1,96
H9B11	441,6	ng/µl	11,04	5,64	1,96	1,91
H9B12	442,5	ng/µl	11,06	5,57	1,99	2,03

Ek 2. Devam

Örnek	Konsantrasyon	Birim	A260	A280	260/280	260/230
H10B1	244,5	ng/µl	6,114	3,22	1,9	1,96
H10B2	321,7	ng/µl	8,042	4,19	1,92	1,86
H10B3	389,1	ng/µl	9,727	5	1,95	1,76
H10B4	404,4	ng/µl	10,11	5,21	1,94	1,76
H10B5	286,3	ng/µl	7,157	3,67	1,95	1,99
H10B6	288,7	ng/µl	7,218	3,73	1,94	1,89
H10B7	363,4	ng/µl	9,086	4,76	1,91	2,22
H10B8	459,3	ng/µl	11,48	5,87	1,96	2,04
H10B9	483,5	ng/µl	12,09	6,24	1,94	1,94
H10B10	439,7	ng/µl	10,99	5,67	1,94	1,75
H10B11	613,6	ng/µl	15,34	7,92	1,94	2,23
H10B12	301,3	ng/µl	7,532	4,02	1,87	2,24

Örnek	Konsantrasyon	Birim	A260	A280	260/280	260/230
H11B1	319,7	ng/µl	7,993	4,22	1,9	2,09
H11B2	227,9	ng/µl	5,699	3,14	1,81	2,29
H11B3	366,2	ng/µl	9,155	4,75	1,93	2,02
H11B4	342,1	ng/µl	8,553	4,42	1,94	1,75
H11B5	483,3	ng/µl	12,08	6,26	1,93	1,58
H11B6	592,2	ng/µl	14,81	7,47	1,98	1,66
H11B7	640,8	ng/µl	16,02	8,01	2	2,02
H11B8	440,1	ng/µl	11	5,67	1,94	1,87
H11B9	448	ng/µl	11,2	5,83	1,92	2,05
H11B10	733,8	ng/µl	18,35	9,34	1,96	2,19
H11B11	635	ng/µl	15,88	8,27	1,92	2,27
H11B12	707,9	ng/µl	17,7	9,12	1,94	2,32

Örnek	Konsantrasyon	Birim	A260	A280	260/280	260/230
H12B1	240,8	ng/µl	6,021	3,24	1,86	2,19
H12B2	298,8	ng/µl	7,469	3,88	1,93	1,64
H12B3	481,5	ng/µl	12,04	6,2	1,94	1,86
H12B4	712,4	ng/µl	17,81	9,02	1,98	1,94
H12B5	55	ng/µl	1,375	0,67	2,04	1,59
H12B6	486,7	ng/µl	12,17	6,25	1,95	1,58
H12B7	833,6	ng/µl	20,84	10,5	1,98	2,02
H12B8	646,5	ng/µl	16,16	8,31	1,94	1,97
H12B9	342,6	ng/µl	8,565	4,34	1,98	2,21
H12B10	604,1	ng/µl	15,1	7,66	1,97	1,96
H12B11	564,4	ng/µl	14,11	7,24	1,95	1,93
H12B12	381,2	ng/µl	9,531	4,97	1,92	2,1

Ek 2. Devam

Örnek	Konsantrasyon	Birim	A260	A280	260/280	260/230
H13B1	350,2	ng/µl	8,754	4,51	1,94	1,59
H13B2	463	ng/µl	11,58	5,94	1,95	1,83
H13B3	406,4	ng/µl	10,16	5,17	1,96	1,85
H13B4	440,5	ng/µl	11,01	5,66	1,95	1,81
H13B5	322,1	ng/µl	8,051	4,05	1,99	2,16
H13B6	430	ng/µl	10,75	5,49	1,96	1,72
H13B7	387,6	ng/µl	9,69	5	1,94	2,06
H13B8	690,3	ng/µl	17,26	8,67	1,99	1,72
H13B9	553,3	ng/µl	13,83	6,99	1,98	2,15
H13B10	284,7	ng/µl	7,118	3,59	1,98	1,53
H13B11	510,1	ng/µl	12,75	6,72	1,9	2,19
H13B12	371,3	ng/µl	9,283	4,85	1,92	2,25

