

## Yerli siğır ırklarının klonlanması

Arat S<sub>1</sub>, aputcu Tas A<sub>1</sub>, Akkoc<sub>1</sub> T, Cetinkaya<sub>1</sub> G, Bađıs<sub>1</sub> H,  
Pabuccuođlu<sub>2</sub> S, Cirit<sub>2</sub> Ū, ŐenŪnver<sub>2</sub> A, Kılıaslan<sub>2</sub> R, Sađırkaya<sub>3</sub> H, Nak<sub>3</sub> Y, Nak<sub>3</sub> D, Demir<sub>2</sub> K

1. TUBITAK, MAM-Gen MŪhendisliđi ve Biyoteknoloji EnstitŪsŪ, Gebze, Kocaeli,
2. İstanbul Ūniversitesi Veteriner FakŪltesi, Avcılar, İstanbul
3. Uludađ Ūniversitesi Veteriner FakŪltesi GŪrŪkle, Bursa

NŪkleer transfer (NT) alıřmalarının uygulama alanlarından bazıları, transgenik hayvan Ūretimi, yŪksek genetik verimlilikteki bireylerin ve sayıları azalmıř olan yerli ırkların klonlanarak sayılarının artırılmasıdır. Bu alıřmada Boz, Yerli Kara ve GŪney Anadolu Kırmızıısı(GAK) Sıđır ırklarının klonlanması hedeflenmiřtir. Çalıřmada kullanılacak olgunlařmamıř sıđır yumurtaları mezbaha materyalinden aspire edilmiř ve 10%FCS, sodyum piruvat, EG, bLH, bFSH, IGF-1 ve penisilin/streptomisin içeren TCM199 medyumunda 38,5°C%5CO<sub>2</sub>'li inkubatorde 18 saat tutularak olgunlařtırılmıřtır. Olgun yumurtalar (MII) kumulus hŪcrelerinden temizlendikten sonra metafaz pleytleri ve birinci polar cisimleri alınmıřtır. Sıđırların kulak dokusundan ve ovaryumdan elde edilen hŪcreler (fibroblast, kıkırdak ve granuloza hŪcreleri) nŪkleus kaynađı olarak kullanılmıřtır. NT sonrası yumurtalara 133V/500μm 30μs 1 atıř yapılarak fŪzyon uygulanmıř ve yarım saat sonra fŪze olmuř olan NT Ūniteleri Cal ile 5 dk (5μM ) CD(2.5 μg/ml)+cycloheximide(CHX,10μg/ml) kombinasyonu ile 1 saat ve CHX ile 4 saat muamele edilerek aktive edilmiřlerdir. Aktivasyondan sonra NT Ūniteleri 8mg/ml BSA'lı Sage embriyo bŷlŪnme medyumunda 72 saat kŪltŪre edildikten sonra 4 mg/ml BSA+%5 FCS içeren Sage blastosist medyumunda ilave olarak 4 gŪn daha kŪltŪre edildiler. İlk çalıřmada; ırk farklılıkları gŷzetilmeksizin cinsiyetler incelendiđinde diři (%21,06) ile erkek (%19,08) embriyoların blastosiste geliřimleri arasında anlamlı fark gŷrŪlmemiřtir. İkinci çalıřmada hŪcre tiplerinin farklılıkları gŷzetilmeksizin ırklar arasındaki blastosist geliřim oranları incelenmiřtir. Boz sıđır ırkının (%23,69), Yerli Kara ve GAK ırkına gŷre blastosist geliřim oranlarının daha yŪksek olduđu gŷrŪlmŪřtŪr (YK %9,63 ve GAK %16,35). Ū farklı ırktan elde edilen blastosistlerin alıcı annelere transferleri gerçekleřtirilmiřtir. Bu kapsamda toplam 244 blastosist 117 alıcı anneye transfer edilmiřtir. Farklı ırklarda 30-60 gŪnlŪk gebelik oranı Boz ırk için %54 ve GAK için %15 olarak belirlenmiřtir. YŪz gŪn ve Ūzerinde devam eden gebelikler ise Boz ırk için %8,6 ve GAK için %5,2 olarak tespit edilmiřtir. Yerli Kara da hiç gebelik elde edilememiřtir. Boz ırkında devam eden 4 gebelikten toplam 5 adet klon yavru elde edilmiřtir. Klon yavrular sađlıklı bir Őekilde yařamlarına devam etmektedirler. Bu alıřma TŪBİTAK-TOVAG 104O360 ve TŪBİTAK-KAMAG 106G005 projeleri ile desteklenmiřtir.  
E-mail: Sezen.Arat@mam.gov.tr