Örnek	Konsantrasyon	Birim	A260	A280	260/280	260/230
H14B1	421,3	ng/µl	10,53	5,43	1,94	2,01
H14B2	275,7	ng/µl	6,893	3,73	1,85	2,23
H14B3	401,2	ng/µl	10,03	5,15	1,95	1,76
H14B4	341,5	ng/µl	8,538	4,49	1,9	2,17
H14B5	164,6	ng/µl	4,115	2,29	1,8	2,33
H14B6	773,4	ng/µl	19,33	9,9	1,95	1,85
H14B7	353	ng/µl	8,824	4,42	1,99	2,1
H14B8	363,7	ng/µl	9,093	4,82	1,89	2,22
H14B9	453,2	ng/µl	11,33	5,92	1,91	2,23
H14B10	388,4	ng/µl	9,709	4,94	1,97	2,1
H14B11	150,6	ng/µl	3,764	1,88	2	2,11
H14B12	335,3	ng/µl	8,383	4,25	1,97	2,15

Örnek	Konsantrasyon	Birim	A260	A280	260/280	260/230
H15B1	621,6	ng/µl	15,54	7,88	1,97	1,96
H15B2	595,4	ng/µl	14,89	7,61	1,96	1,88
H15B3	384,5	ng/µl	9,612	4,95	1,94	1,88
H15B4	357	ng/µl	8,926	4,57	1,95	1,82
H15B5	556	ng/µl	13,9	7,09	1,96	2,1
H15B6	336,7	ng/µl	8,418	4,36	1,93	1,75
H15B7	555,4	ng/µl	13,89	7,14	1,94	1,86
H15B8	639,3	ng/µl	15,98	8,14	1,96	2,14
H15B9	322	ng/µl	8,049	4,01	2,01	2,08
H15B10	476,4	ng/µl	11,91	6,15	1,94	1,89
H15B11	697,4	ng/µl	17,44	8,8	1,98	1,67
H15B12	716,9	ng/µl	17,92	9,17	1,95	2,01

Ek 3. Primer Çiftlerinin mRNA'da Yükseltildiği Bölgeler

ANK1

CACATCGTCCGGGGCTCCCTGGGCTTCATGCTCAAGCACGTCCACCAGGA
GCTGGACAAGGAGCTGGGGGAGAGTGAGGGGCTGAGTGACGATGAGGA
GACCATCTCCACCAGGGTGGTCCGGCGCCGGGTCTCTGAAGGGGAAT
GAGCTTCAGAATATTCCAGGGGAGCAGGTGACAGAGGAGCATTTCACAG
ATGAGCAGGGCAACGTCATCA CCAAGAAGATCGTTCGCAAAGTC GTTCG
CCAGATAGACCCGTCCGGAGCCGATGACACCCAGGAGCTTGAGGAGGTG
GAGCTGAGAGGAAGTGGCCTGCAGCCGGACCTGATAGAGGGCAGGAAG

CAPN1

AAGTGCTCTCAGAAGAGGAGATTGATGAGAACTTCAAGTCCCTCTTCAGA
CAACTGGCAGGGGAGGACATGGAGATCAGCGTCAAGGAGCTGCGGACCA
TCCTCAACAGGAT CATCAGCAAACACAAAGACCT GCGGACCACGGGCTT
CAGCCTGGAGTCCTGCCGCAGCATGGTCAACCTCATGGATCGCGACGGC
AATGGCAAACCTGGGCCTGGTGGAGTTCAACATCCTATGGAACCGGATCC
GGAATTACCTGTCCATCTTCCGGAAGTTTGACCTGGACAAGTCGGGCAGC
ATGAG TGCCTATGAAATGCGGATGG CCATTGAGTTTGCAGGCTTCAAGCT
CAACAAGAAGCTGTACGAGCTCATTATCACCCGCTACTCGGAGCCCGACC
TGGCCGTGGACTTCGACAACCTTCGTGTGCTGCCTGGTGGGCTGGAGACC

CAST

AGAAAAGAAAGGATCAGATGAGAAAAAAGCAACAAGCCTTGGGAGCAG
TCAGCTCTCCAGAACTCAGGCTGATGAAAAAGCCCTGGTCCCCAAGGTA
ACTACTTCTCTGCGTCAGCCAGCAAGTCTTCCAGTATGAATCC CACAGA
AGCCAAGGCTATTCC AGGCAGCAAACAGCTGGAAGGACCGCATTCTCCT
AACAAGAAAAGACACAAAAAACAGGCTGTAAA AACAGAACCTGAGAAG
AAGCCACAATCATCTAAGCCATCTGTGGTTCATGAGAAAAAAACCCAAG
AAGTAAAGCCAAAGGAACACACAGAGCCAAAAAGCCTACCCAAGCACTC

HSPB1

GACCGCCGACCGCTGGCGCGTGTCCCTGGACGTCAACCACTTCGCCCCCG
AGGAGCTGACGGTCAAGACCAAGGACGGCGTGGTGGAGATCACTGGCAA
GCACGAGGAAAGGCAGGACGAGCACGGCTACATTTCC CGTTGCTTCACT
CGCAAATA CACGCTGCCCCCGGTGTGGACCCCAACCCTGGTCTCCTCCTC
TCTGTCCCCTGAGGGCACGCTCACCGTGGAGGCCCCGTTGCCCAAGTCAG
CCACCCAGTCGGCCGAGATCACCATTCCTGTCACCTTCCAGGCGCGTGCC
CAGCTTGGCGGGCCCCGAAGCCGGGAAGTC CGAACAGCCGGAAACAAGTA
AAGACCCTTAGCCCAGCGGCCAGCCCACAAGTAGCCATCACTGGACAT
CCTCACCCGCCAAACCTCTATGTTCTTTTGATACGTTT

HSPA1A

ACAACCTGCTGGGGCGCTTCGAGCTGAGCGGCATCCCGCCGGCCCCGCG
GGGGGTGCCCCAGATCGAGGTGACCTTCGACATCGACGCCAATGGCATC
CTGAACGTACAGGCCACGGACAAGAGCACGGGCAAGGCC**AACAAGATCA**
CCATCACCAACGACAAGGGCCGGCTGAGCAAGGAGGAGATCGAGCGCAT
GGTGCAGGAGGCGGAAAAGTACAAGGCGGAGGACGAGGTCCAGCGCGA
GAGGGTGTCTGCCAAGAACGCGCTGGAGTCGTACGCCTTCAACATGAAG
AGCGCCGTGGAGGATGAGGGGCTGAAGGGCAAGATCAGCGAGGCGGAC
AAGAAGAAGGTGCTGGACAAGTGCCAGGAGGTGATTTCTGGCTGGACG
C**CAACACCTTGGCGGAGAAGGA**CGAGTTTGAGCACAAGAGGAAGGAGCT
GGAGCAGGTGTGTAACCCCATCATCAGCAGACTGTACCAGGGGGCGGGC
GGCCCCGGGGCTGGCGGCTTTGGGGCTCAGGGCCCTAAAGGGGGCTCTG

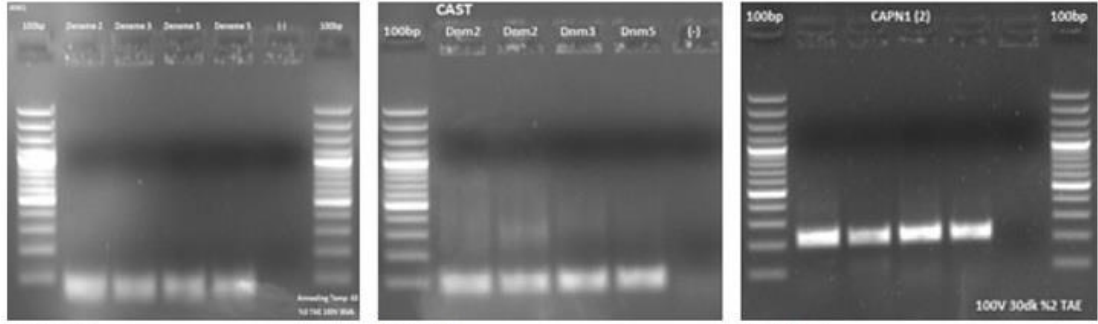
ACTB

GCAGATGTGGATCAGCAAGCAGGAGTACGATGAGTCCGGCCCCCTCCATC
GTCCACCGCAAATGCTTCTAGGCGGACTGTTAGCTGCGTTACACCCTTTT
CTTGACAAAACCTA**ACTTGCGCAGAAAACGAGAT**GAGATTGGCATGGCT
TTATTTGTTTTTTTTTTTGTCTTTTTTGATTTTTTTTTTTTTTTGGCGCTTG
ACTCAGGATTTAA**AAACTGGAACGGTGAAGGTG**ACAGCAGTCGGTTGGA
TCGAGCATTCCCAAAGTTCTACAGTGTGGCCGAGGACTTGATTGTACATG
GTTTTGTTTTTTTTTTTAATAGTCATTCCAAATATCGCGAAATGCATTGTT

HMBS

TGGCCACAGCTGGCCTGCAGCGCATGGGCTGGCAGAACCGGGTGGGGCA
GATCCTGCACCCCGAGGAGTGCATGTATGCTGTGGGTCAGGGGGCTCTGG
GTGTGGAA**GTTTCGAGCCAAAGACCAGGA**CATCTTGGATCTGGTGGGTGT
GTTGCACGATCCTGAGACTCTACTTCGCTGCATTGCTGAACGATCCTTCCT
AAGGCACCTGGAAGGAGGTTGCAGTGTGCCAGTGGCAGTGCATACAGCT
ATTAAGGAT**GGGCAACTGTACCTGACTGG**AGGAGTCTGGAGTCTGAATG
GTGCAGAGACCATGCAAGACACCATGCAAACCACCATCCATGTCCCTGTC
CAGCATGAAGATGGCCCTGAAGATGATCCACAGCTGGTGGGCATCACTG

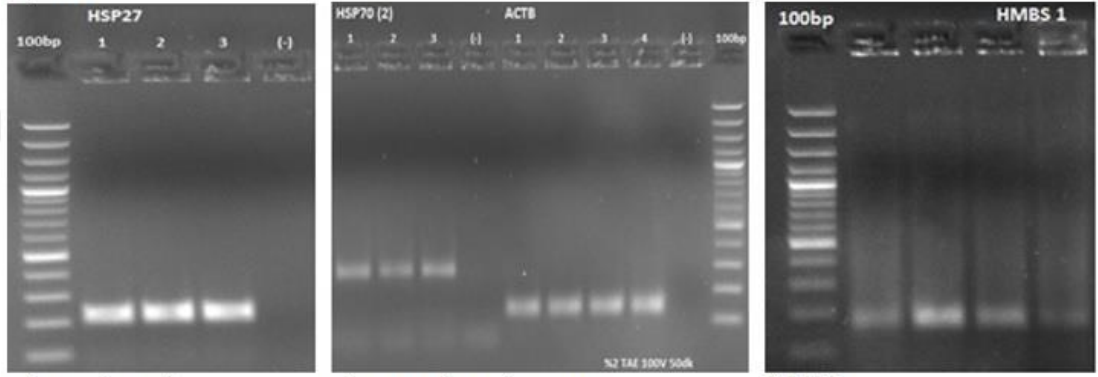
Ek 4. qPCR Ürünlerinin Agaroz Jel Görüntüleri



A) ANK1

B) CAST

C) CAPN1

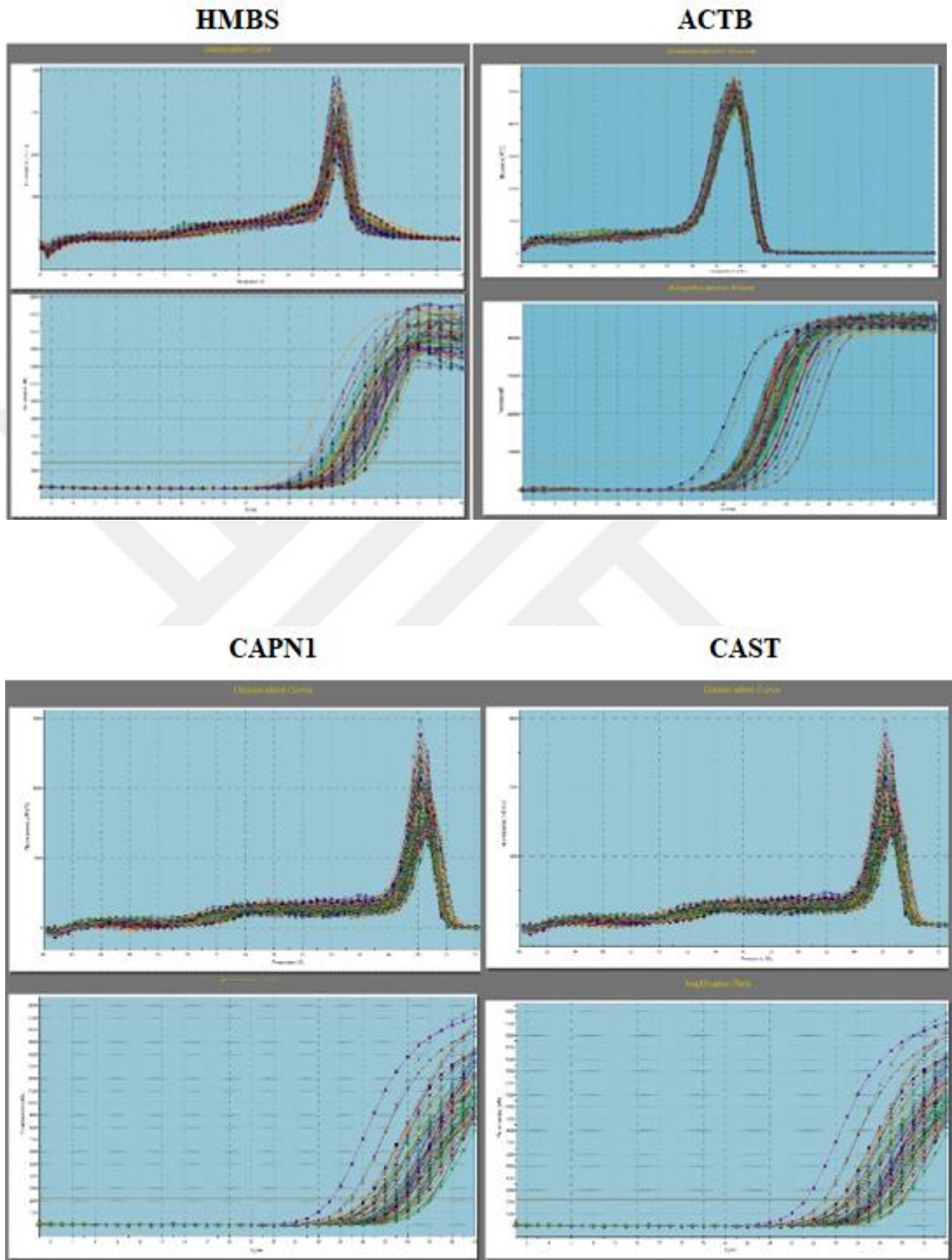


D) HSPB1 (HSP27)

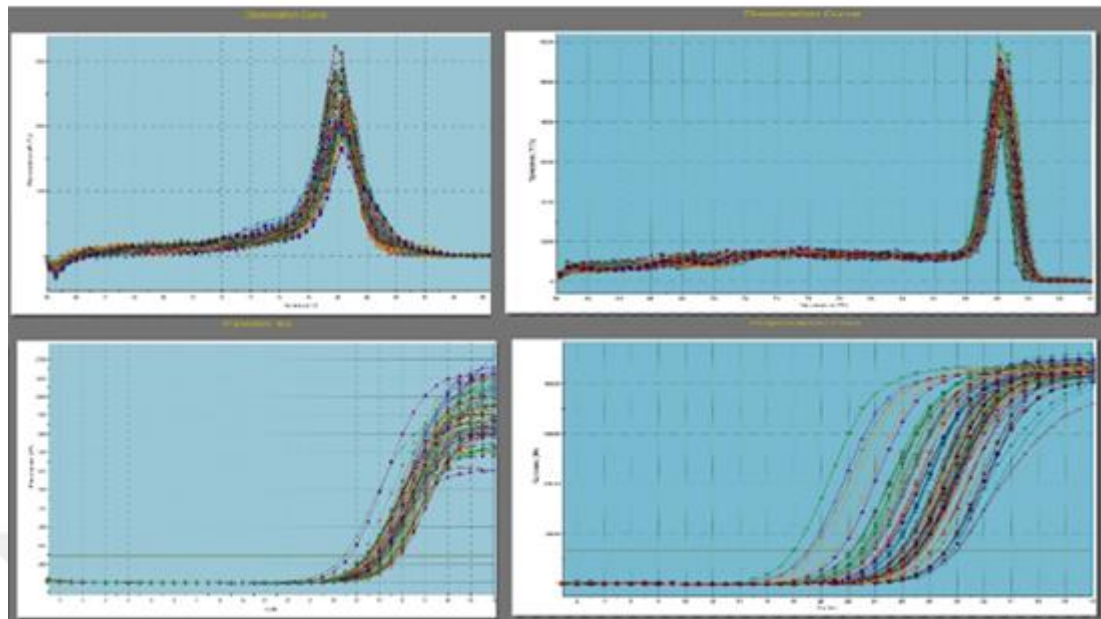
E) HSPA1A (HSP70) ve ACTB

F) HMBS

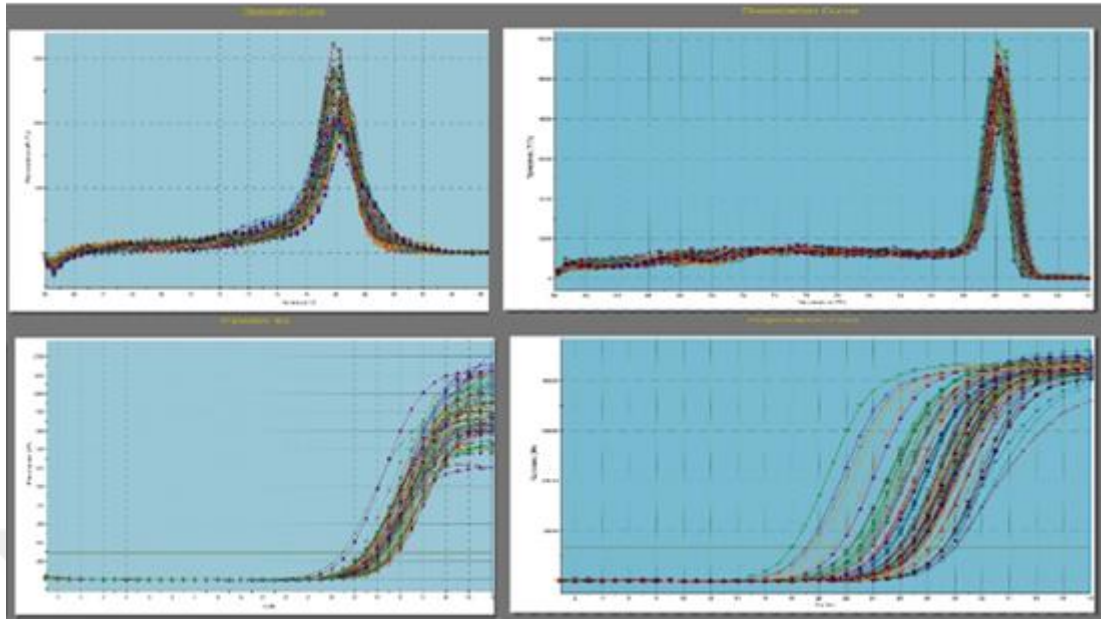
Ek 5. Amplifikasyon ve Erime Eğrisi Görüntüleri



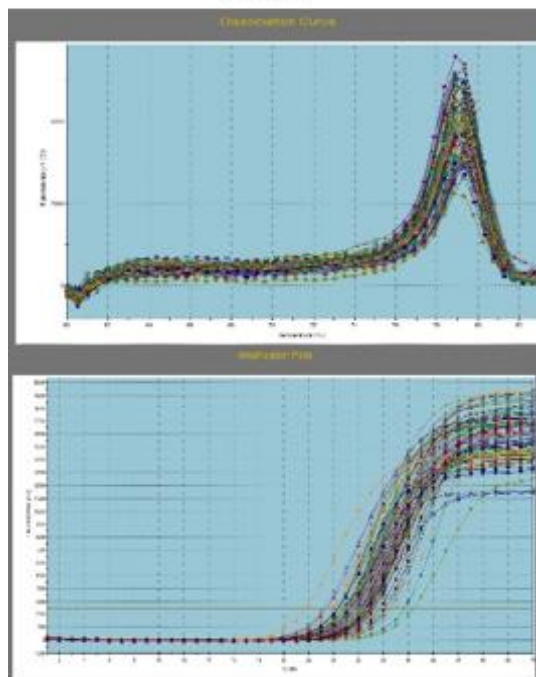
HSPB1



HSPA1A

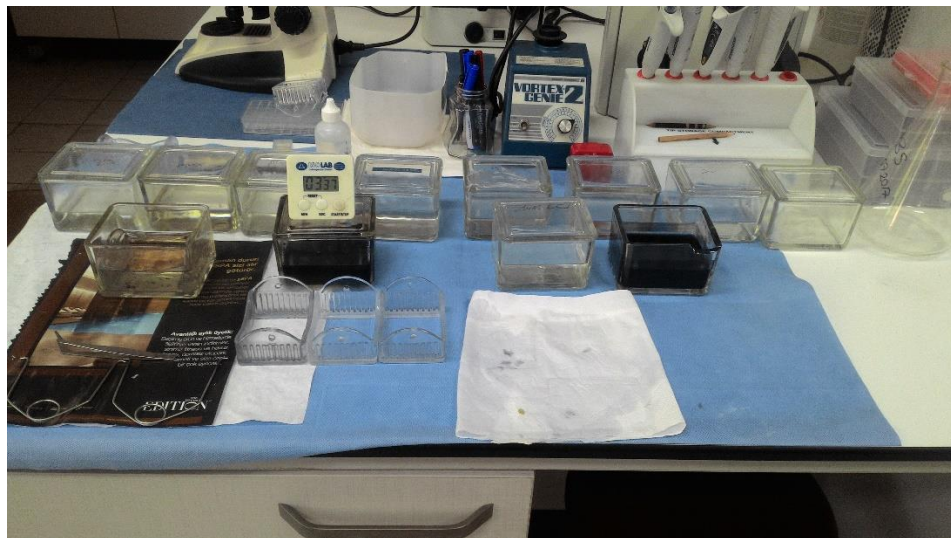
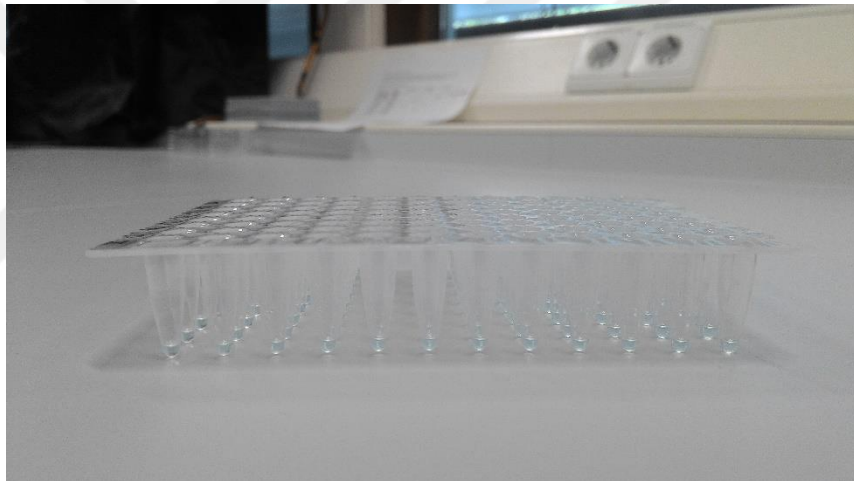
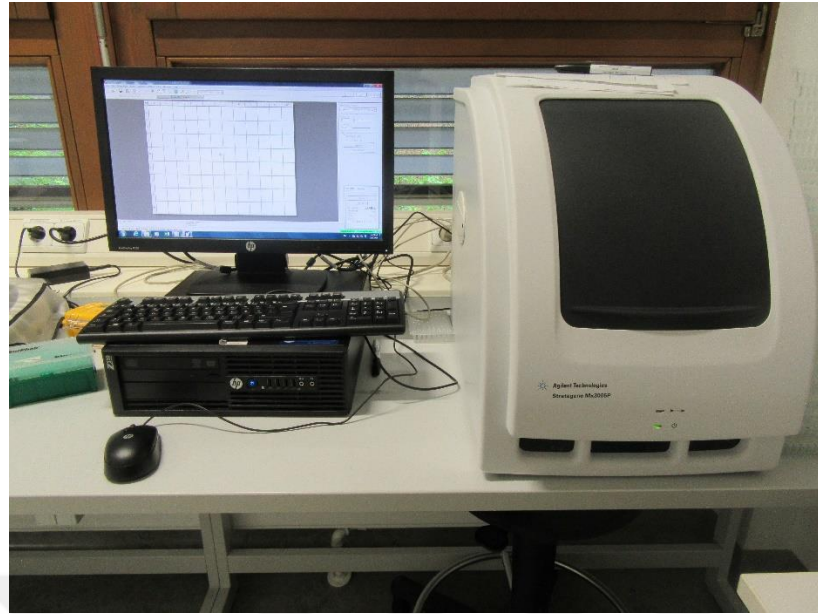


ANK1



Ek 6. Çalışmada Kullanılan Bazı Materyal ve Cihazlar





ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı Soyadı: MEHMET CEVAT TEMİZKAN

Doğum Yeri ve Tarihi: Muratpaşa / ANTALYA, 27/09/1990

Uyruğu: T.C.

Medeni Durumu: Bekar

Askerlik Durumu: Tecil

İletişim Adresi ve Telefonu: 19 Mayıs mah. Sanatoryum cad. 141/16, Keçiören/ANKARA,
+90 507 726 37 07

II- Eğitimi

2013-2018, Ankara Üni. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Genetik (Doktora – Ankara)

2017-2017, Free University of Berlin (YİTAK, Doktora – Berlin)

2011-2012, Wroclaw University of Environmental Life Sciences (Erasmus, Lisans - Wroclaw)

2008-2013, Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi (Lisans – Afyonkarahisar)

2006-2007, 75. Yıl Cumhuriyet Lisesi (Lise – Antalya)

2004-2006, Antalya Lisesi (Lise – Antalya)

2001-2004, Antalya Koleji (Ortaokul – Antalya)

1999-2001, Antalya Koleji (İlkokul Eğitimi – Antalya)

1996-1999, Dumlupınar İlköğretim Okulu (İlkokul – Antalya)

Yabancı Dili: İngilizce

III- Ünvanları

2013: Veteriner Hekim

IV- Mesleki Deneyimi

V- Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

Veteriner Hekimler Derneği

VI- Bilimsel İlgi Alanları

Yayınlar

1. TEMİZKAN MC, BAYRAKTAROĞLU AG (2017). Effective Genes on Hair Follicle Growth. Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 2(1): 61-73. DOI: 10.24880/maeuvsd.289297

Posterler

1. Uysal O, Inanc ME, Yılmaz B, Tekin K, Olgac KT, Alemdar H, Akkurt MY, Temizkan MC, Ozen D, Tasdemir U, Tuncer PB, Buyukleblebici S, Cinar Kul B, Durmaz E, Ertugrul O, (2016). Fluorescein Staining of Aksaray Malakli Shepherd (Turkish Mastiff) Semen Treated with Different Level of Cholesterol Loaded Cyclodextrin (ICAR), 26-30.06.2016, France
2. Inanc ME, Tekin K, Olgac KT, Yılmaz B, Akkurt MY, Temizkan MC, Kaya U, Tasdemir U, Tuncer PB, Buyukleblebici S, Cinar Kul B, Durmaz E, Uysal O, Ertugrul O, Tekin N, (2015). Some Spermatological Characteristics of Aksaray Malakli Dog (Turkish Mastiff). European Veterinary Society for Small Animal Reproduction (EVSSAR) 18th EVSSAR Conference, 11-12.09.2015, Hannover, Germany
3. Tekin K, Inanc ME, Olgac KT, Yılmaz B, Akkurt MY, Temizkan MC, Kaya U., Tuncer PB, Tasdemir U, Buyukleblebici S, Cinar Kul B, Durmaz E, Uysal O, Ertugrul O, (2015). Effect of Age on Semen Freezability of Aksaray Malakli Shepherd Dog (Turkish Mastiff). Annual Meeting of the Society for Cryobiology (CRYO), 26-29.07.2015, Ostrava, Czech Republic
4. Cinar Kul B, Ocal N, Bilgen N, Akkurt MY, Temizkan MC, Akarsu N, Ertugrul O, (2014). Genome-Wide Analysis To Identify Genes Responsible For Ankyloglossia In Kangal Dogs. International Society of Animal Genetics (ISAG) 34th Conference, 28.07-01.08.2014, Xi'an, China

VII- Bilimsel Etkinlikleri

Projeler ve Burslar

1. Sığır Karkasının Farklı Kas Bölgelerinin Et Kalitesi ile İlişkili Önemli Gen İfadeleri Açısından Karşılaştırılması (BAP Doktora Tez Projesi, 16L0239012), Araştırmacı
2. Aksaray Malaklısı Çoban Köpeği Irkında (Türk Mastifi) Androlojik ve Spermatolojik Özelliklerin SNP ile Genom Boyu İlişkilendirilmesi (TÜBİTAK 1001, 114O636), Yardımcı Araştırmacı, Bursiyer

Seminerler

2015, Ökaryotlarda Gen Yapısı ve Gen İfadesinin Düzenlenmesi

2015, Keçilerde Kıl Folikülü Gelişimi Üzerine Etkili Genler

VIII- Diğer Bilgiler

Katıldığı Eğitim Seminerleri

1. 2017, Biomarkers & Discovery Screening Workshop
2. 2015, Deney Hayvanları Sertifikası
3. 2015, 4. Yeni Nesil Sekans Hibrid Kursu + Workshop
4. 2011, 2. Veteriner Hekimliğe Sektörel Bakış (VESBA) Programı
5. 2011, 13th International Veterinary Medicine Students Scientific Research Congress
6. 2011, Yerel Hayvan Koruma Görevlisi Eğitim Programı